



КАРАЗІНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КЛАСИКА, ЩО ВИПЕРЕДЖАЄ ЧАС

ТОМ XXXIII
5(56) | 2025

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

УДК 61

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 № 28 від 27.10.2025 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 – 6 разів на рік



**МІНІСТЕРСТВО
ОСВІТИ І НАУКИ
УКРАЇНИ**

Входить до Переліку наукових друкованих
фахових видань України (категорія «А»),
у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт
в галузі знань «І – Охорона здоров'я та соціальне
забезпечення» (Додаток 7 до наказу від 08.07.2025 № 986)
за спеціальностями: «І2 Медицина», «І6 Технології медичної
діагностики та лікування (за спеціалізаціями)»



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 6 times a year



Listed in the scientific printed
professional editions of Ukraine (category A)
which can publish these results in «I – Healthcare and
social security» field (Annex 7 to Order № 986 of Ministry
of Education and Science of Ukraine, 08.07.2025) on the specialties:
«I2 – Medicine», I6 – «Medical diagnostic and treatment technology»



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 XXXIII
5(56) | 2025

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

UDC 61

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 № 28 of 27/10/2025)

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
ΔK № 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,

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ EDITORIAL BOARD

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

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)

CHIEF EDITOR

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)

ЗАСТУПНИКИ ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА

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

DEPUTY EDITORS

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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)

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

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

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)

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

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)

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)

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

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)

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)

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)

Мищенко 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)

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)

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)

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

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)

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)

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)

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)

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

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)

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)

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)

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)

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

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

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

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

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

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)

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

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

Rzhepishevsk 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)

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)

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)

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)

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)

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

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)

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)

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)

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

ЗМІСТ

CONTENTS

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ORIGINAL RESEARCH

- | | |
|---|--|
| <p>Москаленко Ю.В., Москаленко Р.А.
Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень</p> <p>Білий О.М., Мітряєва Н.А., Гребіник Л.В., Слободянюк О.В., Пилипенко С.О.
Вміст фактора росту ендотелію судин у сироватці крові та рівень експресії молекулярних маркерів у пухлинах хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози в динаміці лікування</p> <p>Хасхачих Д.А.
Гормональна резистентність при неатиповій гіперплазії ендометрія: роль експресії PgR-A та PgR-B у прогнозуванні відповіді на лікування</p> <p>Лавінська О.В., Клімова О.М., Сушков С.В.
Індукція різних шляхів активації білків системи комплементу при аденокарциномі шлунка</p> <p>Отченаш Н.М., Малярова Л.В.
Дослідження частоти реактивації герпесвірусних інфекцій при проведенні неoad'ювантної хіміотерапії у хворих на рак грудної залози</p> <p>Головко Т.О., Богмат Л.Ф., Шевченко Н.С., Ніконова В.В., Бессонова І.М.
Зміни показників ультразвукового дослідження серця при тривалому перебігу системного червоного вовчака у підлітків</p> <p>Щербина М.О., Діхтяренко В.О.
Використання гіпербаричної оксигенації в лікуванні плацентарної недостатності</p> <p>Гордієнко Г.Р., Сікора В.З.
Морфологічні особливості шлунка щурів за умов інтервального голодування</p> <p>Микитенко А.О., Пономаренко В.О., Якобчук В.А., Зборовська А.І., Акімов О.Є., Непорада К.С.
Кверцетин захищає міокард від впливу кетаміну</p> <p>Граматиук С.М., Іванова Ю.В., Хаббард Е., Саргсян К., Оклей Д.В., Голобородько М.М.
Інтегративне мультиомне моделювання та створення цифрових близнюків на основі штучного інтелекту для ВПЛ-асоційованого раку ротоглотки</p> <p>Диннік В.О., Диннік О.О.
Участь нейротрансмітерів у формуванні аномальних маткових кровотеч на тлі різної маси тіла</p> <p>Кіпоть А.О., Колесник Т.В.
Прогностичне значення щоденної динаміки тропоніну-Т при гострому інфаркті міокарда: аналіз із використанням змішаних моделей</p> | <p>675 Moskalenko Yu.V., Moskalenko R.A.
Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer</p> <p>690 Bilyi O.M., Mitriaieva N.A., Grebinyk L.V., Slobodianiuk O.V., Pylypenko S.O.
Serum vascular endothelial growth factor levels and tumor molecular marker expression in patients with secondary-edematous breast cancer during treatment dynamics</p> <p>705 Khaskhachykh D.A.
Hormone resistance in non-atypical endometrial hyperplasia: role of PgR-A and PgR-B expression in predicting treatment response</p> <p>719 Lavinska O.V., Klimova O.M., Sushkov S.V.
Induction of different pathways of complement system protein activation in gastric adenocarcinoma</p> <p>735 Otchenash N.M., Maliarova L.V.
Study of the frequency of herpesvirus infection reactivation during neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer</p> <p>748 Holovko T.O., Bohmat L.F., Shevchenko N.S., Nikonova V.V., Bessonova I.M.
Changes in echocardiographic parameters in adolescents with long-term course of systemic lupus erythematosus</p> <p>766 Shcherbina M.O., Dikhtiarenko V.O.
The use of hyperbaric oxygenation in the treatment of placental insufficiency</p> <p>781 Hordiienko H.R., Sikora V.Z.
Morphological features of the stomach of rats under conditions of intermittent fasting</p> <p>792 Mykytenko A.O., Ponomarenko V.O., Yakobenchuk V.A., Zborovska A.I., Akimov O.Ye., Neporada K.S.
Quercetin protects the myocardium from the effects of ketamine</p> <p>807 Gramatiuk S.M., Ivanova Yu.V., Hubbard E., Sargsyan K., Oklei D.V., Holoborodko M.M.
Integrative multi-omics and AI-driven digital twin modelling for HPV-associated oropharyngeal carcinoma</p> <p>825 Dynnik V.O., Dynnik O.O.
Neurotransmitters involvement in the formation of abnormal uterine bleeding against different body weight</p> <p>840 Kipot A.O., Kolesnyk T.V.
Prognostic value of day-by-day troponin-T dynamics in acute myocardial infarction: a mixed-effects model analysis</p> |
|---|--|

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

LITERATURE REVIEW

- | | | |
|---|---|---|
| <p>Коноплицький В.С., Лойко Є.Є.,
Гончарук В.Б., Коробко Ю.Є.,
Сасюк А.І., Дуб А.С.
Діагностика та лікування кіст яєчників у дівчат</p> <p>Коваленко М.М., Грищенко О.В.
Вагітність внаслідок допоміжних репродуктивних
технологій – сучасні тенденції до прогнозування
та діагностики ускладнень (огляд літератури)</p> <p>Чиж М.О., Гладких Ф.В., Лядова Т.І.,
Ляшок А.Л., Матвєєнко М.С.,
Каніщева О.В., Кошурба І.В.
Багаторівневі детермінанти ішемічного ушкодження
серця: клітинні стресові відповіді, порушення
мітохондріальної функції та ендотеліальна дисфункція</p> | <p>857</p> <p>877</p> <p>896</p> | <p>Konopliitskyi V.S., Loiko Ye.Ye.,
Honcharuk V.B., Korobko Yu.Ye.,
Sasiuk A.I., Dub A.S.
Diagnosis and treatment of ovarian cysts in girls</p> <p>Kovalenko M.M., Hryshchenko O.V.
Pregnancy as a result of assisted reproductive
technologies – current trends in prediction
and diagnosis of complications (literature review)</p> <p>Chyzh M.O., Hladkykh F.V., Liadova T.I.,
Liashok A.L., Matvieienko M.S.,
Kanishcheva O.V., Koshurba I.V.
Multilevel determinants of ischemic cardiac
injury: cellular stress responses, mitochondrial
insufficiency, and endothelial dysfunction</p> |
| <hr/> | | |
| <h2>ВИПАДОК З ПРАКТИКИ</h2> | | <h2>A CASE FROM PRACTICE</h2> |
| <p>Подорожна З.Б.
Річне психоаналітичне лікування невербальної дитини
з розладом аутистичного спектра: клінічний випадок</p> | <p>918</p> | <p>Podorozhna Z.B.
One-year psychoanalytic treatment of a nonverbal child
with ASD: a clinical case report</p> |

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-01>
УДК: 616.24-006.6:611.018-076:615.37



Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень

Москаленко Ю.В.,  <https://orcid.org/0000-0002-5398-0298>, e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

Москаленко Р.А.,  <https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>, e-mail: r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

Державний вищий навчальний заклад «Сумський державний університет»

Міністерства освіти і науки України, Суми, Україна

Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer

Moskalenko Yu.V.,  <https://orcid.org/0000-0002-5398-0298>, e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

Moskalenko R.A.,  <https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>, e-mail: r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

State Higher Educational Institution «Sumy State University»
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, Ukraine

Ключові слова:

CD163⁺/CD68⁺, CD8⁺, STAT6⁺, імунні фенотипи, імунотерапія.

Для кореспонденції:

Москаленко Юлія Василівна
Державний вищий навчальний заклад «Сумський державний університет»
Міністерства освіти і науки України, кафедра онкології та радіології; вул. Привокзальна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40022;
e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

© Москаленко Ю.В.,
Москаленко Р.А., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Недрібноклітинний рак легень є однією з провідних причин смертності від онкологічних захворювань у світі. Незважаючи на впровадження імунотерапії, клінічна відповідь на лікування залишається неоднорідною. Це зумовлює необхідність пошуку надійних прогностичних біомаркерів, які б дозволили стратифікувати пацієнтів за ймовірною ефективністю терапії.

Мета роботи – проаналізувати морфофункціональні характеристики імунного мікрооточення пухлини, визначити класи імунних фенотипів та оцінити їхній вплив на виживаність хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень.

Матеріали та методи. У ретроспективне когортне дослідження включено 86 пацієнтів, яким проводили лікування інгібіторами імунних контрольних точок у стандартних клінічних умовах. Імуногістохімічний аналіз архівних зразків пухлинної тканини дозволив визначити рівень експресії CD8⁺ Т-лімфоцитів, STAT6⁺, а також співвідношення макрофагальних маркерів CD163⁺/CD68⁺. Дані обробляли з використанням аналізу головних компонент та ієрархічної кластеризації. Порівняння груп здійснювали за тестом Краскела–Уолліса. Криві виживаності будували за методом Каплана–Мейера, відмінності оцінювали log-rank тестом. Статистичну значущість встановлювали на рівні $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У результаті були виявлені три фенотипи: імуноактивний (висока інфільтрація CD8⁺, низький STAT6⁺ та низьке співвідношення CD163⁺/CD68⁺), імуносупресивний (низький CD8⁺, високий STAT6⁺ і CD163⁺/CD68⁺) та нейтральний/змішаний із проміжними показниками. Імуноактивний фенотип асоціювався з найкращими показниками виживаності без прогресування (медіана понад 16,0 міс.) та загальної виживаності (понад 35,0 міс.), тоді як імуносупресивний – із найгіршими (5,1 і 8,8 міс. відповідно). Статистично достовірні відмінності в показниках виживаності між групами були підтверджені log-rank тестом ($p < 0,001$). У багатовимірному регресійному аналізі Кокса єдиним незалежним прогностичним фактором як виживаності без прогресування, так і загальної виживаності, залишалося співвідношення CD163⁺/CD68⁺ (HR = 2,81 і 4,34 відповідно; $p < 0,001$), що свідчить про вирішальну роль макрофагальної поляризації у формуванні відповіді на імунотерапію.

Висновки. Імунне мікрооточення пухлини при метастатичному недрібноклітинному раку легень може бути класифіковане на імуноактивний, нейтральний/змішаний та імуносупресивний фенотипи, які по-різному впливають на виживаність під час імунотерапії. Співвідношення CD163⁺/CD68⁺ визначено як ключовий незалежний предиктор виживаності.

Для цитування:

Москаленко Ю.В., Москаленко Р.А. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 675–689. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-01>

Keywords:

CD163⁺/CD68⁺, CD8⁺, STAT6⁺, immune phenotypes, immunotherapy.

For correspondence:

Moskalenko Yuliia Vasylivna
State Higher Educational Institution
«Sumy State University» Ministry
of Education and Science of Ukraine,
Department of Oncology and Radiology;
31 Pryvokzalna Str., Sumy, Ukraine,
40022;
e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

© Moskalenko Yu.V.,
Moskalenko R.A., 2025

ABSTRACT

Background. Non-small cell lung cancer is one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide. Despite the introduction of immunotherapy, clinical responses remain heterogeneous. This necessitates the identification of reliable prognostic biomarkers to stratify patients according to their potential responsiveness to therapy.

Purpose – to analyze the morphofunctional characteristics of the tumor immune microenvironment, to identify classes of immune phenotypes, and to evaluate their impact on survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer.

Materials and Methods. This retrospective cohort study included 86 patients treated with immune checkpoint inhibitors under routine clinical conditions. Immunohistochemical analysis of archival tumor tissue was used to assess the expression of CD8⁺ T lymphocytes, STAT6⁺, and the ratio of macrophage markers CD163⁺/CD68⁺. Data were processed using principal component analysis and hierarchical clustering. Group comparisons were performed using the Kruskal–Wallis test. Survival curves were constructed using the Kaplan–Meier method, with differences assessed via the log-rank test. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results. Three immune phenotypes were identified: immune-active (high CD8⁺ infiltration, low STAT6⁺ expression, and low CD163⁺/CD68⁺ ratio), immunosuppressive (low CD8⁺, high STAT6⁺, and high CD163⁺/CD68⁺), and neutral/mixed with intermediate values. The immune-active phenotype was associated with the most favorable progression-free survival (median >16.0 months) and overall survival (median >35.0 months), while the immunosuppressive phenotype demonstrated the poorest outcomes (5.1 and 8.8 months, respectively). Statistically significant differences in survival between phenotypes were confirmed by the log-rank test ($p < 0.001$). In multivariable Cox regression analysis, the CD163⁺/CD68⁺ ratio emerged as the only independent prognostic factor for both progression-free and overall survival (HR = 2.81 and 4.34, respectively; $p < 0.001$), highlighting the critical role of macrophage polarization in mediating the response to immunotherapy.

Conclusions. The tumor immune microenvironment in metastatic non-small cell lung cancer can be classified into immune-active, neutral/mixed, and immunosuppressive phenotypes, with distinct effects on survival under immunotherapy. The CD163⁺/CD68⁺ ratio was identified as the key independent predictor of survival.

For citation:

Moskalenko YuV., Moskalenko RA. Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):675–689. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-01>

ВСТУП

Недрібноклітинний рак легень (НДКРЛ) залишається провідною причиною смертності від злоякісних новоутворень у світі, демонструючи стійку тенденцію до пізнього виявлення та обмеженої ефективності традиційного лікування [1, 2]. Запровадження імунотерапії, зокрема інгібіторів імунних контрольних точок (ІІКТ), дало нові можливості для лікування метастатичного НДКРЛ. Однак клінічна відповідь на ІІКТ є високовибірковою, що вимагає пошуку надійних прогностичних біомаркерів [3, 4].

Останні дослідження свідчать, що імунне мікрооточення пухлини відіграє ключову роль у регуляції ефективності імунотерапії [5, 6]. Основними його компонентами є цитотоксичні Т-лімфоцити (CD8⁺), макрофаги різних фенотипів (CD68⁺, CD163⁺), а також транскрипційні фактори, що модулюють запальні та імуносупресивні сигнали, зокрема STAT6⁺ [7, 8]. Просторове і кількісне співвідношення цих елементів здатне визначати імунну активність пухлини та потенційну відповідь на лікування [9, 10].

Особливу увагу дослідники приділяють асоційованим з пухлиною макрофагам, які можуть набувати протилежних функцій залежно від свого фенотипу: M1-макрофаги здатні сприяти протипухлинному

INTRODUCTION

Non-small cell lung cancer (NSCLC) remains a leading cause of cancer-related mortality worldwide, exhibiting a persistent trend toward late-stage diagnosis and limited effectiveness of conventional therapies [1, 2]. The introduction of immunotherapy, particularly immune checkpoint inhibitors (ICIs), has opened new avenues for the treatment of metastatic NSCLC. However, clinical responses to ICIs are highly selective, necessitating the identification of reliable prognostic biomarkers [3, 4].

Recent studies have demonstrated that the tumor immune microenvironment plays a crucial role in modulating the efficacy of immunotherapy [5, 6]. Its key components include cytotoxic T lymphocytes (CD8⁺), macrophages of various phenotypes (CD68⁺, CD163⁺), as well as transcription factors that regulate inflammatory and immunosuppressive signals, such as STAT6⁺ [7, 8]. The spatial distribution and quantitative balance of these elements can determine the immune activity of the tumor and its potential responsiveness to treatment [9, 10].

Particular attention has been directed toward tumor-associated macrophages, which may acquire opposing functional roles depending on their phenotype: M1 macrophages can enhance antitumor immunity, whereas M2 macrophages promote immunosuppression

імунітету, тоді як M2 – підтримують імуносупресію та прогресію пухлини [11, 12]. Експресія CD163⁺ вважається маркером M2-поляризації, тоді як CD68⁺ – маркером загальної макрофагальної популяції. Співвідношення CD163⁺/CD68⁺ все частіше розглядається як інтегральний показник імунної регуляції в пухлинному мікрооточенні [13, 14].

Попри численні дані, більшість досліджень зосереджуються на окремих маркерах або морфологічній оцінці тканин, тоді як комплексний підхід до аналізу імунного профілю, що включає кількісну оцінку кількох параметрів і кластеризацію пацієнтів, залишається недостатньо розвиненим. Зокрема, бракує досліджень, які б інтегрували рівень інфільтрації CD8⁺, експресію STAT6⁺ та баланс макрофагальних фенотипів у прогностичну модель для пацієнтів, що отримують ІКТ.

На цьому тлі ми висунули гіпотезу, що сукупна оцінка імунних маркерів CD8⁺, STAT6⁺ та співвідношення CD163⁺/CD68⁺ дозволяє виявити імунні фенотипи пухлинного мікрооточення, які мають прогностичне значення для виживаності пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, що отримували імунотерапію.

Мета роботи – проаналізувати морфофункціональні характеристики імунного мікрооточення пухлини за допомогою імуногістохімії, визначити класи імунних фенотипів та оцінити їхній вплив на виживаність хворих, використовуючи аналіз головних компонент та кластеризацію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дизайн дослідження та збір даних. Було проведено ретроспективне одноцентрове когортне дослідження, яке включало 86 пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, що отримували терапію ІКТ у стандартних клінічних умовах з 2016 по 2024 роки. Критеріями включення були: гістологічно підтверджений діагноз НДКРЛ, наявність метастатичного процесу, проведення імунотерапії у вигляді монотерапії або в комбінації з хіміотерапією, а також наявність доступного архівного матеріалу пухлинної тканини для імуногістохімічного аналізу. Пацієнтів із неповними клінічними даними або відсутністю придатних гістологічних препаратів було виключено з аналізу.

Клінічні характеристики збирали з медичної документації та включали: вік на момент початку імунотерапії, стать та гістологічний варіант пухлини. Також враховували дати початку лікування, дату підтвердженого прогресування захворювання, дату смерті або останнього контакту для оцінки виживаності без прогресування та загальної виживаності.

Первинними кінцевими точками були виживаність без прогресування та загальна виживаність. Виживаність без прогресування визначали від початку імунотерапії до дати підтвердженого прогресування чи смерті з будь-якої причини. Загальну виживаність визначали від початку лікування до дати смерті.

Дослідження було схвалено Комітетом з біоетики Державного вищого навчального закладу «Сумський державний університет» (протокол № 3/12 від 17.12.2024). Усі пацієнти, які були живими на початок дослідження, надали письмову інформовану згоду.

and tumor progression [11, 12]. CD163⁺ expression is considered a marker of M2 polarization, while CD68⁺ is indicative of the total macrophage population. The CD163⁺/CD68⁺ ratio is increasingly recognized as an integrated indicator of immune regulation within the tumor microenvironment [13, 14].

Despite the growing body of evidence, most studies focus on individual markers or morphological tissue assessments, whereas comprehensive approaches that integrate quantitative analysis of multiple parameters and patient clustering remain underdeveloped. In particular, studies that combine CD8⁺ infiltration levels, STAT6⁺ expression, and the balance of macrophage phenotypes into a prognostic model for patients receiving ICIs are lacking.

Against this background, we hypothesized that a combined assessment of CD8⁺, STAT6⁺, and the CD163⁺/CD68⁺ ratio would allow for the identification of immune phenotypes within the tumor microenvironment that possess prognostic significance for survival in patients with metastatic NSCLC undergoing immunotherapy.

Objective – to analyze the morphofunctional characteristics of the tumor immune microenvironment using immunohistochemistry, to define immune phenotype classes, and to evaluate their impact on patient survival using principal component analysis and clustering.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Study Design and Data Collection. A retrospective single-center cohort study was conducted, involving 86 patients with metastatic NSCLC who received immune ICI therapy under routine clinical conditions from 2016 to 2024. Inclusion criteria comprised histologically confirmed NSCLC diagnosis, presence of metastatic disease, treatment with immunotherapy either as monotherapy or in combination with chemotherapy, and availability of archival tumor tissue for immunohistochemical analysis. Patients with incomplete clinical data or lacking suitable histological specimens were excluded from the analysis.

Clinical characteristics were obtained from medical records and included age at the initiation of immunotherapy, sex, and histological tumor subtype. Additionally, the dates of treatment initiation, confirmed disease progression, death, or last follow-up were recorded to assess progression-free survival and overall survival.

The primary endpoints were progression-free survival and overall survival. Progression-free survival was defined as the time from the initiation of immunotherapy to the date of confirmed progression or death from any cause. Overall survival was defined as the time from treatment initiation to death.

The study was approved by the Bioethics Committee of State Higher Educational Institution «Sumy State University» (protocol No. 3/12, dated 17.12.2024). All patients alive at the start of the study provided written informed consent.

Гістологічне та імуногістохімічне дослідження. Архівні зразки пухлинної тканини піддавали стандартній гістологічній обробці: фіксація у 10% нейтральному формаліні протягом 24 годин, дегідратація та заливка у парафін із використанням автоматизованої системи, виготовлення серійних зрізів товщиною 4–5 мкм та їх забарвлення гематоксином та еозином. Для імуногістохімічного дослідження використовували зрізи товщиною 4 мкм, нанесені на адгезивні предметні скельця SuperFrost. Антигенну репарацію проводили у цитратному буфері (pH 6,0) при високій температурі. Для візуалізації застосовували систему детекції «In Vitro» (Master-Diagnostica, Іспанія). Для кожного зразка обирали шість ділянок пухлинної тканини діаметром 1 мм² з максимальною щільністю позитивних клітин і обчислювали середні значення. Для ідентифікації макрофагів типів M1 та M2 застосовували антитіла проти CD68⁺ (мишачі моноклональні, клон KP-1, Master-Diagnostica, Іспанія, готові до використання) та CD163⁺ (кролячі моноклональні, клон EP324, Master-Diagnostica, Іспанія, готові до використання) відповідно. Для детекції STAT6⁺ використовували кролячі моноклональні антитіла (клон EP325, Cell Marque, США, готові до використання). Цитотоксичні Т-лімфоцити виявляли за допомогою антитіл проти CD8⁺ (клон C8/144B, Dako, Glostrup, Данія). Граничними значеннями для розподілу пацієнтів в підгрупи з низькою та високою експресією CD8⁺, CD68⁺, CD163⁺, STAT6⁺ та співвідношення CD163⁺/CD68⁺ були 38,1, 29,1, 18,1, 13,8 клітин/1 мм² та 0,48.

Аналіз головних компонент та кластеризація. Для зменшення розмірності даних та виявлення прихованих структур у взаємозв'язках між імунними маркерами використовували аналіз головних компонент. До аналізу включали стандартизовані значення експресії CD8⁺, STAT6⁺ та логарифмічно перетворене співвідношення CD163⁺/CD68⁺. Попередня стандартизація (z-бали) дозволяла усунути вплив різних масштабів вимірювання та забезпечувала порівнюваність внеску кожної змінної у головні компоненти. Аналіз головних компонент застосовувався для отримання нових інтегральних змінних (головних компонент), що пояснювали найбільшу частку варіації вихідних показників. Для подальшої візуалізації використовували перші дві головні компоненти, які сумарно відображали основну частку дисперсії даних.

Після виконання аналізу головних компонент було застосовано ієрархічний кластерний аналіз за методом Ворда (Ward's linkage) із використанням евклідової відстані як міри подібності між спостереженнями. Цей підхід мінімізує внутрішньогрупову варіабельність і забезпечує формування найбільш однорідних кластерів. За результатами кластеризації було виділено три стабільні групи пацієнтів, що інтерпретувалися як окремі імунні фенотипи пухлинного мікрооточення. Ідентифікацію фенотипів здійснювали шляхом порівняння середніх значень маркерів у кожному кластері. Імуноактивний фенотип характеризувався високим рівнем CD8⁺, низькою експресією STAT6⁺ та низьким співвідношенням CD163⁺/CD68⁺; імуносупресивний фенотип – низьким рівнем CD8⁺, високою експресією STAT6⁺ та високим співвідношенням CD163⁺/CD68⁺; нейтральний/змішаний фенотип мав

Histological and Immunohistochemical Assessment. Archival tumor specimens underwent standard histological processing, including fixation in 10% neutral buffered formalin for 24 hours, dehydration, and paraffin embedding using an automated system, followed by sectioning at 4–5 μm thickness and staining with hematoxylin and eosin. For immunohistochemistry, 4 μm-thick sections were mounted on SuperFrost adhesive slides. Antigen retrieval was performed in citrate buffer (pH 6.0) under high temperature. Visualization was carried out using the «In Vitro» detection system (Master-Diagnostica, Spain). Six 1 mm² regions with the highest density of positively stained cells were selected per sample, and average values were calculated.

M1 and M2 macrophages were identified using antibodies against CD68⁺ (mouse monoclonal, clone KP-1, Master-Diagnostica, Spain, ready-to-use) and CD163⁺ (rabbit monoclonal, clone EP324, Master-Diagnostica, Spain, ready-to-use), respectively. STAT6⁺ expression was detected using rabbit monoclonal antibodies (clone EP325, Cell Marque, USA, ready-to-use). Cytotoxic T lymphocytes were identified using antibodies against CD8⁺ (clone C8/144B, Dako, Glostrup, Denmark). The cut-off values for classifying patients into low or high expression groups were 38.1, 29.1, 18.1, and 13.8 cells/mm² for CD8⁺, CD68⁺, CD163⁺, and STAT6⁺, respectively, and 0.48 for the CD163⁺/CD68⁺ ratio.

Principal Component Analysis and Clustering. To reduce data dimensionality and uncover latent structures in the relationships among immune markers, principal component analysis (PCA) was employed. The analysis included standardized values (z-scores) of CD8⁺ and STAT6⁺ expression, as well as the logarithmically transformed CD163⁺/CD68⁺ ratio. Standardization minimized the impact of differing measurement scales and allowed for the comparability of each variable's contribution to the principal components. PCA was used to derive new composite variables (principal components) that explained the largest proportion of variance in the data. The first two principal components, which together captured the majority of the data variance, were used for visualization.

Following PCA, hierarchical cluster analysis was performed using Ward's linkage method and Euclidean distance as the similarity metric. This approach minimized within-cluster variability and enabled the formation of the most homogeneous clusters. As a result, three stable patient clusters were identified, interpreted as distinct immune phenotypes of the tumor microenvironment. Phenotypes were defined by comparing the mean values of immune markers within each cluster. The immune-active phenotype was characterized by high CD8⁺ expression, low STAT6⁺ expression, and a low CD163⁺/CD68⁺ ratio. The immunosuppressive phenotype exhibited low CD8⁺, high STAT6⁺, and a high CD163⁺/CD68⁺ ratio. The neutral/mixed phenotype displayed intermediate characteristics. To visually represent the clustering and PCA results, a two-dimensional scatterplot of patients was constructed based on the first two principal components, with color-coded cluster membership.

проміжні характеристики. Для наочного представлення результатів аналізу головних компонент та класифікації будували двовимірний графік розташування пацієнтів у просторі перших двох головних компонент із кольоровим виділенням належності до кластерів.

Статистичний аналіз. Статистичний аналіз проводили у програмі Stata SE 19,5 (StataCorp, College Station, TX, USA). Кількісні змінні описували за допомогою середніх значень, стандартних відхилень та медіан. Для порівняння експресії маркерів між групами застосовували тест Краскела–Уолліса. Криві виживаності будували за методом Каплана–Майєра, а відмінності між ними оцінювали log-rank тестом. Незалежні прогностичні фактори визначали за допомогою багатовимірної регресійної моделі Кокса з використанням методу Бреслоу для обліку зв'язаних подій. У модель включали клінічні змінні (вік, стать, гістологічний тип) та стандартизовані (z-бали) показники експресії CD8⁺, STAT6⁺, співвідношення CD163⁺/CD68⁺, а також належність до імунного фенотипу. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущими, результати наведено у вигляді hazard ratio (HR) з 95% довірчими інтервалами (ДІ).

Statistical Analysis. Statistical analyses were performed using Stata SE 19.5 (StataCorp, College Station, TX, USA). Quantitative variables were described using means, standard deviations, and medians. Differences in marker expression between groups were assessed using the Kruskal–Wallis test. Kaplan–Meier curves were constructed to estimate survival outcomes, and group differences were evaluated using the log-rank test. Independent prognostic factors were identified through multivariable Cox proportional hazards regression using the Breslow method to account for tied events. The model included clinical variables (age, sex, histological subtype) and standardized (z-score) values of CD8⁺, STAT6⁺, CD163⁺/CD68⁺, and immune phenotype assignment. A p -value < 0.05 was considered statistically significant. Results were reported as hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs).

РЕЗУЛЬТАТИ

Характеристика пацієнтів

У дослідження було включено 86 пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію у стандартних клінічних умовах. Середній вік становив $60,9 \pm 7,86$ р. Переважну частину вибірки становили чоловіки – 87,2% ($n = 75$), тоді як частка жінок склала лише 12,8% ($n = 11$). За гістологічною структурою у більшості пацієнтів було виявлено плоскоклітинну карциному (59,3%), тоді як аденокарцинома зустрічалася у 40,7% випадків.

При імуногістохімічному аналізі виявлено, що низький рівень інфільтрації CD8⁺ Т-клітинами ($< 38,1$ клітин/мм²) мав місце у більшості пацієнтів (70,9%), тоді як високий рівень експресії STAT6⁺ ($\geq 13,8$ клітин/мм²) спостерігався у 65,1% випадків. Щодо макрофагальних маркерів, CD68⁺ виявлявся на високому рівні у 44,2% пацієнтів, CD163⁺ – у 72,1%. Водночас, співвідношення CD163⁺/CD68⁺, що вказує на переважання імунорегуляторного M2-фенотипу, було високим ($\geq 0,48$) у 70,9% учасників (табл. 1).

RESULTS

Patient characteristics

A total of 86 patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) who received immunotherapy under standard clinical conditions were included in the study. The mean age was 60.9 ± 7.86 years. The majority of patients were male – 87.2% ($n = 75$), while females comprised only 12.8% ($n = 11$). Histologically, squamous cell carcinoma was identified in most patients (59.3%), whereas adenocarcinoma was observed in 40.7% of cases.

Immunohistochemical analysis revealed that a low level of CD8⁺ T-cell infiltration (< 38.1 cells/mm²) was present in the majority of patients (70.9%), while high STAT6⁺ expression (≥ 13.8 cells/mm²) was observed in 65.1% of cases. Regarding macrophage markers, CD68⁺ expression was high in 44.2% of patients, and CD163⁺ in 72.1%. Notably, the CD163⁺/CD68⁺ ratio, indicating the predominance of the immunoregulatory M2 phenotype, was elevated (≥ 0.48) in 70.9% of participants (Table 1).

Таблиця 1. Характеристика пацієнтів за демографічними, гістологічними та імунними параметрами
Table 1. Patient characteristics according to demographic, histological, and immune parameters

Змінні Variables	Загальна кількість пацієнтів Total number of patients, $n = 86$ (100%)
Середній вік (роки) Median age (years)	$60,9 \pm 7,86$
Стать / Sex: Чоловіча / Male Жіноча / Female	75 (87,2) 11 (12,8)
Гістологія / Histology: Аденокарцинома / Adenocarcinoma Плоскоклітинна карцинома / Squamous cell carcinoma	35 (40,7) 51 (59,3)
CD8 ⁺ : <38,1 (низька експресія / low expression) $\geq 38,1$ (висока експресія / high expression)	61 (70,9) 25 (29,1)

Продовження таблиці 1

STAT6 ⁺ : <13,8 (низька експресія / low expression) ≥13,8 (висока експресія / high expression)	30 (34,9) 56 (65,1)
CD68 ⁺ : <29,1 (низька експресія / low expression) ≥29,1 (висока експресія / high expression)	48 (55,8) 38 (44,2)
CD163 ⁺ : <18,1 (низька експресія / low expression) ≥18,1 (висока експресія / high expression)	24 (27,9) 62 (72,1)
Співвідношення CD163 ⁺ /CD68 ⁺ : <0,48 (низьке / low) ≥0,48 (високе / high)	25 (29,1) 61 (70,9)

Аналіз головних компонент і кластеризація

Для дослідження гетерогенності пухлинного мікрооточення був проведений аналіз головних компонент на основі експресії CD8⁺, STAT6⁺ та співвідношення CD163⁺/CD68⁺. Двовимірною проекцією продемонструвала наявність трьох чітко відокремлених груп пацієнтів, які відповідали імунним фенотипам: нейтральному/змішаному, імунноактивному та імуносупресивному. Імунноактивний фенотип формував компактний кластер, тоді як імуносупресивний займав протилежне положення на графіку, що відображає суттєві біологічні відмінності між цими групами. Нейтральний/змішаний фенотип локалізувався у проміжній зоні (рис. 1).

Principal Component Analysis and Clustering

To investigate the heterogeneity of the tumor microenvironment, PCA was performed based on the expression levels of CD8⁺, STAT6⁺, and the CD163⁺/CD68⁺ ratio. The two-dimensional projection revealed the presence of three clearly distinguishable patient groups corresponding to immune phenotypes: neutral/mixed, immune-active, and immunosuppressive. The immune-active phenotype formed a compact cluster, whereas the immunosuppressive phenotype occupied the opposite side of the plot, reflecting substantial biological differences between these groups. The neutral/mixed phenotype was positioned in an intermediate area (Fig. 1).

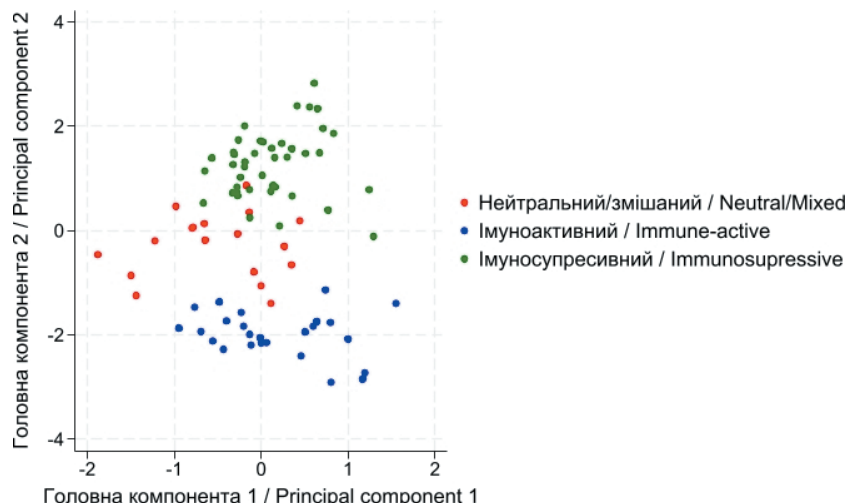


Рис. 1. Аналіз головних компонент експресії CD8⁺, STAT6⁺ та співвідношення CD163⁺/CD68⁺ для визначення імунного фенотипу у пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень, які отримували імунотерапію
Fig. 1. Principal component analysis of CD8⁺, STAT6⁺ expression, and the CD163⁺/CD68⁺ ratio for identification of immune phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving immunotherapy

Для кількісної оцінки отриманих груп був застосований ієрархічний кластерний аналіз, результати якого підтвердили існування трьох відмінних імунних фенотипів. Імунноактивний фенотип характеризувався високим рівнем CD8⁺, низькою експресією STAT6⁺ та низьким співвідношенням CD163⁺/CD68⁺, що свідчить про переважання прозапального імунного мікрооточення. На противагу, імуносупресивний фенотип відзначався пригніченою Т-клітинною інфільтрацією, високими показниками STAT6⁺ та підвищеним співвідношенням CD163⁺/CD68⁺, що відповідає домінуванню імунорегуляторних М2-макрофагів.

To quantitatively evaluate the identified groups, hierarchical cluster analysis was performed, confirming the existence of three distinct immune phenotypes. The immune-active phenotype was characterized by high CD8⁺ levels, low STAT6⁺ expression, and a low CD163⁺/CD68⁺ ratio, indicative of a predominantly pro-inflammatory immune microenvironment. In contrast, the immunosuppressive phenotype displayed reduced T-cell infiltration, elevated STAT6⁺ expression, and a high CD163⁺/CD68⁺ ratio, reflecting the dominance of immunoregulatory M2 macrophages. The neutral/mixed phenotype exhibited intermediate characteristics.

Нейтральний/змішаний фенотип мав проміжні характеристики.

Були виявлені статистично значущі відмінності між трьома фенотипами для всіх досліджуваних маркерів ($p = 0,001$). Зокрема, рівень $CD8^+$ достовірно відрізнявся між імунноактивним фенотипом та двома іншими групами; експресія $STAT6^+$ була найнижчою в імунноактивному та найвищою в імуносупресивному фенотипі; співвідношення $CD163^+/CD68^+$ також суттєво зростало у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом (табл. 2).

Statistically significant differences were observed among the three phenotypes for all evaluated markers ($p = 0.001$). Specifically, $CD8^+$ levels were significantly higher in the immune-active phenotype compared to the other two groups; $STAT6^+$ expression was lowest in the immune-active and highest in the immunosuppressive phenotype; and the $CD163^+/CD68^+$ ratio was markedly elevated in the immunosuppressive group (Table 2).

Таблиця 2. Імунні фенотипи на основі експресії $CD8^+$, $STAT6^+$ та співвідношення $CD163^+/CD68^+$ у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень.

Table 2. Immune phenotypes based on $CD8^+$, $STAT6^+$ expression and the $CD163^+/CD68^+$ ratio in patients with metastatic non-small cell lung cancer.

Маркери Markers	Нейтральний / змішаний Neutral / Mixed (n = 18)	Імунноактивний Immune-active (n = 25)	Імуносупресивний Immunosuppressive (n = 43)	p*
$CD8^+$ (клітин / $1mm^2$) (cells / $1mm^2$)	$21,8 \pm 12,3$ 18,6 [p50]	$49,7 \pm 12,8$ 48,2 [p50]	$15,6 \pm 9,6$ 13,5 [p50]	0,001
$STAT6^+$ (клітин / $1mm^2$) (cells / $1mm^2$)	$14,3 \pm 7,8$ 13,9 [p50]	$8,9 \pm 4,1$ 8,4 [p50]	$25,6 \pm 6,4$ 23,8 [p50]	0,001
$CD163^+/CD68^+$	$0,94 \pm 0,51$ 0,83 [p50]	$0,33 \pm 0,13$ 0,29 [p50]	$3,38 \pm 1,62$ 3,05 [p50]	0,001

Примітка / Note:

*Для обчислення значення p використано тест Краскела-Уолліса.

*The p-value was calculated using the Kruskal-Wallis test.

Таким чином, проведений аналіз показав, що серед пацієнтів з метастатичним НДРЛ, які отримували імунотерапію, імунне мікрооточення пухлини може бути розділене на три відмінні фенотипи, з яких імунноактивний фенотип пов'язаний із найбільш сприятливим імунним профілем.

Thus, the analysis demonstrated that among patients with metastatic NSCLC undergoing immunotherapy, the tumor immune microenvironment could be stratified into three distinct phenotypes, with the immune-active phenotype being associated with the most favorable immune profile.

Оцінювання виживаності

Аналіз виживаності без прогресування залежно від імунних фенотипів показав суттєві відмінності між трьома групами. Пацієнти з імунноактивним фенотипом мали найсприятливіший перебіг захворювання: медіана виживаності без прогресування перевищувала 16 міс. У групі з нейтральним/змішаним фенотипом медіана виживаності без прогресування становила близько 7,6 міс., що відображає проміжні результати. Найгірші показники зафіксовані в пацієнтів з імуносупресивним фенотипом: медіана виживаності без прогресування не перевищувала 5,1 міс.

За результатами log-rank тесту виявлено статистично значущі відмінності між кривими виживаності у трьох фенотипах ($\chi^2 = 26,25$; $p < 0,001$). При цьому пацієнти з імунноактивним фенотипом мали достовірно кращу безрецидивну виживаність у порівнянні з імуносупресивним та нейтральним/змішаним фенотипами, тоді як імуносупресивний фенотип асоціювався з найвищою частотою прогресування (рис. 2).

Таким чином, результати підтверджують, що імунний фенотип пухлинного мікрооточення має прогностичне значення для виживаності без прогресування у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

Аналіз загальної виживаності залежно від імунних фенотипів також продемонстрував суттєві відмінності між групами пацієнтів. Найсприятливіші результати спостерігалися у хворих з імунноактивним

Survival Analysis

Progression-free survival analysis based on immune phenotypes revealed significant differences among the three groups. Patients with the immune-active phenotype experienced the most favorable disease course, with a median progression-free survival exceeding 16.0 months. In the neutral/mixed phenotype group, the median progression-free survival was approximately 7.6 months, indicating intermediate outcomes. The poorest results were observed in patients with the immunosuppressive phenotype, where the median progression-free survival did not exceed 5.1 months.

According to the log-rank test, statistically significant differences were found between the survival curves of the three phenotypes ($\chi^2 = 26.25$; $p < 0.001$). Patients with the immune-active phenotype had significantly better progression-free survival compared to those with immunosuppressive or neutral/mixed phenotypes, while the immunosuppressive phenotype was associated with the highest rate of disease progression (Fig. 2).

These findings confirm that the immune phenotype of the tumor microenvironment holds prognostic significance for progression-free survival in patients with metastatic NSCLC undergoing immunotherapy.

The analysis of overall survival by immune phenotype also demonstrated substantial differences among the patient groups. The most favorable outcomes were observed in patients with the immune-active phenotype, whose median overall survival exceeded 35.0 months,

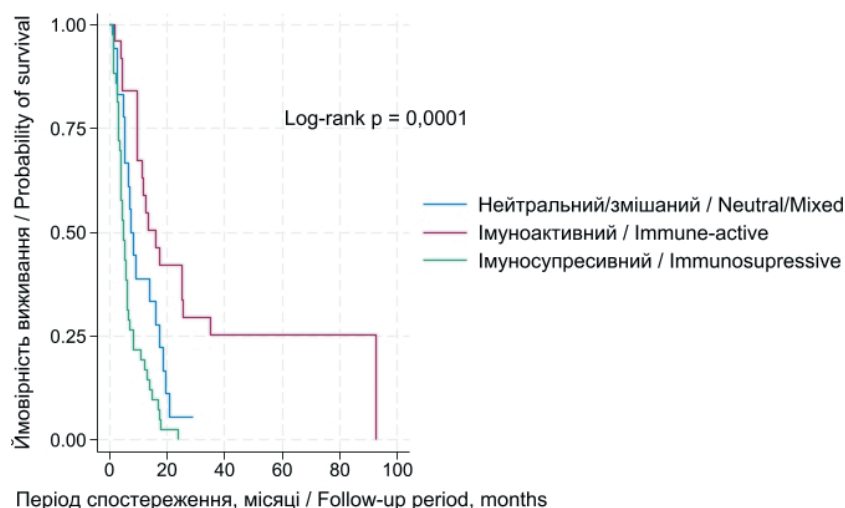


Рис. 2. Криві Каплана–Майєра, що демонструють виживаність без прогресування у пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень, які отримували імунотерапію, залежно від імунного фенотипу пухлинного мікрооточення
Fig. 2. Kaplan–Meier curves illustrating progression-free survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving immunotherapy, stratified by tumor immune microenvironment phenotype

фенотипом: медіана загальної виживаності перевищувала 35,0 міс., а 25% пацієнтів залишалися живими понад 4 роки після початку лікування. Пацієнти з нейтральним/змішаним фенотипом мали проміжну тривалість виживаності з медіаною близько 19,7 міс. Найгірші показники були характерні для імуносупресивного фенотипу, де медіана загальної виживаності становила лише 8,8 міс., а значна частка подій (смертей) фіксувалася у перші два роки спостереження.

Результати log-rank тесту підтвердили статистично значущі відмінності між кривими загальної виживаності у трьох фенотипах ($\chi^2 = 35,29$; $p < 0,001$). Пацієнти з імуноактивним фенотипом мали достовірно кращу загальну виживаність порівняно з імуносупресивним та нейтральним/змішаним фенотипами, тоді як імуносупресивний фенотип асоціювався з найгіршим прогнозом (рис. 3).

with 25% of patients remaining alive more than four years after initiating treatment. Patients with the neutral/mixed phenotype had intermediate survival outcomes, with a median overall survival of approximately 19.7 months. The worst prognosis was associated with the immunosuppressive phenotype, where the median overall survival was only 8.8 months, and a significant proportion of deaths occurred within the first two years of follow-up.

Log-rank test results confirmed statistically significant differences between the overall survival curves across the three phenotypes ($\chi^2 = 35.29$; $p < 0.001$). Patients with the immune-active phenotype showed significantly better overall survival compared to those with immunosuppressive and neutral/mixed phenotypes, whereas the immunosuppressive phenotype was associated with the poorest prognosis (Fig. 3).

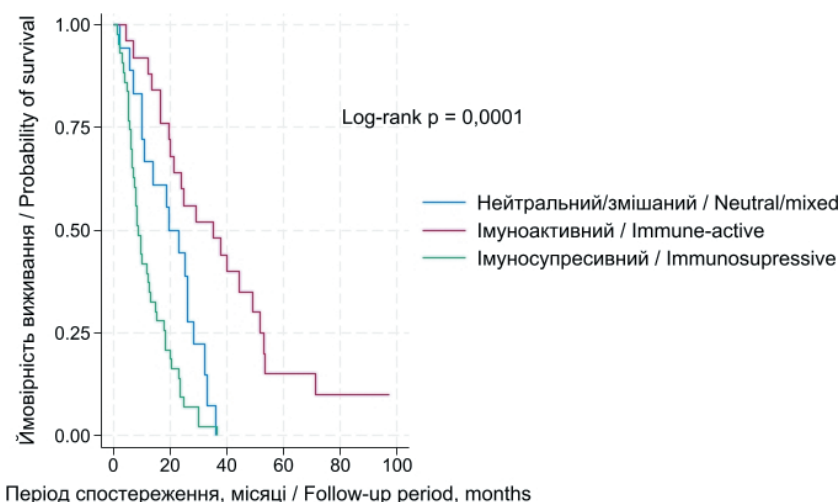


Рис. 3. Криві Каплана–Майєра, що демонструють загальну виживаність у пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень, які отримували імунотерапію, залежно від імунного фенотипу пухлинного мікрооточення
Fig. 3. Kaplan–Meier curves illustrating overall survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving immunotherapy, stratified by tumor immune microenvironment phenotype

Таким чином, отримані дані свідчать, що імунні фенотипи пухлинного мікрооточення мають суттєве прогностичне значення не лише для безрецидивної, а й для загальної виживаності у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

Незалежні предиктори виживаності

У багатовимірному регресійному аналізі Кокса було враховано вік, стать, гістологію, експресію CD8⁺, STAT6⁺, співвідношення CD163⁺/CD68⁺ та імунні фенотипи. Єдиним незалежним предиктором ризику прогресування виявилось співвідношення CD163⁺/CD68⁺, яке асоціювалося зі статистично значущим підвищенням ризику (HR = 2,81; 95% ДІ: 1,72–4,59; $p < 0,001$). Жоден із інших показників, включно з CD8⁺, STAT6⁺ та імунними фенотипами, не продемонстрував незалежного впливу на виживаність без прогресування.

При оцінці загальної виживаності у тій самій моделі ключовим незалежним фактором також залишалося співвідношення CD163⁺/CD68⁺. Вищі значення цього показника асоціювалися з понад чотириразовим зростанням ризику смерті (HR = 4,34; 95% ДІ: 2,51–7,51; $p < 0,001$). Вік, стать, гістологія, CD8⁺, STAT6⁺ та імунні фенотипи не виявили статистично значущого прогностичного значення в багатовимірній моделі (табл. 3).

These findings indicate that immune phenotypes of the tumor microenvironment have substantial prognostic value not only for progression-free survival but also for overall survival in patients with metastatic NSCLC treated with immunotherapy.

Independent Predictors of Survival

In the multivariable Cox regression analysis, age, sex, histology, CD8⁺ expression, STAT6⁺ expression, the CD163⁺/CD68⁺ ratio, and immune phenotype were included as covariates. The only independent predictor of progression risk was the CD163⁺/CD68⁺ ratio, which was significantly associated with increased risk (HR = 2.81; 95% CI: 1.72–4.59; $p < 0.001$). None of the other variables, including CD8⁺, STAT6⁺, or immune phenotypes, showed a statistically significant independent effect on progression-free survival.

For overall survival, the CD163⁺/CD68⁺ ratio also remained the key independent prognostic factor in the same model. Higher values of this ratio were associated with a more than fourfold increase in mortality risk (HR = 4.34; 95% CI: 2.51–7.51; $p < 0.001$). Age, sex, histological type, CD8⁺, STAT6⁺, and immune phenotype were not statistically significant predictors in the multivariable model (Table 3).

Таблиця 3. Модель пропорційних ризиків Кокса для виживаності без прогресування та загальної виживаності у пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень

Table 3. Cox proportional hazards model for progression-free and overall survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer

Змінні Variables	Вживаність без прогресування Progressive-free survival (HR; 95% CI)	p-value	Загальна виживаність Overall survival (HR; 95% CI)	p-value
Вік / Age	0,98; 0,95–1,01	0,358	0,99; 0,96–1,02	0,657
Стать / Sex	1,45; 0,67–3,16	0,338	1,89; 0,88–4,04	0,100
Гістологія / Histology	1,20; 0,75–1,94	0,434	1,27; 0,77–2,12	0,341
CD8 ⁺	0,83; 0,59–1,17	0,300	0,94; 0,67–1,31	0,728
STAT6 ⁺	0,90; 0,62–1,32	0,619	0,79; 0,55–1,15	0,227
CD163 ⁺ /CD68 ⁺	2,81; 1,72–4,59	<0,001	4,34; 2,51–7,51	<0,001
Імунні фенотипи Immune phenotypes	0,87; 0,56–1,36	0,557	0,85; 0,55–1,31	0,471

Таким чином, хоча криві Каплана–Майєра продемонстрували кращу виживаність пацієнтів з імунно-активним фенотипом, результати багатофакторного аналізу свідчать, що саме показник CD163⁺/CD68⁺ є ключовим незалежним предиктором як безрецидивної, так і загальної виживаності у хворих на метастатичний НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

Thus, although Kaplan–Meier curves demonstrated improved survival in patients with the immune-active phenotype, the results of multivariable analysis indicate that the CD163⁺/CD68⁺ ratio is the key independent predictor of both progression-free and overall survival in patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving immunotherapy.

ОБГОВОРЕННЯ

У нашому дослідженні було виявлено три чітко визначені імунні фенотипи пухлинного мікрооточення у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію: імунноактивний, нейтральний/змішаний та імуносупресивний. Ці фенотипи суттєво відрізнялися за рівнем інфільтрації CD8⁺ Т-клітин, експресією STAT6⁺ та співвідношенням макрофагальних маркерів CD163⁺/CD68⁺, що підтверджувалося як аналізом головних компонент, так і результатами кластеризації. Імунноактивний фенотип асоціювався з найкращими показниками виживаності без прогресування та загальної виживаності. Навпаки, імуносупресивний

DISCUSSION

In our study, we identified three clearly distinguishable immune phenotypes of the tumor microenvironment in patients with metastatic NSCLC receiving immunotherapy: immune-active, neutral/mixed, and immunosuppressive. These phenotypes differed significantly in terms of CD8⁺ T-cell infiltration, STAT6⁺ expression, and the CD163⁺/CD68⁺ macrophage marker ratio, as confirmed by principal component analysis and hierarchical clustering. The immune-active phenotype was associated with the most favorable progression-free survival and overall survival, whereas the immunosuppressive phenotype had the worst prognosis.

фенотип характеризувався найгіршим прогнозом. Хоча фенотип мав прогностичне значення у невідбірковому аналізі, єдиним незалежним фактором у багатовимірній моделі виявилось співвідношення $CD163^+/CD68^+$, що підтверджує вирішальну роль поляризації макрофагів у відповідь на ІКТ.

Результати нашого дослідження добре узгоджуються з сучасними уявленнями про функціональну гетерогенність імунного мікрооточення в НДКРЛ. Зокрема, підвищена інфільтрація $CD8^+$ Т-лімфоцитів, яка спостерігалася в імуноактивному фенотипі, вже неодноразово визначалася як ключовий фактор відповіді на імунотерапію [15]. Наявність Т-клітин з ефекторними властивостями у мікрооточенні свідчить про «гарячу» імунну природу пухлини, що асоціюється з покращенням виживаності [16].

Однак сама по собі присутність $CD8^+$ клітин не гарантує ефективної відповіді. Дослідження Kraemer et al. [17] показало, що навіть при значній інфільтрації Т-клітинами, ефект ІКТ може бути обмеженим за рахунок імуносупресивних механізмів, зокрема впливу макрофагів М2-типу. У цьому контексті наше спостереження щодо домінантного прогностичного значення співвідношення $CD163^+/CD68^+$ виглядає закономірним, оскільки воно відображає рівень поляризації асоційованих з пухлиною макрофагів. Як підтверджено в дослідженнях Arora et al. [18] та Liao et al. [19], підвищене співвідношення $CD163^+/CD68^+$ вказує на переважання М2-поляризації, яка сприяє ангіогенезу, інвазії та пригніченню Т-клітинного імунітету.

Слід зазначити, що наш підхід до аналізу імунного профілю не обмежувався окремими маркерами, а передбачав інтегральну оцінку фенотипів на основі кількох показників. Така стратегія дозволила виявити складну взаємодію між Т-клітинним компонентом і макрофагальною регуляцією. Наприклад, навіть при високому рівні $CD8^+$ інфільтрації, що характерно для імуноактивного фенотипу, наявність помірного рівня $STAT6^+$ або $CD163^+$ могла знижувати ефективність відповіді. Це співвідноситься з даними Sedighzadeh et al. [20], який вказував, що імуносупресивна активність асоційованих з пухлиною макрофагів може нейтралізувати протипухлинну дію цитотоксичних клітин.

$STAT6^+$ відіграє окрему роль у поляризації макрофагів у напрямку М2, активуючи транскрипцію відповідних генів. Наше спостереження щодо високої експресії $STAT6^+$ у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом підтримується дослідженнями Shu et al. [8] та Tang et al. [21], які показали, що інгібіція $STAT6^+$ або його супресія за допомогою siRNA чи генетичних маніпуляцій може призводити до реполяризації асоційованих з пухлиною макрофагів у напрямку М1 і посилення протипухлинної відповіді.

Окремої уваги заслуговує гетерогенність нейтрального/змішаного фенотипу. Його характеристики були проміжними, а клінічні результати – варіативними. Така гетерогенність, ймовірно, відображає нестабільний баланс між активуючими та супресивними імунними механізмами, що робить цю групу потенційно чутливою до комбінованих терапевтичних підходів. Аналогічні спостереження зроблені Zhou et al. [22] та Fujiwara et al. [23], які підкреслюють, що пацієнти з мікрооточенням «проміжного» типу можуть особливо

While phenotypes were prognostic in univariable analysis, only the $CD163^+/CD68^+$ ratio remained an independent predictor of both PFS and OS in multivariable models, underscoring the critical role of macrophage polarization in response to ICIs.

Our findings align well with current insights into the functional heterogeneity of the immune microenvironment in NSCLC. Enhanced infiltration by $CD8^+$ T-lymphocytes, characteristic of the immune-active phenotype, is repeatedly described as a pivotal factor underpinning immunotherapy response [15]. The presence of effector T cells suggests a «hot» immune microenvironment, which is known to correlate with improved outcomes [16].

However, the mere presence of $CD8^+$ cells does not guarantee therapeutic benefit. Kraemer et al. [17] demonstrated that even in tumors rich in lymphocyte infiltration, ICI efficacy may be compromised due to immunosuppressive mechanisms, particularly mediated by M2-macrophages. This contextualizes our observation that the $CD163^+/CD68^+$ ratio serves as a dominant prognostic factor, reflecting the extent of tumor-associated macrophage polarization. Studies by Arora et al. [18] and Liao et al. [19] similarly associate elevated $CD163^+/CD68^+$ ratios with M2 dominance, which promotes angiogenesis, invasion, and T-cell suppression.

Our integrative approach to immune profiling – incorporating multiple markers rather than isolated measurements – allowed us to capture complex interactions between T-cell infiltration and macrophage-mediated regulation. For instance, even in the presence of high $CD8^+$ infiltration, moderate $STAT6^+$ or $CD163^+$ expression could reduce therapeutic efficacy. Sedighzadeh et al. [20] showed that immunosuppressive activity of tumor-associated macrophages can negate cytotoxic T-cell function, supporting our integrative assessment.

$STAT6^+$ plays a distinct role in skewing macrophages toward the M2 phenotype by activating transcription of relevant genes. Our finding of elevated $STAT6^+$ in the immunosuppressive phenotype is consistent with studies by Shu et al. [8] and Tang et al. [21], which demonstrated that inhibiting $STAT6^+$ – e.g., via siRNA or genetic approaches – can repolarize macrophages to an M1 state and boost antitumor immune responses.

The heterogeneous nature of the neutral/mixed phenotype merits attention. With intermediate immunophenotypic features and variable clinical outcomes, this group likely represents a fragile balance between activating and suppressive immune mechanisms. Patients in this category may benefit most from combinatory therapies that modify macrophage polarization alongside ICIs, as suggested by Zhou et al. [22] and Fujiwara et al. [23].

Studies by Li et al. [24] and Zhang et al. [25] further illustrate how combining immunotherapy with agents capable of inducing M1 repolarization or enhancing macrophage phagocytosis (e.g., SHISA3 or oxaliplatin) significantly improves ICI efficacy. This approach could benefit patients with immunosuppressive phenotypes by improving their prognosis.

Another important consideration is the spatial organization of immune cells within the tumor. Although our study focused on quantitative assessment, literature

виграти від поєднання ІІКТ з агентами, що змінюють поляризацію асоційованих з пухлиною макрофагів.

Варто також згадати дослідження Li et al. [24] та Zhang et al. [25], які експериментально продемонстрували, що поєднання імунотерапії з агентами, здатними викликати М1-реполяризацію або фагоцитоз пухлинних клітин макрофагами (наприклад, SHISA3 або оксалиплатин), значно підвищує ефективність ІІКТ. Це відкриває перспективи застосування подібних підходів у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом, що може змінити їхній прогноз.

Ще одним важливим аспектом є роль просторової організації імунних клітин у пухлині. Хоча наше дослідження базувалося на кількісній оцінці, літературні джерела вказують на критичне значення локалізації CD8⁺ Т-клітин у безпосередній близькості до пухлинних клітин, що корелює з ефективністю ІІКТ [26]. Просторова дезорганізація, зумовлена накопиченням М2-макрофагів на периферії пухлини, може фізично обмежувати контакт Т-клітин з пухлинними клітинами [27].

З клінічної точки зору запропонована стратифікація пацієнтів за імунними фенотипами має потенціал для прогнозування відповіді на імунотерапію та персоналізації лікування. Імуноактивний фенотип можна розглядати як прогностично сприятливий, і таким пацієнтам достатньо стандартної терапії ІІКТ. Водночас пацієнти з імуносупресивним фенотипом можуть потребувати комбінаційної терапії – зокрема інгібіторів STAT6⁺ або засобів реполяризації асоційованих з пухлиною макрофагів [28].

Незважаючи на отримані результати, наше дослідження має кілька обмежень. По-перше, ретроспективний характер дослідження обмежує можливість контролю за змішаними клінічними змінними. По-друге, дослідження проводилося в одному центрі, що може впливати на репрезентативність вибірки. По-третє, не були враховані інші клітини пухлинного мікрооточення, такі як Т-клітини пам'яті, фібробласти та дендритні клітини.

ВИСНОВКИ

У цьому дослідженні було продемонстровано, що імунне мікрооточення метастатичного НДКРЛ може бути стратифіковане на три фенотипи – імуноактивний, нейтральний/змішаний та імуносупресивний, які мають різний вплив на перебіг захворювання та виживаність пацієнтів, що отримують імунотерапію. Найсприятливіший прогноз спостерігався у хворих з імуноактивним фенотипом, тоді як імуносупресивний асоціювався з високим ризиком прогресування і смерті. Ключовим незалежним предиктором залишалося співвідношення CD163⁺/CD68⁺, що підкреслює центральну роль поляризації макрофагів у формуванні імунного мікрооточення. Отримані результати мають важливе клінічне значення, оскільки відкривають перспективи персоналізованої терапії: пацієнти з імуносупресивним фенотипом можуть потребувати комбінаційних підходів, спрямованих на реполяризацію асоційованих з пухлиною макрофагів або інгібіцію STAT6⁺. Водночас результати слід інтерпретувати з обережністю з огляду на ретроспективний дизайн та обмежену вибірку, що вимагає підтвердження у багатоцентрових проспективних дослідженнях.

emphasizes the importance of CD8⁺ T cells being in close proximity to tumor cells for effective ICI response [26]. Accumulation of M2 macrophages at tumor margins may impede such contact, reducing therapeutic effect [27].

Clinically, stratifying patients by immune phenotype offers prognostic and therapeutic potential. Those with immune-active phenotypes may respond well to standard ICIs, whereas immunosuppressive phenotypes may require tailored combination strategies – such as STAT6⁺ inhibitors or macrophage–repolarizing agents [28].

Despite the findings, our study has several limitations. First, its retrospective design limits the ability to control for confounding clinical variables. Second, the single-center setting may affect the representativeness of the sample. Third, other cells of the tumor microenvironment such as memory T cells, fibroblasts, and dendritic cells were not accounted for.

CONCLUSIONS

Our study demonstrated that the tumor immune microenvironment in metastatic NSCLC can be stratified into three phenotypes – immune-active, neutral/mixed, and immunosuppressive – with distinct impacts on disease course and patient survival under immunotherapy. The immune-active phenotype had the most favorable prognosis, whereas the immunosuppressive phenotype was associated with a high risk of progression and death. The CD163⁺/CD68⁺ ratio emerged as the key independent predictor, underscoring the central role of macrophage polarization. These findings have significant clinical implications, highlighting the potential for personalized therapy. Patients with immunosuppressive phenotypes could benefit from combination strategies targeting macrophage repolarization or STAT6⁺ inhibition. Nonetheless, results should be interpreted cautiously given the retrospective design and limited sample size; validation in prospective, multicenter trials is warranted.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Edirisinghe D. T., Kaur J., Lee Y. Q., et al. The role of the tumour microenvironment in lung cancer and its therapeutic implications. *Medical Oncology*. 2025. № 42 (6). P. 219. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12032-025-02765-7>
2. Mony U., Veeraraghavan V. P. Outcomes of tumor-infiltrating lymphocyte therapy in solid tumours – A systematic review and meta analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2025. №209 P. 104671. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2025.104671>
3. Wei X., Gu L., Heng W. T lymphocytes related biomarkers for predicting immunotherapy efficacy in non-small cell lung cancer. *Oncology Letters*. 2021. №21 (2). P. 89. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2020.12350>
4. Moskalenko Y., Kovchun V., Bohdanov A., et al. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician Medical Journal*. 2025. №32 (3). P. e-GMJ2025-A21. DOI: <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>
5. Desharnais L., Sorin M., Rezanejad M., et al. Spatially mapping the tumour immune microenvironments of non-small cell lung cancer. *Nature Communications*. 2025. №16 (1). P. 1345. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56546-x>
6. Backman M., Strell C., Lindberg A., et al. Spatial immunophenotyping of the tumour microenvironment in non-small cell lung cancer. *European Journal of Cancer*. 2023. №185 P. 40–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2023.02.012>
7. He K., Barsoumian H. B., Puebla-Osorio N., et al. Inhibition of STAT6 with Antisense Oligonucleotides Enhances the Systemic Antitumor Effects of Radiotherapy and Anti-PD-1 in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Immunology Research*. 2023. №11 (4). P. 486–500. DOI: <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-22-0547>
8. Shu H., Lv W., Ren Z. J., et al. Ultrasound-mediated PLGA-PEI Nanobubbles Carrying STAT6 siRNA Enhances NSCLC Treatment via Repolarizing Tumor-associated Macrophages from M2 to M1 Phenotypes. *Current Drug Delivery*. 2024. №21 (8). P. 1114–1127. DOI: <https://doi.org/10.2174/1567201820666230724151545>
9. Paolini L., Tran T., Corgnac S., et al. Differential predictive value of resident memory CD8+T cell subpopulations in patients with non-small-cell lung cancer treated by immunotherapy. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2024. №12 (12). P. e009440. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-009440>
10. Coulton A., Murai J., Qian D., et al. Using a pan-cancer atlas to investigate tumour associated macrophages as regulators of immunotherapy response. *Nature Communications*. 2024. №15 (1). P. 5665. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49885-8>
11. Rakae M., Busund L. R., Jamaly S., et al. Prognostic Value of Macrophage Phenotypes in Resectable Non-Small Cell Lung Cancer Assessed by Multiplex Immunohistochemistry. *Neoplasia*. 2019. №2 (3). P. 282–293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2019.01.005>
12. Lv T., Fan R., Wu J., et al. Tumor-Associated Macrophages: Key Players in the Non-Small Cell Lung Cancer Tumor Microenvironment. *Cancer Medicine*. 2025. №14 (3). P. e70670. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.70670>
13. Sun J., Guo H., Nie Y., et al. Deciphering the heterogeneity dominated by tumor-associated macrophages for survival prognostication and prediction of immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2024. №14 (1). P. 9276. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60132-4>
14. Wang C., Gao Q., Wu J., et al. The Biological Role of Macrophage in Lung and Its Implications in Lung Cancer Immunotherapy. *Advanced Biology* (Weinheim). 2024. №8 (6). P. e2400119. DOI: <https://doi.org/10.1002/adbi.202400119>
15. Wu Y., Yuan M., Wang C., et al. T lymphocyte cell: A pivotal player in lung cancer. *Frontiers in Immunology*. 2023. №14 P. 1102778. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1102778>. Erratum in: *Frontiers in Immunology*. 2023. №14 P. 1166352. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1166352>
16. Pai J. A., Hellmann M. D., Sauter J. L., et al. Lineage tracing reveals clonal progenitors and long-term persistence of tumor-specific T cells during immune checkpoint blockade. *Cancer Cell*. 2023. №41 (4). P. 776–790.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.03.009>
17. Kraemer A. I., Chong C., Huber F., et al. The immunopeptidome landscape associated with T cell infiltration, inflammation and immune editing in lung cancer. *Nature Cancer*. 2023. №4 (5). P. 608–628. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43018-023-00548-5>
18. Arora S., Singh P., Ahmad S., et al. Comprehensive Integrative Analysis Reveals the Association of KLF4 with Macrophage Infiltration and Polarization in Lung Cancer Microenvironment. *Cells*. 2021. №10 (8). P. 2091. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10082091>

REFERENCES

1. Edirisinghe DT, Kaur J, Lee YQ, Lim HX, Lo SWT, Vishupriya S, et al. The role of the tumour microenvironment in lung cancer and its therapeutic implications. *Medical Oncology*. 2025;42(6):219. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12032-025-02765-7>
2. Mony U, Veeraraghavan VP. Outcomes of tumor-infiltrating lymphocyte therapy in solid tumours – A systematic review and meta analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2025;209:104671. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2025.104671>
3. Wei X, Gu L, Heng W. T lymphocytes related biomarkers for predicting immunotherapy efficacy in non-small cell lung cancer. *Oncology Letters*. 2021;21(2):89. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2020.12350>
4. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician Medical Journal*. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. DOI: <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>
5. Desharnais L, Sorin M, Rezanejad M, Liu B, Karimi E, Atallah A, et al. Spatially mapping the tumour immune microenvironments of non-small cell lung cancer. *Nature Communications*. 2025;16(1):1345. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56546-x>
6. Backman M, Strell C, Lindberg A, Mattsson JSM, Elfving H, Brunnström H, et al. Spatial immunophenotyping of the tumour microenvironment in non-small cell lung cancer. *European Journal of Cancer*. 2023;185:40–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2023.02.012>
7. He K, Barsoumian HB, Puebla-Osorio N, Hu Y, Sezen D, Wasley MD, et al. Inhibition of STAT6 with Antisense Oligonucleotides Enhances the Systemic Antitumor Effects of Radiotherapy and Anti-PD-1 in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Immunology Research*. 2023;11(4):486–500. DOI: <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-22-0547>
8. Shu H, Lv W, Ren ZJ, Li H, Dong T, Zhang Y, et al. Ultrasound-mediated PLGA-PEI Nanobubbles Carrying STAT6 siRNA Enhances NSCLC Treatment via Repolarizing Tumor-associated Macrophages from M2 to M1 Phenotypes. *Current Drug Delivery*. 2024;21(8):1114–27. DOI: <https://doi.org/10.2174/1567201820666230724151545>
9. Paolini L, Tran T, Corgnac S, Villemin JP, Wislez M, Arrondeau J, et al. Differential predictive value of resident memory CD8+T cell subpopulations in patients with non-small-cell lung cancer treated by immunotherapy. *The Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2024;12(12):e009440. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-009440>
10. Coulton A, Murai J, Qian D, Thakkar K, Lewis CE, Litchfield K. Using a pan-cancer atlas to investigate tumour associated macrophages as regulators of immunotherapy response. *Nature Communications*. 2024;15(1):5665. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49885-8>
11. Rakae M, Busund LR, Jamaly S, Paulsen EE, Richardsen E, Andersen S, et al. Prognostic Value of Macrophage Phenotypes in Resectable Non-Small Cell Lung Cancer Assessed by Multiplex Immunohistochemistry. *Neoplasia*. 2019;21(3):282–293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2019.01.005>
12. Lv T, Fan R, Wu J, Gong H, Gao X, Liu X, et al. Tumor-Associated Macrophages: Key Players in the Non-Small Cell Lung Cancer Tumor Microenvironment. *Cancer Medicine*. 2025;14(3):e70670. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.70670>
13. Sun J, Guo H, Nie Y, Zhou S, Zeng Y, Sun Y. Deciphering the heterogeneity dominated by tumor-associated macrophages for survival prognostication and prediction of immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *Scientific Reports*. 2024;14(1):9276. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-60132-4>
14. Wang C, Gao Q, Wu J, Lu M, Wang J, Ma T. The Biological Role of Macrophage in Lung and Its Implications in Lung Cancer Immunotherapy. *Advanced Biology* (Weinheim). 2024;8(6):e2400119. DOI: <https://doi.org/10.1002/adbi.202400119>
15. Wu Y, Yuan M, Wang C, Chen Y, Zhang Y, Zhang J. T lymphocyte cell: A pivotal player in lung cancer. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1102778. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1102778>. Erratum in: *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1166352. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1166352>
16. Pai JA, Hellmann MD, Sauter JL, Mattar M, Rizvi H, Woo HJ, et al. Lineage tracing reveals clonal progenitors and long-term persistence of tumor-specific T cells during immune checkpoint blockade. *Cancer Cell*. 2023;41(4):776–90.e7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.03.009>
17. Kraemer AI, Chong C, Huber F, Pak H, Stevenson BJ, Müller M, et al. The immunopeptidome landscape associated with T cell infiltration, inflammation and immune editing in lung cancer. *Nature Cancer*. 2023;4(5):608–28. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43018-023-00548-5>
18. Arora S, Singh P, Ahmad S, Ahmad T, Dohare R, Almatroodi SA, et al. Comprehensive Integrative Analysis Reveals the Association of KLF4 with Macrophage Infiltration and Polarization in Lung Cancer Microenvironment. *Cells*. 2021;10(8):2091. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10082091>

19. Liao L., Wang Y. X., Fan S. S., et al. The role and clinical significance of tumor-associated macrophages in the epithelial-mesenchymal transition of lung cancer. *Frontiers in Oncology*. 2025. №151 P. 571583. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1571583>
20. Sedighzadeh S. S., Khoshbin A. P., Razi S., et al. A narrative review of tumor-associated macrophages in lung cancer: regulation of macrophage polarization and therapeutic implications. *Translational Lung Cancer Research*. 2021. №10 (4). P.1889–1916. DOI: <http://dx.doi.org/10.21037/tlcr-20-1241>
21. Tang B., Wang Y., Xu W., et al. Macrophage xCT deficiency drives immune activation and boosts responses to immune checkpoint blockade in lung cancer. *Cancer Letters*. 2023. №554 P. 216021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.216021>
22. Zhou Y., Qian M., Li J., et al. The role of tumor-associated macrophages in lung cancer: From mechanism to small molecule therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024. №170 P. 116014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.116014>
23. Fujiwara Y., Yano H., Pan C., et al. Anticancer immune reaction and lymph node sinus macrophages: a review from human and animal studies. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. 2024 №64 (2). P71–78. DOI: <https://doi.org/10.3960/jslr.24017>
24. Li F., Zheng X., Wang X., et al. Macrophage polarization synergizes with oxaliplatin in lung cancer immunotherapy via enhanced tumor cell phagocytosis. *Translational Oncology*. 2021. №14 (11). P. 101202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101202>
25. Zhang S., Yu B., Sheng C., et al. SHISA3 Reprograms Tumor-Associated Macrophages Toward an Antitumoral Phenotype and Enhances Cancer Immunotherapy. *Advanced Science (Weinheim)*. 2024. №11 (36). P. e2403019. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202403019>
26. Mildner F., Soppor S., Amann A., et al. Systematic review: Soluble immunological biomarkers in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2020. №153 P. 102948. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.102948>
27. Zhao L., Zhang H., Liu X., et al. TGR5 deficiency activates antitumor immunity in non-small cell lung cancer via restraining M2 macrophage polarization. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2022. №12 (2). P. 787–800. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.07.011>
28. Cao J., Liu C. Mechanistic studies of tumor-associated macrophage immunotherapy. *Frontiers in Immunology*. 2024. №15 P. 1476565. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1476565>
19. Liao L., Wang YX, Fan SS, Hu YY, Wang XC, Zhang X. The role and clinical significance of tumor-associated macrophages in the epithelial-mesenchymal transition of lung cancer. *Frontiers in Oncology*. 2025;15:1571583. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2025.1571583>
20. Sedighzadeh SS, Khoshbin AP, Razi S, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N. A narrative review of tumor-associated macrophages in lung cancer: regulation of macrophage polarization and therapeutic implications. *Translational Lung Cancer Research*. 2021;10(4):1889–916. DOI: <http://dx.doi.org/10.21037/tlcr-20-1241>
21. Tang B, Wang Y, Xu W, Zhu J, Weng Q, Chen W, et al. Macrophage xCT deficiency drives immune activation and boosts responses to immune checkpoint blockade in lung cancer. *Cancer Letters*. 2023;554:216021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.216021>
22. Zhou Y, Qian M, Li J, Ruan L, Wang Y, Cai C, et al. The role of tumor-associated macrophages in lung cancer: From mechanism to small molecule therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024;170:116014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.116014>
23. Fujiwara Y, Yano H, Pan C, Shiota T, Komohara Y. Anticancer immune reaction and lymph node sinus macrophages: a review from human and animal studies. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*. 2024;64(2):71–8. DOI: <https://doi.org/10.3960/jslr.24017>
24. Li F, Zheng X, Wang X, Xu J, Zhang Q. Macrophage polarization synergizes with oxaliplatin in lung cancer immunotherapy via enhanced tumor cell phagocytosis. *Translational Oncology*. 2021;14(11):101202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101202>
25. Zhang S, Yu B, Sheng C, Yao C, Liu Y, Wang J, et al. SHISA3 Reprograms Tumor-Associated Macrophages Toward an Antitumoral Phenotype and Enhances Cancer Immunotherapy. *Advanced Science (Weinheim)*. 2024;11(36):e2403019. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202403019>
26. Mildner F, Soppor S, Amann A, Pircher A, Pall G, Köck S, et al. Systematic review: Soluble immunological biomarkers in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2020;153:102948. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.102948>
27. Zhao L, Zhang H, Liu X, Xue S, Chen D, Zou J, et al. TGR5 deficiency activates antitumor immunity in non-small cell lung cancer via restraining M2 macrophage polarization. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2022;12(2):787–800. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.07.011>
28. Cao J, Liu C. Mechanistic studies of tumor-associated macrophage immunotherapy. *Frontiers in Immunology*. 2024;15:1476565. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1476565>

Обмеження дослідження

Автори свідомо зазначають, що представлене дослідження має низку обмежень, зумовлених його дизайном та умовами проведення. Зокрема, ретроспективний та одноцентровий характер не дозволяє робити причинно-наслідкові висновки та не виключає можливість селекційного зміщення або впливу залишкових змішувальних чинників, попри застосування багатовимірних регресійних аналізів та класифікації. Розмір вибірки ($N = 86$) та її специфічний склад (переважання чоловіків, плоскоклітинна гістологія) обмежують узагальнюваність результатів, зважаючи на потенційні регіональні відмінності у практиках надання онкологічної допомоги в Україні.

Крім того, використання лише чотирьох маркерів імунного мікрооточення ($CD8^+$, $STAT6^+$, $CD163^+$ та $CD68^+$) не враховує участі інших клітинних популяцій, таких як дендритні клітини, Т-клітини пам'яті чи фібробласти, що також можуть впливати на відповідь на імунотерапію. Просторові характеристики інфільтрації та функціональні властивості імунних клітин не оцінювалися, що також може обмежувати інтерпретацію результатів.

Для зниження впливу деяких з цих обмежень у дослідженні було стандартизовано методику імуногістохімічного забарвлення, проведено аналіз чутливості, а також використано об'єктивні кількісні критерії класифікації фенотипів. Водночас результати потребують валідації в межах проспективних мультицентрових досліджень з ширшим охопленням пацієнтів та дотриманням принципів Належної клінічної практики (Good Clinical Practice, GCP).

Limitations of the study

The authors acknowledge that this study has several limitations related to its design and implementation. Specifically, its retrospective and single-center nature precludes causal inferences and does not eliminate the possibility of selection bias or residual confounding, despite the use of multivariable regression analysis and clustering methods. The sample size ($N = 86$) and its specific composition (predominantly male patients and squamous cell carcinoma histology) limit the generalizability of the findings, considering potential regional differences in oncology care practices in Ukraine.

Moreover, the use of only four immune microenvironment markers ($CD8^+$, $STAT6^+$, $CD163^+$, and $CD68^+$) does not account for the role of other cellular populations such as dendritic cells, memory T cells, or fibroblasts, which may also influence the response to immunotherapy. Spatial characteristics of immune cell infiltration and functional cell properties were not assessed, which may further constrain the interpretation of results.

To mitigate some of these limitations, the study employed standardized immunohistochemical staining procedures, sensitivity analyses, and objective quantitative criteria for phenotype classification. Nevertheless, the findings require validation in prospective multicenter studies with broader patient representation and adherence to Good Clinical Practice (GCP) guidelines.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується дослідити зв'язок між рівнем експресії білка S100 та відповіддю на імунотерапію у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень.

Prospects for further research

Future plans include investigating the correlation between the expression level of the S100 protein and the response to immunotherapy in patients with metastatic non-small cell lung cancer.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису засвідчують відсутність конфлікту інтересів.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що медичні дані були зібрані з первинної медичної документації та проаналізовані ретроспективно. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Дослідження схвалене Комісією з біоетики з експериментальних і клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Державного вищого навчального закладу «Сумський державний університет» (протокол № 3/12 від 17 грудня 2024 року). Усі пацієнти, які були живими на початок дослідження, надали письмову інформовану згоду.

Ethics statement

The authors of the manuscript hereby confirm that medical data were collected from primary medical documentation and analyzed retrospectively. The study was conducted in accordance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association on ethical principles for medical research involving human subjects, the European Directive 86/609 on the participation of humans in biomedical research, as well as Order No. 690 of the Ministry of Health of Ukraine dated September 23, 2009. The study was approved by the Bioethics Committee for Experimental and Clinical Research of the Educational and Scientific Medical Institute of State Higher Educational Institution «Sumy State University» of the Ministry of Health of Ukraine (Protocol No. 3/12, December 17, 2024). All patients who were alive at the beginning of the study provided written informed consent.

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі підготовки матеріалу було застосовано ChatGPT для лінгвістичної перевірки українського тексту та його перекладу англійською мовою. Усі інші етапи роботи виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript hereby confirm that ChatGPT was used during the preparation of the manuscript for linguistic proofreading of the Ukrainian text and its translation into English. All other stages of the work were carried out without the involvement of generative AI, exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені клініко-патологічні та молекулярні характеристики пацієнтів та їх пухлин. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The authors of the manuscript confirm that the study is based on the results of their own clinical research, which were systematized and analyzed by the authors. The primary data include generalized clinical, pathological, and molecular characteristics of the patients and their tumors. All materials are archived by the research team and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, subject to confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Робота є фрагментом Рамкової програми Європейського Союзу з наукових досліджень та інновацій «Горизонт 2020», що виконується у Навчально-науковому медичному інституті Державного вищого навчального закладу «Сумський державний університет» Міністерства освіти і науки України «Роль системи репарації ДНК у патогенезі та імуногенності раку легень», номер державної реєстрації: 0123U102755, термін виконання: 2023–2024 рр.

Funding information

This work is a part of the European Union's Horizon 2020 Framework Programme for Research and Innovation, carried out at the Educational and Scientific Medical Institute of State Higher Educational Institution «Sumy State University» under the Ministry of Education and Science of Ukraine, titled «The Role of the DNA Repair System in the Pathogenesis and Immunogenicity of Lung Cancer», state registration number: 0123U102755, implementation period: 2023–2024.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Москаленко Юлія Василівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри онкології та радіології Державного вищого навчального закладу «Сумський державний університет» Міністерства освіти і науки України; вул. Привокзальна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40022;

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Moskalenko Yuliia Vasylivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of Oncology and Radiology of the State Higher Educational Institution «Sumy State University» of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 31 Pryvokzalna Str., Sumy, Ukraine, 40022;

е-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua
моб.: +38 (097) 615-73-96

Внесок автора: концептуалізація, методологія, збір інформації, написання рукопису, фінансування публікації, статистична обробка даних, візуалізація, остаточна перевірка рукопису.

Москаленко Роман Андрійович – доктор медичних наук, професор кафедри патологічної анатомії Державного вищого навчального закладу «Сумський державний університет» Міністерства освіти і науки України; вул. Привокзальна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40022;

е-mail: r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua
моб.: +38 (097) 980-27-31

Внесок автора: виконання імуногістохімічного дослідження зразків пухлинної тканини, остаточна перевірка рукопису.

е-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua
tel.: +38 (097) 615-73-96

Author's contribution: conceptualization, methodology, information collection, manuscript preparation, funding acquisition, statistical data processing, visualization, and final review of the manuscript.

Moskalenko Roman Andriyovych – Doctor of Medical Sciences, Professor of Department of Pathology of the State Higher Educational Institution «Sumy State University» of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 31 Pryvokzalna Str., Sumy, Ukraine, 40022;

е-mail: r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua
tel.: +38 (097) 980-27-31

Author's contribution: immunohistochemical analysis of tumor tissue samples; final manuscript review.

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 05.09.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 06.10.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-02>
УДК: 616.994.63-005.1-092.9-036.8



Вміст фактора росту ендотелію судин у сироватці крові та рівень експресії молекулярних маркерів у пухлинах хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози в динаміці лікування

Білий О.М.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6267-0331>, e-mail: abely@ukr.net
Мітряєва Н.А.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7641-3133>, e-mail: radoncol_lab@ukr.net
Гребіник Л.В.¹, <https://orcid.org/0000-0001-5010-5407>, e-mail: radoncol_lab@ukr.net
Слободянук О.В.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-7644-5941>, e-mail: olgaslobodjanuk@gmail.com
Пилипенко С.О.¹, <https://orcid.org/0000-0002-9898-8699>, e-mail: doctorpilipenko@gmail.com

¹Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Serum vascular endothelial growth factor levels and tumor molecular marker expression in patients with secondary-edematous breast cancer during treatment dynamics

Bilyi O.M.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6267-0331>, e-mail: abely@ukr.net
Mitriaieva N.A.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7641-3133>, e-mail: radoncol_lab@ukr.net
Grebinyk L.V.¹, <https://orcid.org/0000-0001-5010-5407>, e-mail: radoncol_lab@ukr.net
Slobodianiuk O.V.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-7644-5941>, e-mail: olgaslobodjanuk@gmail.com
Pylypenko S.O.¹, <https://orcid.org/0000-0002-9898-8699>, e-mail: doctorpilipenko@gmail.com

¹State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the
National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

вторинно-набряковий рак грудної залози, судинний ендотеліальний фактор росту, рецептори стероїдних гормонів, Her-2/neu, Ki-67, агресивність пухлини, прогностичний маркер.

Для кореспонденції:

Білий Олександр Миколайович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України»;
вул. Григорія Сковороди, буд. 82,
м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: abely@ukr.net

© Білий О.М., Мітряєва Н.А.,
Гребіник Л.В., Слободянук О.В.,
Пилипенко С.О., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Вторинно-набряковий рак грудної залози характеризується високою агресивністю та відсутністю чітких прогностичних маркерів. Дослідження ролі судинного ендотеліального фактору росту, у взаємозв'язку з експресією рецепторів стероїдних гормонів, рецептор епідермального фактору росту людини 2 та Ki-67 у пухлинах дозволяє оцінити агресивність пухлинного процесу та оптимізувати лікування.

Мета роботи – вивчити взаємозв'язок вмісту судинного ендотеліального фактору росту у сироватці крові та рівня експресії молекулярних маркерів у пухлинах хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози у динаміці лікування та визначити прогностичні чинники перебігу захворювання.

Матеріали та методи. Обстежено 54 хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози T4bN0-2M0, яким проведено комплексне лікування: неoad'ювантна поліхіміотерапія (АС×4-D×4 або АС×4-P×12), хірургічне втручання, променева терапія. Методом імуноферментного аналізу визначали рівень судинного ендотеліального фактору росту у сироватці крові до та після лікування, а також експресію рецепторів естрогену, рецепторів прогестерону, рецептора епідермального фактору росту людини 2 та Ki-67 у пухлині імуногістохімічним методом.

Результати. Встановлено вірогідно підвищений рівень судинного ендотеліального фактору росту у пацієнтів із високочастотною носоглотковою рентгенівською гамма-зайомкою порівняно з контрольною групою. Підвищений судинний ендотеліальний фактор росту корелював із високим ступенем злоякісності пухлини, гіперекспресією Ki-67, негативним статусом рецепторів стероїдних гормонів та рецептора епідермального фактору росту людини 2-позитивним статусом. Після лікування рівень судинного ендотеліального фактору росту знижувався у хворих із регресією пухлини, тоді як у пацієнтів із прогресією судинного ендотеліального фактору росту залишався стабільно високим.

Висновки. Рівень судинного ендотеліального фактору росту у сироватці крові є важливим маркером агресивності пухлини та відповіді на лікування хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози. Моніторинг судинного ендотеліального

фактору росту разом з визначенням молекулярних маркерів у пухлині може використовуватися для прогнозування перебігу хвороби та вибору тактики лікування.

Для цитування:

Білий О.М., Мітряєва Н.А., Гребіник Л.В., Слободянюк О.В., Пилипенко С.О. Вміст фактора росту ендотелію судин у сироватці крові та рівень експресії молекулярних маркерів у пухлинах хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози в динаміці лікування. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 690–704. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-02>

Key words:

secondary-edematous breast cancer, Vascular Endothelial Growth Factor, steroid hormone receptors, Her-2/neu, Ki-67, tumor aggressiveness, prognostic marker.

For correspondence:

Bilyi Oleksandr Mykolaiovych
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: abely@ukr.net

© Bilyi O.M., Mitriaieva N.A.,
Grebinyk L.V., Slobodianiuk O.V.,
Pylypenko S.O., 2025

ABSTRACT

Background. Secondary-edematous breast cancer is characterized by high aggressiveness and a lack of clear prognostic markers. Studying the role of Vascular Endothelial Growth Factor in relation to the expression of steroid hormone receptors, HER2/neu, and Ki-67 in tumors allows assessment of the tumor's aggressiveness and helps optimize treatment.

Purpose – to investigate the relationship between serum Vascular Endothelial Growth Factor levels and the expression of molecular markers in tumors of secondary-edematous breast cancer patients during treatment dynamics, and to determine the prognostic factors of the disease course.

Materials and Methods. Fifty-four Secondary Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer patients with T4bN0-2M0 were examined and underwent comprehensive treatment: neoadjuvant polychemotherapy (AC×4-D×4 or AC×4-P×12), surgical intervention, and radiation therapy. Vascular Endothelial Growth Factor levels in serum were determined before and after treatment by enzyme-linked immunosorbent assay, and ER, PR, HER2/neu, and Ki-67 expression in the tumor was determined immunohistochemically.

Results. A significantly increased serum Vascular Endothelial Growth Factor level was found in secondary-edematous breast cancer patients compared to the control group. Elevated Vascular Endothelial Growth Factor correlated with a higher tumor grade, Ki-67 overexpression, negative steroid hormone receptor status, and Human Epidermal Growth Factor Receptor 2. After treatment, Vascular Endothelial Growth Factor levels decreased in patients with tumor regression, while in those with disease progression, VEGF remained consistently high.

Conclusions. Serum Vascular Endothelial Growth Factor is an important marker of tumor aggressiveness and treatment response in secondary-edematous breast cancer. Monitoring Vascular Endothelial Growth Factor alongside tumor molecular markers can be used to predict disease progression and select treatment strategies.

For citation:

Bilyi OM, Mitriaieva NA, Grebinyk LV, Slobodianiuk OV, Pylypenko SO. Serum vascular endothelial growth factor levels and tumor molecular marker expression in patients with secondary-edematous breast cancer during treatment dynamics. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):690–704. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-02>

ВСТУП

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я в 2021 р. у світі зареєстровано більше 1,3 млн нових хворих на рак грудної залози (РГЗ). У Франції та Швейцарії п'ятирічна виживаність за всіма стадіями становить близько 80%. Також зазначено, що рівень захворюваності на РГЗ в Україні майже в 2 рази нижче, ніж у країнах ЄС, але різниці у рівні смертності практично немає. В Україні в 2020 р. захворіло понад 20 тис. жінок, питома вага виявлення РГЗ на III і IV стадії в Україні становить 30% [1].

Вторинно-набряковий рак грудної залози (ВНРГЗ) досить рідкісна патологія, чим певною мірою пояснюється мала кількість рандомізованих досліджень з даної проблеми. Недостатньо чітко визначені і фактори прогнозу безрецидивної і загальної виживаності хворих на ВНРГЗ, знання яких необхідне для вироблення стратегії лікування [2].

Нааявність рецепторів естрогенів (РЕ) в первинній пухлині свідчить про її потенційну чутливість до лікувальних заходів, спрямованих на видалення джерела

INTRODUCTION

According to the World Health Organization, more than 1.3 million new cases of breast cancer (BC) were registered worldwide in 2021. In France and Switzerland, the five-year survival rate across all stages is about 80%. It is also noted that the incidence of BC in Ukraine is almost half that in EU countries, but the mortality rate is practically the same. In 2020, more than 20,000 women in Ukraine were diagnosed with BC, with 30% of cases identified at stages III and IV [1].

The rarity of secondary-edematous breast cancer (SEBC) is partly explained by the limited number of randomized studies on this issue. The prognostic factors for disease-free and overall survival in SEBC patients are not clearly defined, yet such knowledge is essential for developing treatment strategies [2].

The presence of estrogen receptors (ER) in the primary tumor indicates its potential sensitivity to treatments aimed at removing estrogen sources from the body or counteracting their effects (oophorectomy, antiestrogens, aromatase inhibitors) [3]. Progesterone

естрогенів з організму або на протидію їх ефектам (оваріоектомія, використання антиестрогенів, інгібіторів ароматази) [3]. Рецептори прогестерону (РП), як перша ланка реакції клітини на прогестини, є молекулярними маркерами раку грудної залози. Синтез прогестерону у клітинах раку індукуюється естрогенами, тому наявність РП може свідчити про функціональну активність цих рецепторів [4].

У разі часточкового раку клітини містять рецептори стероїдних гормонів у 60–80% спостережень, при цьому експресія рецепторів естрогенів і прогестерону частіше спостерігається у високодиференційованих варіантах. Рецепторопозитивні пухлини мають більш сприятливий перебіг, кращу безрецидивну і загальну виживаність [5].

Згідно з сучасними уявленнями, в основі злоякісної трансформації клітин лежить активація одиничних або множинних клітинних онкогенів або генів-супресорів. Вона спостерігається у 30% карцином людини і може бути виявлена імуногістохімічно. Одним з найбільш важливих онкопротеїнів, незалежним прогностичним чинником є c-erbB-2 (Her 2/neu), який вперше виявлений в нейробластомах щурів. Протоонкоген Her2/neu локалізується в 17q21 хромосомі і кодує 185kD трансмембранний глікопротеїн, який має активність тирозинкінази рецептора фактора росту. Це відіграє важливу роль у прогресії раку, оскільки Her2/neu має біологічну активність рецептора фактора росту у диференціюванні клітин, адгезії і рухливості. Ампліфікація цього онкогену може бути виявлена за допомогою гібридизації *in situ*, а експресія кодованого ним білка 185kD – імуногістохімічно [6].

Активація Her2/neu сприяє більш швидкому і частому виникненню рецидиву, появі метастазів, що призводить до несприятливого результату захворювання. Багато авторів відзначають важливість передбачення значення гіперекспресії онкопротеїну Her2/neu у порівнянні з основними гістологічними показниками раку грудної залози, такими як розмір пухлини, наявність метастазів у аксиллярних лімфовузлах, Grade, гормональний статус. Дослідження з визначенням ампліфікації цього онкогена з допомогою гібридизації *in situ* показали, що при її відсутності 10-річна виживаність хворих на рак грудної залози становила близько 85%, а при наявності такої вона знижувалася до 40% ($p < 0,0001$) [7]. Аналогічні дані отримані при імуногістохімічному визначенні гіперекспресії Her2/neu: загальна 5-річна виживаність хворих на рак грудної залози при Her 2/neu позитивних новоутвореннях склала 58%, негативних – 77% ($p < 0,004$), при наявності метастазів ці показники відповідно дорівнювали 31 та 61% [8]. Є відомості про те, що гіперекспресія Her2/neu у клітинах карцином грудної залози поєднується з резистентністю до хіміотерапевтичних препаратів, а також до тамоксифену [9].

Велике значення надається вивченню судинного ендотеліального фактора росту (VEGF), який індукуює проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин, інгібуючи при цьому апоптоз [10]. Високий рівень VEGF асоціюється з погіршенням показників безрецидивної і загальної виживаності при РГЗ. Перспективними вважаються дослідження рецепторів до VEGF (Fit-1 і Flk-1) у зв'язку з розробкою блокуючих їх препаратів і, таким чином, перешкодженню процесам ангіогенезу та неоваскуляризації пухлинного вузла [11].

receptors (PR), as the first step in the cell's response to progestins, serve as a molecular marker of breast cancer. Progesterone synthesis in cancer cells is induced by estrogens; therefore, the presence of PR may indicate the functional activity of these receptors [4].

In lobular carcinoma, cells contain steroid hormone receptors in 60–80% of cases, with ER and PR expression being more common in well-differentiated tumors. Receptor-positive tumors have a more favorable course, better disease-free survival, and overall survival [5].

According to modern concepts, the basis of malignant cell transformation is the activation of single or multiple cellular oncogenes or tumor suppressor genes. This is observed in 30% of human carcinomas and can be detected immunohistochemically. One of the most important oncoproteins, and an independent prognostic factor, is c-erbB-2 (Her2/neu), first identified in rat neuroblastomas. The Her2/neu proto-oncogene is located on chromosome 17q21 and encodes a 185kD transmembrane glycoprotein with receptor tyrosine kinase activity, which plays a crucial role in cancer progression, as Her2/neu has growth factor receptor activity in cell differentiation, adhesion, and motility. Amplification of this oncogene can be detected by *in situ* hybridization, and the expression of the encoded 185kD protein can be detected immunohistochemically [6].

Activation of Her2/neu contributes to faster and more frequent recurrence and the appearance of metastases, leading to a poorer disease outcome. Many authors emphasize the importance of predicting the value of Her2/neu oncoprotein hyperexpression compared to major histological factors of breast cancer, such as tumor size, presence of axillary lymph node metastases, tumor grade, and hormonal status. Studies using *in situ* hybridization to determine the amplification of this oncogene have shown that, in its absence, the 10-year survival rate for breast cancer patients is approximately 85%, whereas with amplification, it drops to 40% ($p < 0.0001$) [7]. Similar data were obtained with immunohistochemical detection of Her2/neu hyperexpression: overall five-year survival for Her2/neu-positive breast cancer patients was 58% compared to 77% for Her2/neu-negative tumors ($p < 0.004$); with metastases present, these figures were 31% and 61%, respectively [8]. There is evidence that Her2/neu hyperexpression in breast carcinoma cells is associated with resistance to chemotherapeutic agents and tamoxifen [9].

Vascular endothelial growth factor (VEGF), which induces proliferation and migration of endothelial cells while inhibiting apoptosis, is of great significance [10]. High VEGF levels are associated with poorer disease-free and overall survival in BC. Studies of VEGF receptors (Fit-1 and Flk-1) are considered promising because of the development of drugs that block them, thereby inhibiting angiogenesis and neovascularization of the tumor node [11].

Changes in a single protein often control multiple changes in cell physiology. Estrogen and progesterone receptors, as well as HER2/neu, confer independence from growth signals and enhance tumor invasiveness and angiogenic activity by synthesizing cathepsin D (a protease that degrades the extracellular matrix) and VEGF. Activation of ER also enhances the synthesis of Bcl-2, an apoptosis inhibitor. Mutations in p53 render cancer cells insensitive to signals that block cell division

Часто зміни в одному білку контролюють кілька змін клітинної фізіології. Рецептори естрогену та прогестерону, HER2/neu забезпечують незалежність від ростових сигналів, посилюють здатність до інвазії і ангіогенну активність пухлини за рахунок синтезу катепсину D (протеаза, що сприяє розщепленню позаклітинного матриксу) і VEGF. Також активація PE посилює синтез Bcl-2, інгібітора апоптозу. Мутації p53 роблять пухлинні клітини нечутливими до сигналів, що блокують поділ та апоптоз клітин, сприяють посиленню ангіогенезу (активують синтез VEGF). Тільки підсумовані дані про статус ключових білків, що беруть участь у канцерогенезі, дають уявлення про злоякісний потенціал кожної окремої пухлини [12, 13].

Мета роботи – дослідити вміст VEGF у сироватці крові у взаємозв'язку з рівнем експресії рецепторів естрогенів, прогестерону, онкомаркерів Her-2/neu, Ki-67 в пухлині хворих на ВНРГЗ у динаміці неoad'ювантного лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 54 хворих на ВНРГЗ T4bN0-2M0 стадій, віком 37–76 р. (медіана – 57 років), які лікувались в Державній установі «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» в період з 01.2015 р. до 08.2017 р., яким було проведено від 6 до 8 циклів НПХТ за схемою AC×4 – D×4, або AC×4 – P×12, хірургічне лікування в радикальному обсязі, дистанційну променеву терапію при наявності уражених лімфатичних вузлів у плані послідовного комплексного лікування. При HER+ випадках додавали до лікування таргетну терапію. Ці хворі склали основну групу. В групу порівняння увійшли 10 пацієнтів з фіброаденомами грудних залоз.

В результаті проведеного аналізу протоковий рак діагностовано у 41 хворої (76%), часточковий у 13 (24%). За критерієм G у 50 хворих діагностовано G3, у 4 хворих – G2, тобто переважали пухлини G3, що свідчить про більш агресивний характер цієї групи пухлин. Збільшення регіонарних лімфовузлів було встановлено у 38 хворих (70,4%).

Для оцінки агресивності пухлини визначали рівні VEGF, PE, PП, Ki-67, Her-2/neu. Рівень VEGF визначали у сироватці крові методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням стандартних наборів реактивів «VEGF (Vascular endothelial growth factor) ELISA Kit» фірми «Elabscience Biotechnology Inc. USA». Забір крові проводили до та після лікування. Експресію рецепторів естрогенів, прогестерону, онкобілка HER2/neu та антигену Ki-67 в пухлині виявляли імуногістохімічним методом з використанням одноетапного авідин-біотинового методу (з високотемпературним демаскуванням антигену). Використовували антитіла до PE – RTU-ER-6F1 («Novocastra»); до PП – RTU-PGR-312 («Novocastra»); антитіла до антигену Ki-67 RTU-Ki-67-MM1; поліклональні кролячі антитіла до онкобілка c-erbB2 (HER-2) – A0485 («DAKO»). Антитіла розводили розчином для розведення антитіл – S0809 («DAKO»).

Хворим основної групи проводили від 6 до 8 циклів НПХТ за схемою AC×4 – D×4, або AC×4 – P×12.

Після 4 циклів НПХТ проводилося контрольне КТ-дослідження органів грудної, черевної порожнини, малого

and apoptosis, contributing to increased angiogenesis (by activating VEGF synthesis). Only a comprehensive assessment of key protein status involved in carcinogenesis can provide an understanding of the malignant potential of each individual tumor [12, 13].

Objective – to investigate serum VEGF levels in relation to the expression levels of estrogen and progesterone receptors, Her-2/neu, and Ki-67 in the tumors of patients with secondary-edematous breast cancer during the course of neoadjuvant therapy.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

A total of 54 patients with SEBC, stages T4bN0-2M0, aged 37 to 76 years (median age – 57 years), were examined at the State Institution «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» from January 2015 to August 2017. These patients underwent 6 to 8 cycles of neoadjuvant chemotherapy (NAC) according to the AC×4–D×4 or AC×4–P×12 regimens, radical surgical treatment, and external beam radiation therapy to regional lymph nodes as part of sequential multimodal therapy. In HER+ cases, targeted therapy was added. These patients formed the main group. The comparison group included 10 patients with breast fibroadenomas.

Among the cases analyzed, ductal carcinoma was diagnosed in 41 patients (76%), and lobular carcinoma in 13 patients (24%). Based on the G classification, 50 patients had G3 tumors and 4 patients had G2 tumors, indicating a predominance of G3 tumors, which are considered more aggressive. Regional lymph node enlargement was detected in 38 patients (70.4%).

To assess tumor aggressiveness, levels of VEGF, ER, PR, Ki-67, and Her-2/neu were determined. Serum VEGF levels were measured by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the standard VEGF ELISA Kit (Elabscience Biotechnology Inc. USA). Blood samples were collected before and after treatment. The expression of estrogen receptors, progesterone receptors, Her-2/neu oncoprotein, and Ki-67 antigen in the tumor was determined immunohistochemically using the one-step avidin-biotin technique with high-temperature antigen retrieval. The following antibodies were used: RTU-ER-6F1 «Novocastra» for ER, RTU-PGR-312 «Novocastra» for PR, RTU-Ki-67-MM1 for Ki-67, and polyclonal rabbit antibodies for the c-erbB2 (HER-2) oncoprotein – A0485 (DAKO). Antibodies were diluted with antibody diluent solution – S0809 «DAKO».

Patients in the main group received 6 to 8 cycles of NAC according to the AC×4–D×4 or AC×4–P×12 regimens. After 4 cycles of NAC, a control CT scan of the chest, abdomen, and pelvis was performed to assess tumor regression and rule out distant metastases. Tumor spread and the extent

таза з метою визначення регресії пухлини та відсутності віддалених метастазів. Поширення пухлини та зону набряку в грудній залозі до та після НПХТ розраховували за даними КТ або МРТ у динаміці лікування з розрахунком коефіцієнта напруги індексу поширеності пухлини та зони набряку на тлі неoad'ювантного лікування. Ефективність лікування оцінювали за регресією пухлини, яку визначали за класифікацією RECIST 1.1 (2008) (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors).

Всі дослідження виконувалися під контролем Комітету з біоетики і деонтології інституту. Обстежені пацієнти були проінформовані про дослідження і дали згоду на його проведення.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою пакета статистичних програм для ПК «Statistica 6.0» при використанні параметричних (Ст'юдента–Фішера) та непараметричних методів для малих вибірок, дані подавали як медіану, мінімальне і максимальне значення та порівнювали їх за допомогою критерію Вілкоксона при порівнянні парних вибірок, розходження вважали статистично значущим при $p < 0,05$, кореляційний аналіз проводили за методом Спірмена.

of edema in the breast were assessed before and after NAC based on CT or MRI findings, with calculation of the tumor spread index and edema index during neoadjuvant treatment. Treatment efficacy was assessed by tumor regression according to the RECIST 1.1 (2008) (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors).

All studies were conducted under the supervision of the Institute's Ethics and Deontology Committee. All patients were informed about the study and provided their consent to participate.

Statistical analysis of the data was performed using the «Statistica 6.0» software package for PC. Both parametric (Student-Fisher) and non-parametric tests were used for small samples. Data were presented as median, minimum, and maximum values, and compared using the Wilcoxon test for paired samples. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Correlation analysis was performed using Spearman's method.

РЕЗУЛЬТАТИ

Рецептори стероїдних гормонів досліджено у всіх хворих. Отримані дані представлені у таблицях 1 та 2.

RESULTS

Steroid hormone receptors were studied in all patients. The obtained data are presented in Tables 1 and 2.

Таблиця 1. Рівень експресії РЕ у пухлині хворих на ВНПГЗ
Table 1. Level of ER expression in the tumor in patients with SEBC

Рецепторний статус Receptor status	Кількість хворих Number of patients	%
РЕ-	23	42,6
РЕ+	5	9,2
РЕ++	4	7,4
РЕ+++	22	40,8

Таблиця 2. Рівень експресії РП у пухлині хворих на ВНПГЗ
Table 2. Level of PR expression in the tumor in patients with SEBC

Рецепторний статус Receptor status	Кількість хворих Number of patients	%
РП-	29	53,7
РП+	6	11,2
РП++	3	5,5
РП+++	16	29,6

З результатів, наведених у таблицях, видно, що переважна кількість пацієнток були рецептор-негативними.

Рівень експресії HER2/neu у пухлині представлено в таблиці 3.

From the results presented in the tables, it is evident that the majority of patients were receptor-negative.

The level of HER2/neu expression in the tumor is presented in Table 3.

Таблиця 3. Рівень експресії HER2/neu у хворих на ВНПГЗ
Table 3. Level of HER2/neu expression in patients with SEBC

Рецепторний статус Receptor status	Кількість хворих Number of patients	%
HER2/neu-	36	66,7
HER2/neu+	14	25,9
HER2/neu++	3	5,6
HER2/neu+++	1	1,8

Рівень HER2/neu в досліджуваній групі був або негативний або переважно +, що за міжнародними рекомендаціями дорівнював негативному. У 4-х хворих виявлено гіперекспресію HER2/new.

Також всім пацієнткам досліджено рівень Ki-67 у пухлині, дані наведено в таблиці 4.

The level of HER2/neu in the study group was either negative or predominantly +, which, according to international guidelines, is considered negative. Hyperexpression of HER2/neu was detected in 4 patients.

In addition, all patients had their Ki-67 levels in the tumor assessed, which is presented in Table 4.

Таблиця 4. Рівень експресії Ki-67 в пухлині хворих на ВНРГЗ
Table 4. Level of Ki-67 expression in the tumor in patients with SEBC

Рівень Ki-67 Ki-67 level	Кількість хворих Number of patients	%
< 10%	3	5,6
10–25%	14	25,9
25–60%	20	37,0
> 60%	17	31,5

За даними таблиці 4 встановлено тенденцію до збільшення рівня Ki-67 в досліджуваній групі.

Загалом тричі негативний ВНРГЗ був встановлений за даними імуногістохімічного дослідження у 13 хворих (24,1%). Також ці дані корелювали з рівнем експресії VEGF. Імунофенотипово люмінальний тип А ВНРГЗ виявлено у 30 хворих, люмінальний тип В – у 11, базальноклітинний – у 13. З урахуванням переважання рецептор-позитивних пухлин закономірний початок регресії у більшості хворих у процесі першої лінії НПХТ.

Вміст VEGF у сироватці крові у 54 хворих на ВНРГЗ до початку комплексного лікування був вищим у 3,5 разу, ніж у групі порівняння ($p < 0,05$) і складав від 267 до 541 пг/мл (медіана 443 пг/мл). У групі порівняння рівень показників VEGF становив від 80,4 до 178,6 пг/мл (медіана 126,9 пг/мл). Дані, отримані до початку комплексного лікування, в залежності від експресії молекулярних маркерів в пухлині представлені у таблиці 5.

Вірогідно значимих взаємозв'язків між вмістом VEGF в сироватці крові хворих на ВНРГЗ та віком (37–76 років), менопаузальним статусом, локалізацією, розміром пухлини не виявлено.

According to Table 4, a trend towards increased Ki-67 levels was observed in the study group.

Overall, triple-negative SEBC was identified by immunohistochemical analysis in 13 patients (24.1%). These data also correlated with VEGF expression levels. Immunophenotypically, luminal type A SEBC was detected in 30 patients, luminal type B in 11 patients, and basal-like type in 13 patients. Given the predominance of receptor-positive tumors, regression was generally observed in most patients during the first-line NAC.

The serum VEGF levels in 54 patients with SEBC prior to the start of comprehensive treatment were 3.5 times higher than in the comparison group ($p < 0.05$) and ranged from 267 to 541 pg/mL (median 443 pg/mL). In the comparison group, VEGF levels ranged from 80.4 to 178.6 pg/mL (median 126.9 pg/mL). The data obtained before comprehensive treatment, depending on the expression of molecular markers in the tumor, are presented in Table 5.

No statistically significant correlations were found between serum VEGF levels in SEBC patients and age (37–76 years), menopausal status, tumor location, or tumor size.

Таблиця 5. Вміст VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ IIIB стадії в залежності від експресії молекулярних маркерів у пухлині
Table 5. Serum VEGF levels in patients with stage IIIB SEBC depending on the expression of molecular markers in the tumor

VEGF, пг/мл / VEGF, pg/mL				
Група / Group	n	Медіана / Median	Min	Max
Порівняння / Comparison	10	126,9	80,4	178,6
Хворі на ВНРГЗ / Patients with SEBC	54	443 *	267	541
Ступінь злоякісності / Tumor grade				
G2	4	321 *	267	359
G3	50	496 *#	396	541
Ki-67				
< 25%	17	312 *	267	360
> 25%	37	492 *#	396	541
Статус PE / ER status				
рецептор-позитивний / receptor-positive	31	329 *	267	386
рецептор-негативний / receptor-negative	23	496 * #	375	541
Статус РП / PR status				
рецептор-позитивний / receptor-positive	25	331 *	280	390
рецептор-негативний / receptor-negative	29	493 * #	396	541

Продовження таблиці 5

Статус Her-2/neu / Her-2/neu status				
0-1+	36	328 *	267	385
2/3P3+	18	498 * #	416	541

Примітки / Notes:

* – значущість відмінностей відносно групи порівняння, $p < 0,05$;

– значущість відмінностей у групах відносно розподілу за експресією молекулярних маркерів в пухлині, $p < 0,05$.

* – significance of differences compared to the comparison group, $p < 0.05$;

– significance of differences within groups relative to the distribution of molecular marker expression in the tumor, $p < 0.05$.

Встановлено значущий зв'язок між підвищенням рівня VEGF та ступенем злоякісності пухлини. При високому ступені злоякісності (G3), який відмічено у 92% пацієнтів, VEGF був вище в 1,54 разу порівняно з низьким ступенем (G2), що виявився у 8% хворих ($r = 0,48$, $p < 0,05$).

Як видно з таблиці 5, рівень VEGF корелював з показниками експресії маркера Ki-67, який характеризує проліферативну активність пухлини. Так, у 68% хворих цей показник був $> 25\%$, у 32% – спостерігали його експресію $< 25\%$. У хворих з рівнем експресії Ki-67 $> 25\%$ в пухлині вміст VEGF у сироватці крові був вищим в 1,57 разу, ніж у групі з показниками $< 25\%$, ($r = 0,49$, $p < 0,05$). Відомо, що при вмісті Ki-67 $< 25\%$ пухлина вважається менш агресивною, при високому рівні тканинного ядерного антигену проліферуючих клітин Ki-67 пухлина з більш високою ймовірністю відповість на хіміотерапію, а при низькому рівні даного показника вона більшою мірою відрегує (при наявності позитивних РП та РЕ) на гормонотерапію. Таким чином, аналіз взаємозв'язку рівнів VEGF та Ki-67 виявив підвищений вміст VEGF у групі з гіперекспресією Ki-67, що може свідчити про агресивність перебігу хвороби.

Аналіз експресії рецепторів стероїдних гормонів у пухлині показав, що у 57% хворих на ВНРГЗ спостерігається позитивний статус РЕ (60 – 85%), а у 43% – негативний статус РЕ ($< 10\%$). Також у 46% хворих визначили позитивний статус РП (67 – 90%) та у 54% – негативний статус РП ($< 10\%$). Дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками гормонозалежності пухлини, а саме з експресією рецепторів стероїдних гормонів, показало підвищений вміст рівня VEGF у групі з РЕ-негативними пухлинами порівняно з РЕ-позитивними зразками в 1,5 разу ($r = 0,46$, $p < 0,05$). Виявлено збільшення рівня вмісту VEGF у РП-негативних пухлинах порівняно з РП-позитивними зразками в 1,48 разу ($r = 0,38$, $p < 0,05$).

За результатами імуногістохімічного визначення експресії Her-2/neu пухлини розподіляли на Her-2/neu-негативні (0–2+) – 66,7% і Her-2/neu позитивні (2/3P3+) – 33,3%. Her-2/neu – представник родини рецепторів епідермального фактора росту людини. Відомо, що гіперекспресія Her-2/neu при деяких підтипах РГЗ веде до підсилення проліферації і ангиогенезу, порушенню регуляції апоптозу. Показано, що при РГЗ гіперекспресія цього рецептора в тканині пухлини асоційована з більш агресивним перебігом хвороби, підвищеним метастатичним потенціалом пухлини та несприятливим її прогнозом. Дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками експресії Her-2/neu пухлини у хворих на ВНРГЗ показало

A significant association was found between increased VEGF levels and tumor grade. In patients with high-grade tumors (G3), which were noted in 92% of cases, VEGF was 1.54 times higher than in those with low-grade tumors (G2), observed in 8% of patients ($r = 0.48$, $p < 0.05$).

As shown in Table 5, the VEGF level correlated with Ki-67 expression, which characterizes tumor proliferative activity. Specifically, 68% of patients had Ki-67 levels $> 25\%$, while 32% had levels $< 25\%$. Among patients with Ki-67 expression $> 25\%$, serum VEGF levels were 1.57 times higher than in those with levels $< 25\%$ ($r = 0.49$, $p < 0.05$). It is known that a Ki-67 level $< 25\%$ indicates a less aggressive tumor, while high levels of this nuclear antigen suggest a greater likelihood of response to chemotherapy; conversely, tumors with low Ki-67 expression and positive ER and PR status are more likely to respond to hormonal therapy. Therefore, the analysis of the relationship between VEGF and Ki-67 levels revealed elevated VEGF in the group with high Ki-67 expression, indicating potential tumor aggressiveness.

Analysis of steroid hormone receptor expression in the tumor showed that 57% of SEBC patients had a positive ER status (60 – 85%), while 43% had a negative ER status ($< 10\%$). Additionally, 46% of patients had a positive PR status (67 – 90%), and 54% had a negative PR status ($< 10\%$). Investigation of the relationship between VEGF levels and hormone receptor expression revealed that VEGF levels were 1.5 times higher in the ER-negative group than in the ER-positive group ($r = 0.46$, $p < 0.05$). An increase in VEGF levels was also observed in PR-negative tumors compared to PR-positive samples (1.48 times higher, $r = 0.38$, $p < 0.05$). This suggests that elevated serum VEGF in SEBC patients with hormone resistance (lack of steroid hormone receptors) may indicate tumor aggressiveness and an unfavorable disease course.

Immunohistochemical analysis of Her-2/neu expression showed that tumors were classified as Her-2/neu negative (0–2+) in 66.7% of cases and Her-2/neu positive (2/3P3+) in 33.3% of cases. Her-2/neu is a member of the human epidermal growth factor receptor family. It is known that hyperexpression of Her-2/neu in certain BC subtypes promotes proliferation and angiogenesis and disrupts apoptosis regulation. Studies have shown that Her-2/neu hyperexpression in breast tumors is associated with a more aggressive disease course, increased metastatic potential, and a worse prognosis. The analysis of the relationship between VEGF levels and Her-2/neu expression in SEBC tumors revealed that VEGF was 1.51 times higher in the Her-2/neu (+) group compared to the Her-2/neu (–) group

підвищення вмісту VEGF у групі з Her-2/neu (+) статусом пухлини у 1,51 разу порівняно з групою з Her-2/neu (–) статусом пухлини ($r = 0,36$, $p < 0,05$). Це свідчить про можливість визначення факторів несприятливого перебігу пухлинного процесу у хворих на ВНРГЗ.

Отже, експресія VEGF у хворих на ВНРГЗ асоціювалась з факторами несприятливого прогнозу (ступенем злоякісності пухлини, проліферативною активністю пухлини (Ki-67), гормонорезистентністю (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) та гіперекспресією Her-2/neu).

Комплексне визначення рівнів експресії обраних молекулярно-біологічних маркерів забезпечує більш досконале відображення гетерогенності пухлини, оцінка якої відіграє істотну роль у визначенні її агресивного потенціалу. Об'єднання маркерів у кластери за рівнем їх експресії дозволяє ймовірно оцінити ступінь агресивності найбільш злоякісних пухлин ВНРГЗ і, таким чином, обрати індивідуальну тактику лікування.

У зв'язку з викладеним вище, хворі були розподілені на дві групи з низьким та високим ступенем агресивності ВНРГЗ (рис. 1). У групі з високим ступенем агресивності рівень VEGF у сироватці крові був вище, ніж у групі з низьким, на фоні зниження показників рецепторів стероїдних гормонів та підвищення статусу Her-2/neu та Ki-67 у пухлині порівняно з показниками в групі з низькою агресивністю.

($r = 0,36$, $p < 0,05$). This suggests the possibility of identifying factors associated with an unfavorable disease course in SEBC patients.

Thus, VEGF expression in SEBC patients was associated with adverse prognostic factors (tumor grade, tumor proliferative activity (Ki-67), hormone resistance (lack of steroid hormone receptors), and Her-2/neu hyperexpression).

A comprehensive assessment of the expression levels of selected molecular biological markers provides a better understanding of tumor heterogeneity, which plays a significant role in determining its aggressiveness. Clustering markers according to their expression levels makes it possible to predict the aggressiveness of the most malignant SEBC tumors and thus select an individualized treatment strategy.

In light of the above, patients were divided into two groups based on low and high SEBC aggressiveness (Figure 1). In the high-aggressiveness group, serum VEGF levels were higher than in the low-aggressiveness group, along with lower steroid hormone receptor levels and higher Her-2/neu and Ki-67 expression in the tumor compared to the low-aggressiveness group.

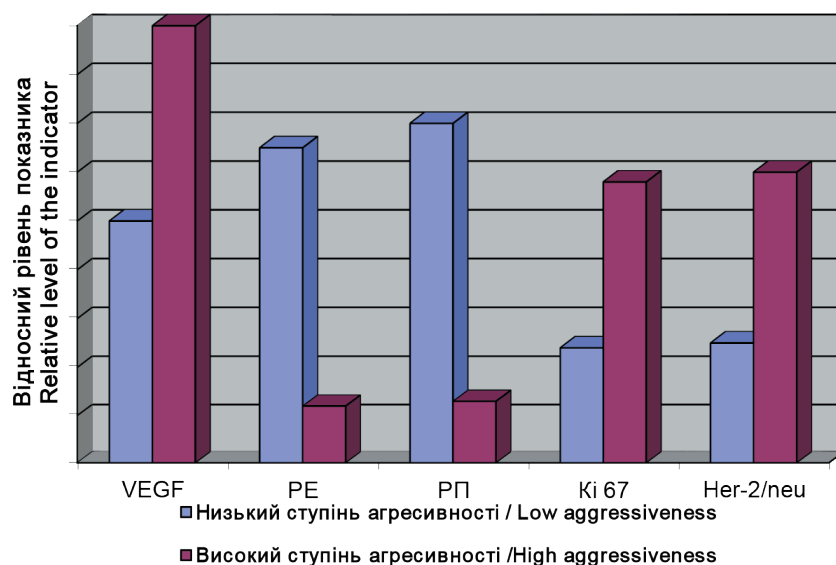


Рис. 1. Особливості експресії біологічних маркерів в пухлині та сироватці крові хворих на ВНРГЗ залежно від ступеня агресивності
Fig. 1. Features of the expression of biological markers in the tumor and serum of SEBC patients depending on the degree of aggressiveness

Отримані дані підтверджують імунофенотипову гетерогенність ВНРГЗ і вплив молекулярного профілю пухлини на прогноз перебігу захворювання, на це вказують кореляційні зв'язки між значенням VEGF та рівнем експресії стероїдних гормонів Her-2/neu, рівнем проліферації в пухлині.

На основі отриманих даних нами розроблено спосіб прогностичної оцінки ступеня агресивності ВНРГЗ (патент на корисну модель № 112631 від 26.12.2016 р.). До початку лікування визначали у сироватці крові

The obtained data confirm the immunophenotypic heterogeneity of SEBC and the impact of the tumor's molecular profile on the disease prognosis, as indicated by the correlation between VEGF levels and expression levels of steroid hormone receptors, Her-2/neu, and the proliferative index.

Based on the obtained data, we developed a method for predicting the aggressiveness of SEBC (utility model patent No. 112631, dated 26.12.2016) [our patent on aggressiveness]. Before starting treatment, the serum

рівень експресії маркера VEGF, у зразку тканини пухлини рівні експресії маркерів Ki-67, Her-2/neu, рецептори естрогену (PE) і рецептори прогестерону (РП) визначали імуногістохімічним методом за загальноприйнятою методикою. Отримані значення рівнів класифікували за двома кластерами. Значення рівнів VEGF < 300 пг/мл; PE = 60 – 85%; РП = 67 – 90%; Ki-67 < 25; Her-2/neu – негативний статус, відносять до першого кластера, якому відповідає низький ступінь агресивності пухлини. Значення VEGF > 300 пг/мл; PE < 10%; РП < 10%; Ki-67 > 25; Her-2/neu – позитивний статус, відносять до другого кластера, якому відповідає високий ступінь агресивності пухлини. Згідно з визначеною оцінкою ступеня агресивності хворим призначали адекватне лікування.

На наступному етапі дослідження оцінювали вплив НПХТ на вміст VEGF у сироватці крові 54 хворих на ВНРГЗ в залежності від об'єктивної відповіді на лікування. За даними клініко-інструментальних досліджень у групі хворих з високим ступенем агресивності була визначена регресія (повна та часткова) у 70,8%, та регресія менше 30% у 29,2% хворих. При низькому ступені агресивності повна та часткова регресія спостерігалась у 93,3% випадків, а регресія менше 30% – у 6,7%.

Після лікування у групі хворих з високим ступенем агресивності і регресією пухлини спостерігали зниження рівня VEGF (медіана 360 пг/мл проти 450 пг/мл до лікування, $r = 0,48$, $p = 0,26$), а в групі хворих з регресією менше 30% – рівень VEGF підвищувався або не змінювався (медіана 496 пг/мл проти 485 пг/мл до лікування, $r = 0,28$, $p = 0,5$). Після лікування у групі хворих з низьким ступенем агресивності і регресією пухлини спостерігали зниження рівня VEGF (медіана 240 пг/мл проти 360 пг/мл до лікування, $r = 0,5$, $p = 0,05$), а в групі хворих з регресією менше 30% – рівень VEGF не змінювався (медіана 361 пг/мл проти 380 пг/мл до лікування). Зміни рівня VEGF представлені на рисунках 2 і 3. Отже, встановлено взаємовідношення між початковими значеннями VEGF у сироватці крові і його показниками після НПХТ, що підтверджено значимим кореляційним зв'язком.

Слід відзначити, що чим вищою була концентрація VEGF до лікування (> 450 пг/мл), тим менше вона знижувалася після НПХТ при прогресуванні онкологічного процесу. Цей факт може вказувати на більш високий ступінь агресивності пухлини, що дозволяє віднести таких пацієнтів до групи ризику та необхідності вибору для них адекватної тактики лікування.

Таким чином, зміни рівня VEGF збігалися з об'єктивною відповіддю на НПХТ, що підтверджує прогностичну значущість активації ангіогенного фактора. Так, аналіз отриманих даних показав, що у випадку регресії пухлини спостерігається вірогідне зниження рівня VEGF, що свідчить про ефективність НПХТ, у разі прогресії – спостерігали стабільно високий рівень VEGF, що є несприятливою ознакою та пов'язано, можливо, з резистентністю пухлини до проведеної терапії і подальшим несприятливим перебігом хвороби.

level of VEGF was determined, and the expression levels of Ki-67, Her-2/neu, estrogen receptors (ER), and progesterone receptors (PR) were determined in tumor samples using standard immunohistochemical methods. The obtained values were then classified into two clusters. VEGF levels <300 pg/mL, ER = 60 – 85%, PR = 67 – 90%, Ki-67 < 25%, and Her-2/neu negative status were classified into the first cluster, corresponding to a low degree of tumor aggressiveness. VEGF levels >300 pg/mL, ER <10%, PR <10%, Ki-67 >25%, and Her-2/neu positive status were classified into the second cluster, corresponding to a high degree of tumor aggressiveness. Based on the defined aggressiveness, patients were assigned appropriate treatment.

Depending on the determined aggressiveness of the disease, patients received appropriate treatment.

In the next stage of the study, the impact of NAC on serum VEGF levels in 54 SEBC patients was assessed depending on the objective response to treatment. According to clinical and instrumental data, among patients with high aggressiveness, complete or partial tumor regression was observed in 70.8%, and regression of less than 30% was observed in 29.2% of patients. Among patients with low aggressiveness, complete or partial regression was observed in 93.3% of cases, and regression of less than 30% in 6.7% of cases.

After treatment, in the group of patients with high aggressiveness and tumor regression, VEGF levels decreased (median 360 pg/mL compared to 450 pg/mL before treatment, $r = 0,48$, $p = 0,26$), while in patients with less than 30% regression, VEGF levels either increased or remained unchanged (median 496 pg/mL compared to 485 pg/mL before treatment, $r = 0,28$, $p = 0,5$). After treatment, in the group of patients with low aggressiveness and tumor regression, VEGF levels decreased (median 240 pg/mL compared to 360 pg/mL before treatment, $r = 0,5$, $p = 0,05$), while in patients with less than 30% regression, VEGF levels remained unchanged (median 361 pg/mL compared to 380 pg/mL before treatment). The changes in VEGF levels are presented in Figs. 2 and 3. Thus, a relationship was established between initial VEGF levels and post-NAC levels, confirmed by a significant correlation.

It should be noted that the higher the pre-treatment VEGF concentration (>450 pg/mL), the less it decreased after NAC in cases of disease progression. This may indicate a higher degree of tumor aggressiveness, placing such patients at high risk and highlighting the need for appropriate treatment strategies.

Thus, changes in VEGF levels corresponded to the objective response to NAC, confirming the prognostic significance of angiogenic factor activation. The analysis of the data showed that tumor regression was accompanied by a significant decrease in VEGF levels, indicating NAC effectiveness, while progression was associated with persistently high VEGF levels, which is an unfavorable sign and may indicate tumor resistance to the therapy and a subsequent unfavorable disease course.

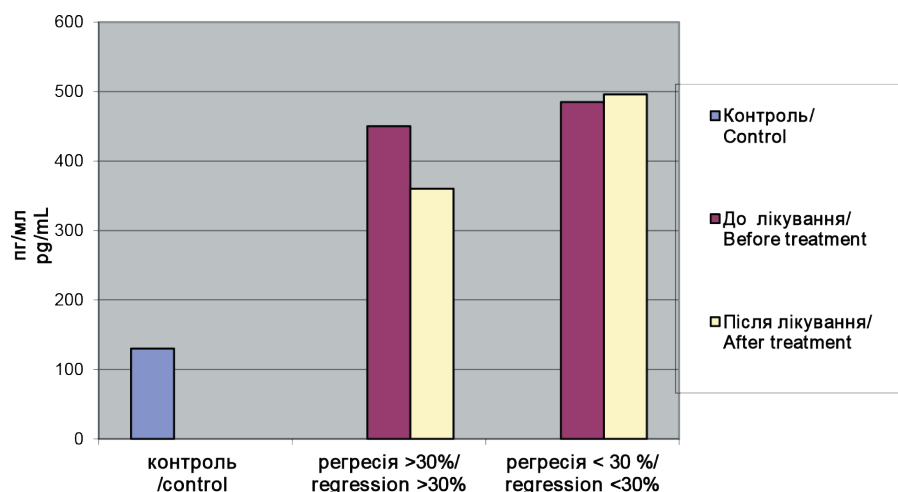


Рис. 2. Рівень сироваткового VEGF у хворих на ВНРГЗ з високим ступенем агресивності до та після лікування
Fig. 2. Serum VEGF levels in SEBC patients with high aggressiveness before and after treatment

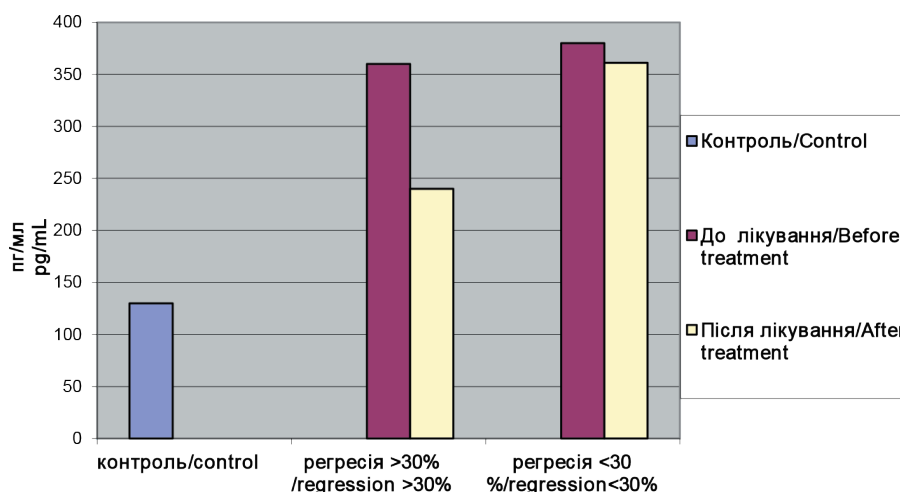


Рис. 3. Рівень сироваткового VEGF у хворих на ВНРГЗ з низьким ступенем агресивності до та після лікування
Fig. 3. Serum VEGF levels in SEBC patients with low aggressiveness before and after treatment

ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз проведених досліджень свідчить, що підвищений рівень VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ на тлі гормонорезистентності (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) характеризує агресивність пухлини та є ознакою несприятливого перебігу захворювання.

Згідно з даними літератури про зв'язок факторів ангіогенезу та агресивного потенціалу онкологічного процесу, і власних отриманих результатах експресії VEGF у хворих на ВНРГЗ, можна припустити високий ступінь злоякісності даного захворювання у частини хворих. Можливо пухлина продукує VEGF, який потрапляє в систему циркуляції, внаслідок чого рівень фактора корелює з клінічними симптомами поширеності процесу і може використовуватись як додатковий критерій для вибору тактики та моніторингу спеціального лікування як маркер ангіогенезу, що підтверджують інші дослідники [14]. Численними дослідженнями встановлено, що ВНРГЗ є гормонозалежною пухлиною, яка асоційована з хронічним впливом

DISCUSSION

The analysis of the conducted studies indicates that an elevated level of VEGF in the blood serum of patients with locally advanced breast cancer (LABC) against the background of hormone resistance (absence of steroid hormone receptors) characterizes tumor aggressiveness and serves as a sign of an unfavorable disease course.

According to literature data on the relationship between angiogenesis factors and the aggressive potential of the oncological process, as well as our own results of VEGF expression in patients with LABC, it can be assumed that a high degree of malignancy is present in a portion of cases. It is possible that the tumor itself produces VEGF, which enters the circulatory system, causing the factor level to correlate with clinical symptoms of disease dissemination. Thus, VEGF can be used as an additional criterion for determining treatment strategy and for monitoring therapy effectiveness as an angiogenesis marker, which is also supported by other researchers [14].

Numerous studies have established that LABC is a hormone-dependent tumor associated with chronic

естрогенів на фоні порушеного естроген-прогестеронового балансу. Згідно з «естрогенною теорією», естрогени та їх рецептори відіграють суттєву роль у ініціації та промоції процесу злоякісної трансформації епітелію пухлини. Згідно з даними сучасних досліджень, наявність рецепторів стероїдних гормонів є важливою біологічною характеристикою злоякісних пухлин і може визначати перебіг захворювання, оскільки показано, що зниження або втрата експресії як РЕ, так і РП, у пухлинах грудної залози на клітинах раку поєднується з інвазією, метастазуванням і несприятливим перебігом захворювання. Представлено дослідження співвідношення рівня VEGF із вмістом рецепторів стероїдних гормонів у пухлині. Дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками гормонозалежності пухлини, а саме з експресією рецепторів стероїдних гормонів, показало підвищений вміст рівня VEGF у групі з РЕ- та РП-негативними пухлинами порівняно з РЕ- та РП-позитивними зразками. Отже, наші результати аргументують доцільність дослідження вмісту VEGF та рецепторів стероїдних гормонів для оцінки агресивності пухлини.

Отримані дані стосовно співвідношення між вмістом VEGF та експресією білка Ki-67, онкопротеїну Her-2/neu у хворих на ВНРГЗ дають додаткову інформацію про агресивність пухлинного процесу. Це узгоджується з даними наукової літератури, що одним із молекулярних маркерів, які характеризують біологічні властивості злоякісних новоутворень, є так звана «проліферативна активність пухлини», яку характеризує ступінь експресії білка Ki-67, що синтезується у ядрах клітин під час пізньої G-фази, фаз S, G2 і M клітинного циклу [14, 15].

Продемонстрований нами аналіз взаємозв'язку рівнів VEGF та Ki-67 виявив підвищений вміст VEGF у групі з гіперекспресією Ki-67. Her-2/neu – представник родини рецепторів епідермального фактора росту людини. Відомо, що гіперекспресія Her-2/neu при деяких підтипах РГЗ, веде до підсилення проліферації і ангиогенезу, порушення регуляції апоптозу. Продемонстровані нами результати дослідження співвідношення рівня VEGF з показниками експресії Her-2/neu пухлини у хворих на ВНРГЗ показали підвищення вмісту VEGF у групі з Her-2/neu (+) статусом пухлини порівняно з групою з Her-2/neu (–). Таким чином, високий індекс Ki-67 та гіперекспресія Her-2/neu у тканинах пухлини, а також високий рівень VEGF у сироватці крові, характеризують агресивність ВНРГЗ.

Отже, представлені результати свідчать, що неoad'ювантне лікування впливає на рівень VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ. Визначено фактори, які дозволили індивідуалізувати оцінку чутливості до НХПТ в залежності від ступеня агресивності пухлини та клінічних результатів ефективності лікування.

На підставі отриманих даних рівня VEGF та зіставлення його з молекулярними маркерами у пухлині при ВНРГЗ, можна зробити припущення відносно значущості й доцільності визначення експресії VEGF для оцінки агресивності пухлинного процесу та подальшого моніторингу перебігу захворювання.

estrogen exposure against the background of disturbed estrogen-progesterone balance. According to the «estrogen theory,» estrogens and their receptors play a significant role in initiating and promoting malignant epithelial transformation. Modern research demonstrates that the presence of steroid hormone receptors is an important biological characteristic of malignant tumors and can determine the course of the disease, as the reduction or loss of both ER and PR expression in breast cancer cells is associated with invasion, metastasis, and poor prognosis.

The study of the relationship between VEGF levels and steroid hormone receptor content in the tumor showed increased VEGF levels in the ER- and PR-negative tumor group compared with ER- and PR-positive samples. Therefore, our results substantiate the relevance of studying VEGF concentration and steroid hormone receptor expression to assess tumor aggressiveness.

The obtained data on the relationship between VEGF levels and the expression of Ki-67 protein and the oncoprotein Her-2/neu in patients with LABC provide additional information about tumor aggressiveness. This aligns with scientific literature, which identifies «tumor proliferative activity» as one of the molecular markers characterizing the biological properties of malignant neoplasms, assessed through the expression level of Ki-67 protein synthesized in cell nuclei during late G-phase, S-, G2-, and M-phases of the cell cycle [14, 15].

Our analysis of the relationship between VEGF and Ki-67 levels revealed increased VEGF content in the group with Ki-67 hyperexpression. Her-2/neu, a member of the human epidermal growth factor receptor family, is known to enhance proliferation and angiogenesis and disrupt apoptosis regulation when overexpressed in certain breast cancer subtypes. Our study of the relationship between VEGF level and Her-2/neu expression in patients with LABC demonstrated an increased VEGF level in the group with Her-2/neu (+) tumor status compared to the Her-2/neu (–) group.

Thus, a high Ki-67 index and Her-2/neu overexpression in tumor tissues, along with elevated VEGF levels in blood serum, characterize the aggressiveness of LABC.

In summary, the presented results indicate that neoadjuvant therapy affects VEGF levels in the serum of patients with LABC. The identified factors allow for individualized assessment of sensitivity to neoadjuvant chemotherapy depending on tumor aggressiveness and clinical treatment outcomes.

Based on the obtained VEGF data and its comparison with molecular markers in LABC tumors, it can be concluded that determining VEGF expression is significant and appropriate for evaluating tumor aggressiveness and further monitoring of disease progression.

ВИСНОВКИ

З'ясовано зв'язок експресії VEGF у хворих на ВНРГЗ із ступенем злоякісності пухлини, проліферативною активністю пухлини (Ki-67), гормонорезистентністю (відсутність рецепторів стероїдних гормонів) та гіперекспресією Her-2/neu, що додатково дозволяє визначити агресивність пухлинного процесу.

Визначено, що динамічні зміни показників VEGF у сироватці крові хворих на ВНРГЗ, корелюють з об'єктивною відповіддю на НПХТ, і можуть бути використані для моніторингу перебігу захворювання і вибору тактики подальшої терапії.

CONCLUSIONS

A correlation has been established between VEGF expression in SEBC patients and tumor grade, proliferative activity (Ki-67), hormone resistance (absence of steroid hormone receptors), and Her-2/neu hyperexpression, which additionally enables the determination of tumor aggressiveness.

It has been determined that dynamic changes in serum VEGF levels in SEBC patients correlate with the objective response to NAC and can be used to monitor disease progression and guide subsequent therapy.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Giaquinto A. N., Sung H., Newman L. A., et al. Breast cancer statistics 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024. №74 (6). P. 477–495. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21863>
- Xiong X., Zheng L. W., Ding Y., et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2025. №10 (1). P. 49. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02108-4>
- Kim J., Munster P. N. Estrogens and breast cancer. *Annals of Oncology*. 2025. №36 (2). P. 134–148. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2024.10.824>
- Li Z., Wei H., Li S., et al. The role of progesterone receptors in breast cancer. *Drug Design, Development and Therapy*. 2022. №16. P. 305–314. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S336643>
- Agnoletto A., Briskin C. Hormone signaling in breast development and cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2025. №1464. P. 279–307. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-70875-6_15
- Rakha E. A., Tan P. H., Quinn C., et al. UK recommendations for HER2 assessment in breast cancer: an update. *Journal of Clinical Pathology*. 2023. №76 (4). P. 217–227. DOI: <https://doi.org/10.1136/jcp-2022-208632>
- Wolff A. C., Somerfield M. R., Dowsett M., et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. 2023. №41 (22). P. 3867–3872. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.22.02864>
- Wolff A. C., Somerfield M. R., Dowsett M., et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2023. №147 (9). P. 993–1000. DOI: <https://doi.org/10.5858/arpa.2023-0950-SA>
- Boscolo Bielo L., Trapani D., Nicolò E., et al. The evolving landscape of metastatic HER2-positive, hormone receptor-positive breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 2024. №128. P. 102761. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2024.102761>
- Shaw P., Dwivedi S. K. D., Bhattacharya R., et al. VEGF signaling: role in angiogenesis and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer*. 2024. №1879 (2). P. 189079. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2024.189079>
- Al Kawas H., Saaid I., Jank P., et al. How VEGF-A and its splice variants affect breast cancer development – clinical implications. *Cellular Oncology*. 2022. №45 (2). P. 227–239. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00665-w>
- Panda V. K., Mishra B., Mahapatra S., et al. Molecular insights on signaling cascades in breast cancer: a comprehensive review. *Cancers*. 2025. №17 (2). P. 234. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers17020234>
- Отченаш Н. М., Лядова Т. І., Гладких Ф. В. та ін. Характеристика показників клітинної та гуморальної ланок імунітету у хворих на рак грудної залози в динаміці неoad'ювантної хіміотерапії. *Одеський медичний журнал*. 2024. №5 (190). С. 57–61. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-5-9>
- Ayoub N. M., Jaradat S. K., Al-Shami K. M., et al. Targeting angiogenesis in breast cancer: current evidence and future perspectives of novel anti-angiogenic approaches. *Frontiers in Pharmacology*. 2022. №13. P. 838133. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.838133>
- Коломієць О., Москаленко Р. Імуногістохімічне дослідження макрофагів M1 та M2 при раку грудної залози з мікрокальцифікаціями. *Східноукраїнський медичний журнал*. №11 (2). С. 155–163. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(2\):155-163](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(2):155-163)

REFERENCES

- Giaquinto AN, Sung H, Newman LA, Freedman RA, Smith RA, Star J, et al. Breast cancer statistics 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024;74(6):477–95. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21863>
- Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2025;10(1):49. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02108-4>
- Kim J, Munster PN. Estrogens and breast cancer. *Annals of Oncology*. 2025;36(2):134–48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2024.10.824>
- Li Z, Wei H, Li S, Wu P, Mao X. The role of progesterone receptors in breast cancer. *Drug Design, Development and Therapy*. 2022;16:305–14. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S336643>
- Agnoletto A, Briskin C. Hormone signaling in breast development and cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2025;1464:279–307. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-70875-6_15
- Rakha EA, Tan PH, Quinn C, Provenzano E, Shaaban AM, Deb R, et al. UK recommendations for HER2 assessment in breast cancer: an update. *Journal of Clinical Pathology*. 2023;76(4):217–27. DOI: <https://doi.org/10.1136/jcp-2022-208632>
- Wolff AC, Somerfield MR, Dowsett M, Hammond MEH, Hayes DF, McShane LM, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: ASCO-College of American Pathologists guideline update. *Journal of Clinical Oncology*. 2023;41(22):3867–72. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.22.02864>
- Wolff AC, Somerfield MR, Dowsett M, Hammond MEH, Hayes DF, McShane LM, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2023;147(9):993–1000. DOI: <https://doi.org/10.5858/arpa.2023-0950-SA>
- Boscolo Bielo L, Trapani D, Nicolò E, Valenza C, Guidi L, Belli C, et al. The evolving landscape of metastatic HER2-positive, hormone receptor-positive breast cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 2024;128:102761. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2024.102761>
- Shaw P, Dwivedi SKD, Bhattacharya R, Mukherjee P, Rao G. VEGF signaling: role in angiogenesis and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer*. 2024;1879(2):189079. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2024.189079>
- Al Kawas H, Saaid I, Jank P, Westhoff CC, Denkert C, Pross T, et al. How VEGF-A and its splice variants affect breast cancer development – clinical implications. *Cellular Oncology (Dordrecht)*. 2022;45(2):227–39. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00665-w>
- Panda VK, Mishra B, Mahapatra S, Swain B, Malhotra D, Saha S, et al. Molecular insights on signaling cascades in breast cancer: a comprehensive review. *Cancers (Basel)*. 2025;17(2):234. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers17020234>
- Otchenash NM, Liadova TI, Hladkykh FV, Kirchev VV. Characteristics of cellular and humoral immunity parameters in patients with breast cancer during neoadjuvant chemotherapy. *Odesa Medical Journal*. 2024;5(190):57–61. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-5-9>
- Ayoub NM, Jaradat SK, Al-Shami KM, Alkhalifa AE. Targeting angiogenesis in breast cancer: current evidence and future perspectives of novel anti-angiogenic approaches. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:838133. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.838133>
- Kolomiets O, Moskalenko R. Immunohistochemical study of M1 and M2 macrophages in breast cancer with microcalcifications. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2023;11(2):155–63. (in Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(2\):155-163](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(2):155-163)

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Обсерваційний/ретроспективний та/або одно-центровий характер не дає підстав для причинних висновків і зберігає ризик селекційного зміщення та залишкової змішувальної дії, попри використання багатofакторних моделей, підбору за схильністю та інших підходів до контролю змішувальних чинників. Розмір і склад вибірки (54 хворих на ВНРГЗ T4bN0-2M0 стадій віком 37–76 pp.) обмежують точність оцінок і переносимість результатів з огляду на особливості маршрутизації пацієнтів і практик надання допомоги в Україні. Для мінімізації впливів стандартизовано вимірювання, проведено навчання оцінювачів, за можливості застосовано засліплення, виконано аналізи чутливості. Узагальнюваність висновків обмежена контекстом; підтвердження потребує проспективних мультицентрових досліджень, обґрунтованих розрахунком потужності, зовнішньою валідацією та дотриманням Належної клінічної практики (*Good Clinical Practice* – GCP).

Перспективи подальших досліджень

У подальших дослідженнях доцільно розширити когорту пацієнтів для підтвердження отриманих результатів та перевірки їхньої репрезентативності. Важливим напрямком є дослідження комбінованого впливу неoad'ювантної поліхіміотерапії, таргетної та гормональної терапії на експресію VEGF та інших молекулярних маркерів у пухлинах ВНРГЗ для уточнення механізмів розвитку резистентності та визначення ефективності лікування. Перспективним є також дослідження впливу змін рівня VEGF на віддалені результати лікування та виживаність пацієнтів, що дозволить підвищити прогностичну значущість показника VEGF у клінічній практиці.

Конфлікт інтересів

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

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Інформована згода на участь у дослідженні була отримана від усіх учасників після надання їм зрозумілої, повної та доступної інформації про мету, дизайн і методологію дослідження, його потенційні ризики, очікувані переваги та можливі альтернативи. Усі учасники підтвердили свою добровільну участь шляхом підписання документа про інформовану згоду. Дослідження схвалене Комісією з питань етики та біоетики Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» (витяг з протоколу № 8 від 07 листопада 2024 р.).

Limitations of the study

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the presented study has limitations determined by its design and implementation. The observational/retrospective and/or single-center nature does not allow for causal inferences and entails a risk of selection bias and residual confounding, despite the use of multivariable models, propensity score matching, and other approaches to confounder control.

The sample size and composition (54 patients with locally advanced head and neck cancer, T4bN0-2M0 stages, aged 37–76 years) limit the precision of estimates and the generalizability of the findings, considering the specificities of patient referral pathways and care practices in Ukraine.

To minimize potential biases, measurements were standardized, assessors were trained, blinding was applied whenever feasible, and sensitivity analyses were performed. The generalizability of the conclusions is limited by the context; confirmation requires prospective multicenter studies with justified power calculations, external validation, and adherence to Good Clinical Practice (GCP).

Prospects for further research

Future studies should aim to expand the patient cohort to confirm the obtained results and verify their representativeness. An important direction involves investigating the combined effects of neoadjuvant polychemotherapy, targeted therapy, and hormonal therapy on VEGF expression and other molecular markers in SEBC tumors to clarify the mechanisms of resistance development and to determine treatment effectiveness. It is also promising to study the impact of changes in VEGF levels on long-term treatment outcomes and patient survival, which would enhance the prognostic significance of the VEGF indicator in clinical practice.

Conflict of interest

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

Ethics statement

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the study was conducted using data from primary medical records and included clinical observations of patients. The study was carried out in accordance with the ethical standards of the World Medical Association's Declaration of Helsinki on the ethical principles for medical research involving human subjects, Directive 86/609/EEC of the European Community on the participation of humans in biomedical research, as well as Order No. 690 of the Ministry of Health of Ukraine dated September 23, 2009.

Informed consent to participate in the study was obtained from all participants after they were provided with clear, complete, and accessible information about the purpose, design, and methodology of the study, its potential risks, expected benefits, and possible alternatives. All participants confirmed their voluntary participation by signing an informed consent form.

The study was approved by the Ethics and Bioethics Committee of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (extract from Protocol No. 8 dated November 7, 2024).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously acknowledge that no generative artificial intelligence tools or services were used at any stage of the research or manuscript preparation to perform any of the tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were carried out exclusively by the authors, without the involvement of generative artificial intelligence.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the work is based on the results of their own clinical research, which were systematized and analyzed by the authors. The primary data include aggregated patient indicators, laboratory results, protocols, and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the research group's archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, in accordance with confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Розробити програму комплексного лікування хворих на вторинно-набряковий рак грудної залози з урахуванням механізмів патогенезу запального і набрякового компонентів агресивності пухлинного процесу», номер державної реєстрації: 0118U001712, шифр теми: НАМН 03.18, прикладна, термін виконання: 01.2018-12.2020 рр., керівник – директор Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», доктор медичних наук, професор М.В. Красносельський.

Funding information

Funded by the State Budget of Ukraine. The article is a fragment of the planned research project of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; entitled «Development of a comprehensive treatment program for patients with secondary edematous breast cancer, taking into account the pathogenic mechanisms of the inflammatory and edematous components of tumor process aggressiveness» State registration number: 0118U001712, project code: NAMN 03.18, applied research, implementation period: January 2018 – December 2020. Project supervisor – Director of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» Doctor of Medical Sciences, Professor M. V. Krasnoselsky.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Білий Олександр Миколайович – кандидат медичних наук, доцент кафедри онкології, радіології та радіаційної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; старший науковий співробітник, лікар-онкохірург відділення онкологічної хірургії Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: abely@ukr.net
mob.: +38 (067) 280-73-89

Внесок автора: лікування хворих, написання статті, аналітичний розділ, написання висновків.

Мітряєва Наталія Андріївна – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії радіаційної онкології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: radoncol_lab@ukr.net
mob.: +38 (066) 558-43-92

Внесок автора: аналіз отриманих результатів, написання тексту статті.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Bilyi Oleksandr Mykolaiovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Oncology, Radiology and Radiation Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Surgical Oncologist, Senior Researcher of the Department of Oncosurgery of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: abely@ukr.net
tel.: +38 (067) 280-73-89

Author's contribution: treatment of patients, writing an article, analytic division, writing conclusions.

Mitriaieva Nataliia Andriivna – Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Radiation Oncology of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: radoncol_lab@ukr.net
tel.: +38 (066) 558-43-92

Author's contribution: analysis of the received results, writing the text of the article.

Гребіник Лідія Володимирівна – науковий співробітник лабораторії радіаційної онкології 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: radoncol_lab@ukr.net
mob.: +38 (050) 934-05-94

Внесок автора: статистична обробка даних з оцінкою отриманих результатів, виконання дослідження.

Слободянюк Ольга Володимирівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри онкології, радіології та радіаційної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; лікар-онколог відділення клінічної онкології і гематології Державної установи «Інститут медичної радіології імені С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;

e-mail: olgaslobodjanuk@gmail.com
mob.: +38 (067) 271-53-77

Внесок автора: формування груп хворих, лікування хворих, аналітичний розділ.

Пилипенко Сергій Олександрович – лікар-анестезіолог відділення анестезіології з ліжками для інтенсивної терапії 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: doctorpilipenco@gmail.com
mob.: +38 (099) 601-93-22

Внесок автора: статистична обробка даних.

Grebinyk Lidiia Volodymyrivna – Researcher of Laboratory of Radiation Oncology of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: radoncol_lab@ukr.net
tel.: +38 (050) 934-05-94

Author's contribution: statistical data processing with evaluation of the obtained results, conducting research.

Slobodianiuk Olha Volodymyrivna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Oncology, Radiology and Radiation Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Oncologist of the Department of Clinical Oncology and Hematology of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: olgaslobodjanuk@gmail.com
tel.: +38 (067) 271-53-77

Author's contribution: formation of groups of patients, treatment of patients, analytical division.

Pylypenko Serhiy Oleksandrovych – Anesthesiologist at Anesthesiology Department with Intensive Care Beds of the State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: doctorpilipenco@gmail.com
tel.: +38 (099) 601-93-22

Author's contribution: statistical data processing.

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 28.06.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 15.09.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-03>
УДК: 618.14-002.28



Гормональна резистентність при неатиповій гіперплазії ендометрія: роль експресії PgR-A та PgR-B у прогнозуванні відповіді на лікування

Хасхачих Д.А.,  <http://orcid.org/0000-0001-5097-6667>, e-mail: docdhas@gmail.com

Дніпровський Державний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Дніпро, Україна

Hormone resistance in non-atypical endometrial hyperplasia: role of PgR-A and PgR-B expression in predicting treatment response

Khaskhachykh D.A.,  <http://orcid.org/0000-0001-5097-6667>, e-mail: docdhas@gmail.com

Dnipro State Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Ключові слова:

гіперплазія ендометрія, рецептори прогестерону, гормонорезистентність, рецидив, прогестина терапія, імуногістохімія, предиктори, персоналізоване лікування.

Для кореспонденції:

Хасхачих Дмитро Анатолійович
Дніпровський Державний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра акушерства та гінекології;
вул. Володимира Вернадського, буд. 9, м. Дніпро, Україна, 49044;
e-mail: docdhas@gmail.com

© Хасхачих Д.А., 2025.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Гіперплазія ендометрія без атипії залишається актуальною клінічною проблемою через високу частоту рецидивів після проведення гормональної терапії, що досягає 64,7 %. Однією з причин неефективності лікування є гормонорезистентність, пов'язана з порушенням рецепторного профілю, зокрема експресії рецепторів прогестерону PgR-A та PgR-B. Вивчення ролі цих рецепторів як біомаркерів може суттєво покращити прогнозування результатів терапії та індивідуалізувати підходи до лікування.

Мета роботи – визначити прогностичне значення експресії рецепторів прогестерону PgR-A і PgR-B у жінок з гіперплазією ендометрія без атипії для оцінки ризику рецидиву після прогестинової терапії.

Матеріали та методи. У проспективному дослідженні взяли участь 55 жінок репродуктивного віку (35–46 років) з гістологічно підтвердженою гіперплазією ендометрія без атипії (40 – перша група (досліджувана), 15 – друга група (група порівняння)). Період спостереження склав 2 роки. Усім пацієнткам призначено терапію мікронізованим прогестероном 400 мг/добу впродовж 6 місяців. Імуногістохімічний аналіз проводився з визначенням експресії PgR-A і PgR-B до та після лікування за шкалою H-score у залозах та стромі. Статистична обробка включала t-тест, χ^2 , критерій вірогідності $p < 0,05$.

Результати. До початку лікування у більшості пацієнток з гіперплазією ендометрія без атипії відзначалась низька експресія PgR-A (у залозах: $4,0 \pm 0,41$ – $5,1 \pm 0,31$, у стромі: $3,3 \pm 0,61$ – $3,6 \pm 0,71$) при високій експресії PgR-B, що свідчить про гормонорезистентний фенотип. Після 6 місяців прогестинової терапії у пацієнток з позитивною відповіддю спостерігалось статистично значуще підвищення рівня PgR-A (у залозах до $6,1$ – $7,7$, у стромі – до $5,1$ – $8,2$) та нормалізація співвідношення PgR-A:PgR-B > 1 , що корелювало з гістологічною нормалізацією ендометрія. У жінок із співвідношенням PgR-A:PgR-B ≤ 1 до лікування частота рецидивів склала 71 %, тоді як при PgR-A:PgR-B > 1 – лише 19 % ($p < 0,001$). Відсутність або дуже низький рівень PgR-A до лікування розцінювався як маркер прогестинової резистентності, тоді як підвищення експресії PgR-A після терапії – як показник ефективності лікування.

Висновки. Низький рівень експресії PgR-A та дисбаланс співвідношення PgR-A:PgR-B до початку терапії з використанням прогестинів є прогностичними маркерами гормональної резистентності та підвищеного ризику рецидиву гіперплазії ендометрія. Визначення рівнів PgR-A та PgR-у біоптатах ендометрія до початку лікування дозволяє прогнозувати відповідь на терапію, а також оптимізувати тактику ведення пацієнтки шляхом індивідуального вибору виду, тривалості та дози гормонального лікування. Такий підхід сприяє зниженню частоти рецидивів та підвищенню ефективності терапії у жінок з гіперплазією ендометрія без атипії.

Практичне значення. Імуногістохімічна оцінка експресії PgR-A та PgR-B перед призначенням терапії може бути використана як інструмент персоналізованої медицини для підвищення ефективності лікування гіперплазії ендометрія без атипії у жінок репродуктивного віку.

Для цитування:

Хасхачих Д.А. Гормональна резистентність при неатиповій гіперплазії ендометрія: роль експресії PgR-A та PgR-B у прогнозуванні відповіді на лікування. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 705–718. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-03>

Keywords:

endometrial hyperplasia, progesterone receptors, PgR-A, PgR-B, hormone resistance, recurrence, progestin therapy, immunohistochemistry, predictors, personalized treatment.

For correspondence:

Khaskhachykh Dmytro Anatolievich
Dnipro State Medical University of the
Ministry of Health of Ukraine, Department
of Obstetrics and Gynaecology;
9 Volodymyr Vernadskoho Str., Dnipro,
Ukraine, 49044;
e-mail: docdhas@gmail.com

© Khaskhachykh D.A., 2025

ABSTRACT

Background. Endometrial hyperplasia (EH) without atypia remains a significant clinical challenge due to a high recurrence rate following hormone therapy, reaching up to 64.7%. One of the key causes of treatment failure is hormone resistance, which is associated with an altered receptor profile—particularly the expression of progesterone receptor isoforms PgR-A and PgR-B. Investigating the role of these receptors as biomarkers may significantly improve therapy outcome prediction and enable individualized treatment approaches.

Purpose – to determine the prognostic significance of PgR-A and PgR-B expression in women with non-atypical EH in assessing the risk of recurrence after progestin therapy.

Materials and Methods. The prospective study included 55 women of reproductive age (35–46 years) with histologically confirmed endometrial hyperplasia without atypia without atypia (40 – the first group (study), 15 – the second group (comparison group)). The observation period was 2 years. All patients were prescribed therapy with micronized progesterone 400 mg/day for 6 months. Immunohistochemical analysis was performed to determine the expression of PgR-A and PgR-B before and after treatment using the H-score scale in the glands and stroma. Statistical analysis included t-test, χ^2 , significance criterion $p < 0.05$.

Results. Before treatment, most patients with non-atypical endometrial hyperplasia demonstrated low PgR-A expression (in glands: 4.0 ± 0.41 to 5.1 ± 0.31 ; in stroma: 3.3 ± 0.61 to 3.6 ± 0.71) and high PgR-B expression, indicating a hormone-resistant phenotype. After six months of progestin therapy, patients who responded positively showed a statistically significant increase in PgR-A levels (in glands: up to 6.1–7.7; in stroma: 5.1–8.2) and normalization of the PgR-A:PgR-B ratio >1 , which correlated with histological normalization of the endometrium. Among women with a PgR-A:PgR-B ratio ≤ 1 before treatment, the recurrence rate was 71 %, whereas in those with a PgR-A:PgR-B ratio >1 , it was only 19% ($p < 0.001$). Absence or very low expression of PgR-A before treatment was considered a marker of progestin resistance, whereas increased PgR-A expression after therapy was regarded as a predictor of treatment efficacy.

Conclusions. Low PgR-A expression and an imbalance in the PgR-A:PgR-B ratio before the start of progestin therapy are prognostic markers of hormonal resistance and an increased risk of recurrence of endometrial hyperplasia. Determination of PgR-A and PgR-B levels in endometrial biopsies before the start of treatment allows predicting the response to therapy, as well as optimizing the patient's management by individually selecting the type, duration, and dose of hormonal treatment. This approach helps to reduce the frequency of recurrences and increase the effectiveness of therapy in women with endometrial hyperplasia without atypia.

Practical Significance. Immunohistochemical evaluation of PgR-A and PgR-B prior to initiating therapy may serve as a tool of personalized medicine to improve the effectiveness of treatment for non-atypical EH in reproductive-aged women.

For citation:

Khaskhachykh DA. Hormone resistance in non-atypical endometrial hyperplasia: role of PgR-A AND PgR-B expression in predicting treatment response. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):705–718. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-03>

ВСТУП

Гіперплазія ендометрія без атиpii (НГЕ) є одним із найпоширеніших гормонозалежних порушень у жінок репродуктивного віку. Цей патологічний стан розглядається як потенційно оборотна передракова зміна ендометрія, що виникає внаслідок тривалого естрогенного впливу без адекватного протибалансування прогестероном [1, 2]. Стандартним методом лікування НГЕ є застосування прогестогенів як у вигляді пероральних препаратів, так і за допомогою внутрішньоматкових систем з левоноргестрелом [3]. Попри високу ефективність терапії рецидиви НГЕ після її завершення

INTRODUCTION

Endometrial hyperplasia without atypia (EH) is one of the most common hormone-dependent disorders in women of reproductive age. This pathological condition is considered a potentially reversible precancerous change of the endometrium, arising from prolonged estrogen exposure without adequate progesterone counterbalance [1, 2]. The standard treatment method for EH involves the use of progestogens—either in the form of oral medications or intrauterine systems containing levonorgestrel [3]. Despite the high efficacy of therapy, recurrences of EH after treatment are reported

рееструються у 14–64,7% випадків, що створює потребу в пошуку надійних прогностичних маркерів [4, 5].

У патогенезі та відповіді ендометрія на лікування ключову роль відіграють рецептори до прогестерону – зокрема, їхні ізоформи PgR-A та PgR-B, які мають різну транскрипційну активність і біологічну функцію [6, 7]. Зменшення експресії PgR-A або переважання PgR-B пов'язане з нечутливістю до прогестинів і підвищеним ризиком рецидиву гіперплазії ендометрія [8–10]. Особливу прогностичну цінність має співвідношення PgR-A:PgR-B – його зниження асоціюється з вищою імовірністю прогестинової резистентності [11]. Sletten та співавт. (2019) виявили, що у жінок із PgR-A:PgR-B ≤ 1 ризик рецидиву НГЕ після лікування був у 3,5 рази вищим, ніж у пацієнок із переважанням PgR-A [11]. Подібні результати зафіксовано й у дослідженнях, де оцінювали слабку експресію PgR у залозистому та стромальному компонентах ендометрія [12, 13].

Водночас у жінок із полікістозом яєчників (ПКЯ), які часто мають нерегулярні менструальні цикли, також спостерігається зміщене співвідношення PgR-A/PgR-B, що впливає на ризик проліферативних змін [14]. Огляд Gallos та співавт. (2013) підтверджує, що низький рівень рецепторів прогестерону є маркером персистенції гіперплазії навіть після лікування, а також відзначає цінність супутніх маркерів – Bcl2, COX2, Ki67 [5]. Деякі автори, зокрема Potapov V.O. та співавт., наголошують на важливості вивчення молекулярних механізмів прогестинової резистентності при НГЕ. У серії публікацій було проаналізовано рецепторний профіль, маркери проліферації (Ki-67), апоптозу (Bcl-2, p53), а також епігенетичні механізми (гіпермодифікації гістонів, метилювання ДНК) [15, 16]. Ці дані дозволяють розглядати рівень експресії PgR і інші молекулярні сигнатури як потенційні маркери прогнозу рецидивування. Деякі автори, зокрема Azeez J.M. (2021) та ін., навіть у пацієнок з ендометріальною внутрішньоепітеліальною неоплазією або раннім ендометріальним раком, продемонстрували порушення співвідношення PgR-A/PgR-B як ранній предиктор резистентності до терапії [17], що також підтримує доцільність вивчення цієї осі у пацієнок із НГЕ. Крім того, WHO у класифікації 2014 року визнає важливість гормонорецепторного статусу при оцінці гіперпластичних процесів [2]. Таким чином, в умовах недостатньої чутливості традиційних морфологічних критеріїв до прогнозування рецидивів, визначення співвідношення PgR-A/PgR-B у жінок репродуктивного віку із НГЕ постає як перспективний інструмент персоналізованої оцінки ризику.

Мета роботи – оцінити прогностичне значення експресії рецепторів прогестерону PgR-A і PgR-B у жінок з гіперплазією ендометрія без атиpii для передбачення відповіді на прогестинову терапію та визначення ризику рецидиву захворювання.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В роботі досліджено матеріал ендометрія, отриманого шляхом діагностичного вишкрібання порожнини матки у 55 жінок з аномальними матковими кровотечами (АМК) у гінекологічному відділенні міської клінічної лікарні № 6 м. Дніпро за період 2022-2024 рр.

in 14–64.7% of cases, creating the need for reliable prognostic markers [4, 5].

The progesterone receptors-particularly their isoforms PgR-A and PgR-B, which differ in transcriptional activity and biological function–play a key role in the pathogenesis and endometrial response to treatment [6, 7]. A reduction in PgR-A expression or predominance of PgR-B is associated with progestin insensitivity and an increased risk of EH recurrence [8–10]. The PgR-A to PgR-B ratio has particular prognostic value-its reduction is associated with a higher likelihood of progestin resistance [11]. Sletten et al. (2019) found that in women with a PgR-A:PgR-B ratio ≤ 1 , the risk of EH recurrence after treatment was 3.5 times higher compared to patients with PgR-A predominance [11]. Similar results were observed in studies assessing low PgR expression in the glandular and stromal components of the endometrium [12, 13].

Meanwhile, in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) a condition often accompanied by irregular menstrual cycles a shifted PgR-A/PgR-B ratio has also been observed, affecting the risk of proliferative changes [14]. A review by Gallos et al. (2013) confirmed that low levels of progesterone receptors are a marker of persistent hyperplasia even after treatment, and also highlighted the value of additional markers–such as Bcl-2, COX-2, and Ki-67 [5].

A number of authors, including Potapov V.O. and colleagues, emphasize the importance of studying the molecular mechanisms of progestin resistance in EH. In a series of publications, they analyzed receptor profiles, proliferation markers (Ki-67), apoptosis markers (Bcl-2, p53), as well as epigenetic mechanisms (histone hypermodification, DNA methylation) [15, 16].

These findings allow for the consideration of PgR expression levels and other molecular signatures as potential markers for recurrence prognosis. Some authors, such as Azeez J.M. et al. (2021) have even demonstrated disruptions in the PgR-A/PgR-B ratio in patients with EIN or early endometrial cancer as an early predictor of therapy resistance [17], further supporting the relevance of studying this axis in patients with EH. Moreover, the WHO classification of 2014 emphasizes the importance of hormone receptor status in the evaluation of hyperplastic processes [2].

Thus, in the context of the limited sensitivity of traditional morphological criteria for predicting recurrences, determining the PgR-A/PgR-B ratio in reproductive-age women with EH emerges as a promising tool for personalized risk assessment.

Objective – to assess the prognostic value of progesterone receptor expression PgR-A and PgR-B in women with endometrial hyperplasia without atypia to predict response to progestin therapy and determine the risk of disease recurrence.

MATERIALS AND METHODS

The work examined endometrial material obtained by diagnostic curettage of the uterine cavity in 55 women with abnormal uterine bleeding (AUB) in the gynecological department of the City Clinical Hospital No. 6 of Dnipro for the period 2022-2024. This study analyzed endometrial

У дослідженні взяли участь 55 пацієнок із ГЕ без атипії віком 35–46 років, середній вік – $38,4 \pm 2,55$ (40 – основна група, 15 – контроль), що мали гіперплазію ендометрія без атипії, або секреторні зміни ендометрія за результатами гістологічного дослідження; середній індекс маси тіла складав $27,83 \pm 1,96$ кг/м². Серед жінок основної групи у 22 було верифіковано просту неатипову гіперплазію ендометрія (ПНГЕ), у 18 – комплексну неатипову гіперплазію (КНГЕ). Критеріями виключення жінок з дослідження були: наявність запальних захворювань органів малого таза, пухлина патологія матки і яєчників, ендометріоз матки, тяжка соматична патологія, будь-яка форма ендокринопатії та метаболічного синдрому. Дизайн дослідження та всі діагностично-лікувальні методики використані в дослідженні, були схвалені комісією з питань біомедицини етики Дніпровського Державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (Протокол № 1 від 16.01.2017 р.) та проведені згідно з письмовою згодою учасників і відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)».

Зразки ендометрія фіксованих у формаліні і залиті парафіном були взяті з архіву Комунального закладу «Дніпровська клінічна лікарня № 9 Дніпропетровської обласної ради». Парафінові зрізи 4–5 мкм були отримані на мікротомі Microm HM-340 і забарвлені за стандартною методикою гематоксиліном та еозином (Г-Е) [7]. Мікроскопія проводилась за допомогою світлового мікроскопа ZEISS «Primo Star» (об'єктиви $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$).

Імуногістохімія проводилася антитілами PgR-A (клон 16) та PgR-B (LET-126/SAN27). Експресію визначали за H-score (інтенсивність $\times$ % ядер). Статистична обробка: t-тест та χ^2 , $p < 0,05$ вважався вірогідним.

Було проведено проспективне дослідження у 55 пацієнок репродуктивного віку (35–46 років) з аномальними маточними кровотечами (АМК). За результатами гістологічного дослідження у 40 пацієнок була діагностована гіперплазія ендометрія без атипії. Контрольну групу склали 15 жінок, у яких за результатами дослідження була виявлена трансформація ендометрія, що відповідає фазі менструального циклу. Проведено імуногістохімічне дослідження експресії рецепторів до естрогенів та прогестерону в гістологічних блоках ендометрія. Для дослідження використовували набори реагентів і моноклональних антитіл клітинних маркерів фірми LabVision, DAKO. Всі пацієнтки отримували лікування мікронізованим прогестероном у дозі 400 мг/добу в безперервному режимі упродовж 6 міс. з подальшим гістологічним дослідженням ендометрія шляхом вишкрібання порожнини матки в пізню секреторну фазу та повторним імуногістохімічним дослідженням експресії рецепторів до прогестерону.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою Microsoft Excel (Office Home Business 2KB4Y-6H9DB-BM47K-749PV-PG3KT) та програмного продукту Statistica 6.1 (StatSoftInc, серійний № AGAR909E415822FA). Аналіз отриманих даних з оцінкою статистичної вірогідності відмінностей проводився за допомогою пара- та непараметричних

tissue obtained through diagnostic biopsy from 55 women with abnormal uterine bleeding (AUB) at the Gynaecology Department of Municipal Clinical Hospital No. 6 in Dnipro during the period 2022–2023. The study included 55 patients aged 35–46 years diagnosed with endometrial hyperplasia without atypia (EH), among whom 40 formed the main group and 15 served as the control group. The mean age was 38.4 ± 2.55 years. Histological findings showed either endometrial hyperplasia without atypia or secretory endometrial changes. The average body mass index (BMI) was 27.83 ± 1.96 kg/m².

Exclusion criteria included: presence of pelvic inflammatory disease, uterine or ovarian tumors, uterine endometriosis, severe somatic disorders, any form of endocrinopathy, and metabolic syndrome.

The study design and all diagnostic and therapeutic procedures were approved by the Biomedical Ethics Committee of the Dnipro State Medical University (Protocol No. 1 dated 16.01.2017) and were conducted in accordance with the written informed consent of participants, as well as the ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki ("Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects") and the "Universal Declaration on Bioethics and Human Rights" (UNESCO).

Formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) endometrial samples were obtained from the archive of the Municipal Institution "Dnipro Clinical Hospital No. 9 of the Dnipro Regional Council". Paraffin sections of 4–5 μ m were prepared using a Microm HM-340 microtome and stained with hematoxylin and eosin (H&E) using standard histological protocols [7]. Light microscopy was performed using a ZEISS Primo Star microscope (objectives $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$).

Immunohistochemistry was carried out using antibodies against PgR-A (clone 16) and PgR-B (LET-126/SAN 27). Expression was assessed using the H-score method (intensity $\times$ % of stained nuclei). Statistical analysis: t-test and χ^2 ; $p < 0.05$ was considered significant.

A prospective study was conducted among 55 reproductive-age women (35–46 years old) with AUB. Histological analysis confirmed endometrial hyperplasia without atypia in 40 patients. The control group consisted of 15 women whose endometrial samples showed physiological transformation corresponding to the phase of the menstrual cycle. Immunohistochemical analysis was performed to assess the expression of estrogen and progesterone receptors in endometrial histological blocks.

Reagent kits and monoclonal antibodies specific to cellular markers were obtained from LabVision and DAKO. All patients received treatment with micronized progesterone at a dose of 400 mg/day continuously for six months. Follow-up endometrial sampling was performed during the late secretory phase via uterine curettage, followed by repeated immunohistochemical evaluation of progesterone receptor expression.

Statistical processing of the results was carried out using Microsoft Excel (Office Home Business 2KB4Y-6H9DB-BM47K-749PV-PG3KT) and the software product Statistica 6.1 (StatSoftInc, serial number AGAR909E415822FA). Analysis of the obtained data with assessment of statistical probability of differences was carried out using para- and non-parametric statistical methods. The

методів статистики. Критичне значення рівня статистичної значущості під час перевірки усіх нульових гіпотез приймалося як 0,05 (5%) t-тест та χ^2 , $p < 0,05$ вважався вірогідним [18].

critical value of the level of statistical significance when testing all null hypotheses was taken as 0.05 (5%) t-test and χ^2 , $p < 0.05$ was considered reliable [18].

РЕЗУЛЬТАТИ

За результатами імуногістохімічного дослідження експресії прогестеронових рецепторів (PgR) в залозах і стромі ендометрія у жінок до і після проведеної терапії протягом 6 міс. з використанням 400 мг мікронізованого прогестерону в безперервному режимі з відсутністю ефекту від проведеної терапії, на відміну від жінок з ефективною відповіддю, спостерігалось зниження експресії рецепторів PgR-A до рівнів, що були на 65% нижчими у порівнянні з контрольною групою (рис. 1).

RESULTS

According to the results of immunohistochemical study of progesterone receptor (PgR) expression in the glands and stroma of the endometrium in women before and after 6 months of therapy using 400 mg of micronized progesterone in a continuous regimen with no effect from the therapy, in contrast to women with an effective response, a decrease in PgR-A receptor expression was observed to levels that were 65% lower compared to the control group (Fig. 1).

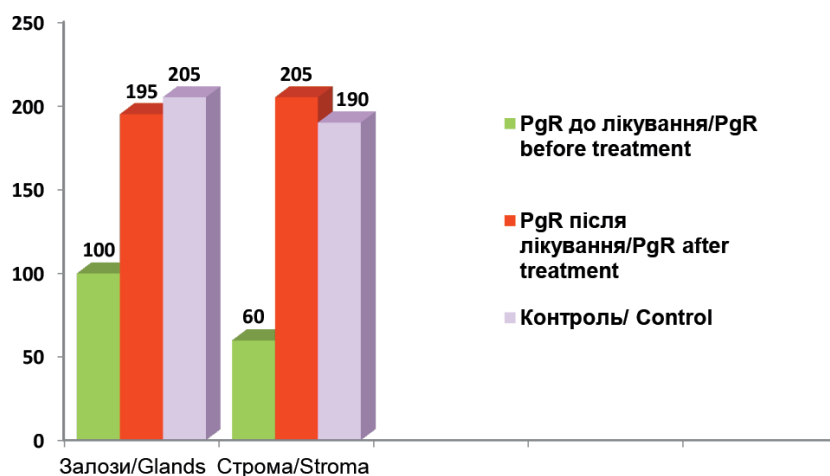


Рис. 1. Експресія рецепторів до прогестерону (PgR) у жінок з ГЕ при відсутності ефекту від лікування прогестинами
Fig. 1. Expression of progesterone receptors (PgR) in women with GE in the absence of effect from progestin treatment

у результаті проведеного лікування було виявлено зниження відношення залоз ендометрія до стромі, зменшення кількості залозистого епітелію. Після проведеного лікування мікронізованим прогестероном, за результатами морфологічного дослідження вишкрібів ендометрія, у всіх 15 жінок контрольної групи (100%) відбулася регресія гіперплазованого ендометрія і спостерігалася гістологічна нормалізація співвідношення стромального й епітеліального компонентів. Експресія рецепторів та співвідношення рецепторів до прогестерона (PgR-A і PgR-B) у жінок цієї групи була взята як контрольне значення для визначення змін у жінок основної групи.

У пацієнок із простою (ПНГЕ) та комплексною (КНГЕ) неатиповою гіперплазією спостерігалася низька експресія PgR-A, значення H-score становили $4,0 \pm 0,41$ та $5,1 \pm 0,31$ відповідно у залозах, і $3,6 \pm 0,71$ та $3,3 \pm 0,61$ у стромі. Це відповідає даним Sletten et al., які виявили, що низький PgR-A є значущим предиктором рецидиву ($p = 0,013$ у залозах, $p < 0,001$ у стромі). Контрольна група характеризувалася значно вищою експресією PgR-A: $15,2 \pm 1,2$ у залозах і $60,8 \pm 1,6$ у стромі, що у 3–18 разів перевищує значення у групах з ГЕ (Табл. 1).

Following treatment, histological analysis showed a decrease in the gland-to-stroma ratio of the endometrium, along with a reduction in glandular epithelium. In all 15 women from the control group (100%), micronized progesterone therapy resulted in regression of hyperplastic endometrium and histological normalization of the stromal-to-epithelial component ratio. The PgR-A and PgR-B expression levels in this group were used as reference values for evaluating changes in the main group.

Patients with simple (PNGE) and complex (CNGGE) atypical hyperplasia had low PgR-A expression, with H-scores of 4.0 ± 0.41 and 5.1 ± 0.31 in the glands, and 3.6 ± 0.71 and 3.3 ± 0.61 in the stroma, respectively. This is consistent with Sletten et al., who found that low PgR-A was a significant predictor of recurrence ($P = 0.013$ in the glands, $P < 0.001$ in the stroma). The control group had significantly higher PgR-A expression: 15.2 ± 1.2 in the glands and 60.8 ± 1.6 in the stroma, which is 3–18 times higher than in the GE groups (Table 1).

Таблиця 1. Дослідження експресії рецепторів до прогестерону (PgR-A і PgR-B) у жінок репродуктивного віку з простою та комплексною ГЕ без атипії (M±m)
Table 1. Study of progesterone receptor expression (PgR-A and PgR-B) in women of reproductive age with simple and complex GE without atypia (M±m)

Експресія рецепторів, % Receptor expression, %		До лікування Before treatment (n = 40)		Після лікування After treatment (n = 40)		Контрольна Control n = 15
		ПНГЕ, SNEH n = 26	КНГЕ, CNEH n = 14	ПНГЕ, SNEH n = 26	КНГЕ, CNEH n = 14	
PgR-A	Залози / Glands	4,0 ± 0,4 ¹	5,1 ± 0,3 ¹	6,1 ± 0,7 ¹	7,7 ± 0,7 ¹	15,2 ± 1,2
	Строма / Stroma	3,6 ± 0,7 ¹	3,3 ± 0,6 ¹	5,1 ± 0,9 ²	8,2 ± 0,4 ¹	60,8 ± 1,6
PgR-B	Залози / Glands	75,6 ± 6,4 ²	89,9 ± 7,6 ²	73,6 ± 5,4 ¹	91,1 ± 6,7 ¹	25,2 ± 1,3
	Строма / Stroma	120,4 ± 11,5 ¹	123,4 ± 9,2 ²	115,6 ± 8,5 ¹	119,7 ± 8,2	155,3 ± 16,5

Примітки / Notes:

- ¹ – значення вірогідне (p < 0,05) в порівнянні з контрольною групою;
² – значення вірогідне (p < 0,001) в порівнянні з контрольною групою.
¹ – value is significant (p < 0.05) compared to the control group;
² – value is significant (p < 0.001) compared to the control group.

Рівень PgR-B був високим: 75,6 ± 6,42 і 89,9 ± 7,62 у залозах, 120,4 ± 11,51 і 123,4 ± 9,22 у стромі для ПНГЕ та КНГЕ відповідно. Це суттєво перевищує показники контролю (25,2 ± 1,3 у залозах, 155,3 ± 16,5 у стромі), що узгоджується з іншими дослідженнями, де значення H-score PgR-B вище у пацієток з рецидивом (p = 0,001 у залозах).

У групі ПНГЕ PgR-A підвищився до 6,1 ± 0,71 (залози) та 5,1 ± 0,92 (stroma). У групі КНГЕ PgR-A зріс до 7,7 ± 0,71 (залози) і 8,2 ± 0,41 (stroma). Ці дані підтверджують відновлення рецепторного балансу PgR-A, що класифікується як покращення гормональної чутливості. У залозистому епітелії PgR-B незначно зменшився у групі ПНГЕ (до 73,6 ± 5,41), тоді як у КНГЕ зберігся високим (91,1 ± 6,71). У стромі показники майже не змінилися: 115,6 ± 8,51 (ПНГЕ), 119,7 ± 8,20 (КНГЕ). Це корелює з результатами Орбо та співавт. (2010), які зазначили зниження експресії як PgR-A, так і PgR-B після терапії ЛНГ ВМС, але зі збереженням домінування PgR-B у деяких пацієнток.

Співвідношення PgR-A:PgR-B <0,1 у залозистому епітелії до терапії свідчить про гормонорезистентний фенотип. Після лікування зростання PgR-A, особливо в КНГЕ, дозволяло співвідношенню перевищити 1, що розцінюється як біомаркер рецепторної нормалізації та ефективної терапії. Після терапії рівень PgR-A зріс, особливо у КНГЕ, що дозволяє співвідношенню досягти рівнів >1 – біомаркер нормалізації рецепторного балансу. Такий баланс підкріплений даними Sletten et al., що PgR-A:PgR-B ≥1 асоціюється з кращою відповіддю, а ≤1 – зі збільшеним ризиком рецидиву (71% проти 19%, p < 0,001). PgR-A виявився найвищим у залозах і стромі, тоді як PgR-B був відносно низьким у залозах. Цей профіль відповідає нормальній рецепторній чутливості і стабільному гормональному статусу здорового ендометрія.

На підставі проведеного дослідження експресії ізоформ рецепторів до прогестерону (PgR-A та PgR-B) у жінок репродуктивного віку з гіперплазією ендометрія без атипії встановлено вірогідну зміну рівнів рецепторної експресії залежно від морфологічного типу патології та наявності лікування. До лікування

PgR-B expression remained high: 75.6 ± 6.42 and 89.9 ± 7.62 in glands, and 120.4 ± 11.51 and 123.4 ± 9.22 in the stroma for simple non-atypical endometrial hyperplasia (SNEH) and complex non-atypical endometrial hyperplasia (CNEH), respectively. These values were significantly higher than in the control group (25.2 ± 1.3 in glands, 155.3 ± 16.5 in stroma), aligning with findings from other studies showing higher PgR-B H-scores in patients with recurrence (p = 0.001 in glands).

In the SNEH group, PgR-A increased to 6.1 ± 0.71 (glands) and 5.1 ± 0.92 (stroma), while in the CNEH group, PgR-A rose to 7.7 ± 0.71 and 8.2 ± 0.41, respectively. These changes indicate restoration of PgR-A levels, which is classified as an improvement in hormonal sensitivity. In glandular epithelium, PgR-B slightly decreased in the SNEH group (to 73.6 ± 5.41), while remaining high in the CNEH group (91.1 ± 6.71). Stromal levels showed minimal change: 115.6 ± 8.51 (SNEH), 119.7 ± 8.20 (CNEH). These findings correlate with results by Orbo et al. (2010), who reported decreased expression of both PgR-A and PgR-B following LNG-IUS therapy, but with persistent PgR-B dominance in some cases.

A PgR-A:PgR-B ratio of <0.1 in glandular epithelium before therapy indicates a hormone-resistant phenotype. After treatment, the increase in PgR-A, especially in the CNEH, allowed the ratio to exceed 1, which is considered a biomarker of receptor normalization and effective therapy. Before therapy, PgR-A values <0.1 in the glandular epithelium likely indicated a hormone-resistant phenotype. After therapy, PgR-A levels increased, especially in the CNEH group, allowing the PgR-A/PgR-B ratio to reach values >1 – a biomarker of receptor balance normalization. This balance is supported by findings from Sletten et al., where PgR-A:PgR-B ≥1 was associated with better therapeutic response, while ≤1 correlated with a higher recurrence risk (71% vs 19%, p < 0.001). PgR-A was highest in glands and stroma, whereas PgR-B remained relatively low in glands – consistent with the receptor profile of hormonally responsive, healthy endometrium.

Based on the analysis of PgR-A and PgR-B isoform expression in reproductive-aged women with non-atypical

у групі з простою неатиповою гіперплазією ендометрія спостерігалася знижена експресія PgR-A в залозистому ($4,0 \pm 0,41\%$) та стромальному ($3,6 \pm 0,71\%$) компонентах, що свідчить про порушення прогестеронової рецепторної відповіді. У групі з комплексною неатиповою гіперплазією рівень PgR-A був дещо вищим, особливо в залозах ($5,1 \pm 0,31\%$), що може вказувати на відмінності у механізмах прогестеронорезистентності.

Після проведення лікування в обох клінічних групах було зафіксовано статистично значуще підвищення експресії PgR-A, з найбільш вираженим зростанням у стромі при КНГЕ (до $8,2 \pm 0,41\%$), що може свідчити про позитивний вплив терапії на рецепторну чутливість тканин ендометрія до прогестерону. Водночас експресія PgR-B залишалася стабільно високою як до, так і після лікування в усіх досліджуваних групах, з піковими значеннями в стромі (до $123,4 \pm 9,22\%$ у КНГЕ до лікування), що вірогідно перевищувало показники контрольної групи ($155,3 \pm 16,5\%$). Така картина може свідчити про наявність тривалих дизрегуляцій у сигнальних шляхах прогестерону, не повністю скоригованих стандартною терапією.

У таблиці 2 надано результати визначення експресії рецепторів PgR-A, PgR-B (H-score) та їх співвідношення у трьох групах пацієнток: з гіперплазією ендометрія до лікування, після 6-місячної прогестинової терапії, а також у жінок із морфологічно нормальним ендометрієм (контрольна група).

Отримані результати демонструють, що до початку лікування у пацієнток із гіперплазією ендометрія спостерігалася низька експресія PgR-A ($40 \pm 2,54$) при високій експресії PgR-B ($80 \pm 1,7$), що зумовлювало низьке співвідношення $\text{PgR-A/PgR-B} = 0,5$. Такий рецепторний профіль відповідає гормонорезистентному фенотипу.

Після 6-ти місяців терапії прогестинами у пацієнток, які досягли нормалізації ендометрія, було зафіксовано достовірне підвищення PgR-A до $80 \pm 3,55$ при дещо зниженому PgR-B ($60 \pm 3,85$), що призвело до зростання співвідношення PgR-A/PgR-B до 1,33. Це вказує на відновлення рецепторного балансу.

У контрольній групі (морфологічно нормальний ендометрій) експресія PgR-A і PgR-B також залишалася високою ($100 \pm 1,7$ та $90 \pm 1,21$ відповідно), з фізіологічним співвідношенням $\text{PgR-A/PgR-B} = 1,11$, що характерне для чутливого до прогестерону ендометрія.

Таким чином, співвідношення $\text{PgR-A/PgR-B} \geq 1$ може розглядатися як надійний біомаркер ефективності гормонального лікування та сприятливого прогнозу щодо ризику рецидиву гіперплазії ендометрія. Ці дані узгоджуються з сучасними міжнародними рекомендаціями [1–3], підтверджуючи доцільність оцінки експресії PgR-A і PgR-B у клінічній практиці для індивідуалізації тактики ведення пацієнток з гіперплазією ендометрія без атиpii.

При аналізі рецепторної активності в пацієнток з гіперплазією ендометрія без атиpii було здійснено порівняння експресії PgR-A та PgR-B у підгрупах з простою та комплексною неатиповою гіперплазією ендометрія. Результати свідчать про наявність суттєвих відмінностей у рецепторному профілі між цими формами патології.

endometrial hyperplasia, significant changes in receptor levels were found depending on the histological type of the pathology and the treatment status. Before treatment, the SNEH group showed reduced PgR-A expression in both the glandular ($4.0 \pm 0.41\%$) and stromal ($3.6 \pm 0.71\%$) compartments, indicating impaired progesterone receptor response. In the CNEH group, PgR-A levels were slightly higher, particularly in the glands ($5.1 \pm 0.31\%$), suggesting possible differences in mechanisms of progesterone resistance.

Following treatment, both clinical groups demonstrated a statistically significant increase in PgR-A expression, with the most prominent increase observed in the stroma of the CNEH group (up to $8.2 \pm 0.41\%$), reflecting a positive impact of therapy on endometrial receptor sensitivity to progesterone. Meanwhile, PgR-B expression remained consistently high both before and after treatment across all study groups, peaking in the stroma (up to $123.4 \pm 9.22\%$ in CNEH before therapy), significantly exceeding the levels seen in the control group ($155.3 \pm 16.5\%$). This pattern may indicate persistent dysregulation of progesterone signaling pathways not fully corrected by standard therapy.

Table 2 presents the results of determining the expression of PgR-A, PgR-B receptors (H-score) and their ratio in three groups of patients: with endometrial hyperplasia before treatment, after 6 months of progestin therapy, as well as in women with morphologically normal endometrium (control group).

The results obtained demonstrate that before the start of treatment, patients with endometrial hyperplasia had low expression of PgR-A (40 ± 2.54) with high expression of PgR-B (80 ± 1.7), which resulted in a low ratio of $\text{PgR-A/PgR-B} = 0.5$. Such a receptor profile corresponds to a hormone-resistant phenotype.

After 6 months of progestin therapy in patients who achieved endometrial normalization, a significant increase in PgR-A to 80 ± 3.55 was recorded with a slightly decreased PgR-B (60 ± 3.85), which led to an increase in the PgR-A/PgR-B ratio to 1.33. This indicates the restoration of receptor balance.

In the control group (morphologically normal endometrium), the expression of PgR-A and PgR-B also remained high (100 ± 1.7 and 90 ± 1.21 , respectively), with a physiological ratio of $\text{PgR-A/PgR-B} = 1.11$, which is characteristic of progesterone-sensitive endometrium.

Thus, the ratio of $\text{PgR-A/PgR-B} \geq 1$ can be considered a reliable biomarker of the effectiveness of hormonal treatment and a favorable prognosis regarding the risk of recurrence of endometrial hyperplasia. These data are consistent with current international recommendations [1–3], confirming the feasibility of assessing PgR-A and PgR-B expression in clinical practice to individualize the management of patients with endometrial hyperplasia without atypia.

When analyzing receptor activity in patients with endometrial hyperplasia without atypia, a comparison of PgR-A and PgR-B expression was made in subgroups with simple (PNHE) and complex atypical endometrial hyperplasia (CANGE). The results indicate the presence of significant differences in the receptor profile between these forms of pathology.

У пацієнток з ПНГЕ середній рівень експресії PgR-A становив $42,2 \pm 1,92$, з 95% довірчим інтервалом (CI) [39,8; 44,6], тоді як у групі КНГЕ – значно нижчий: $31,6 \pm 2,70$ (95% CI [28,2; 35,0]). Різниця між групами була статистично значущою (ANOVA: $p = 0,000097$), що підтверджує зниження рівня PgR-A як потенційного маркера прогресування гіперпластичних процесів.

У свою чергу експресія PgR-B була достовірно вищою у групі КНГЕ ($85,2 \pm 1,92$, 95% CI [82,8; 87,6]) порівняно з ПНГЕ ($77,8 \pm 1,92$, 95% CI [75,4; 80,2]), що також може свідчити про збереження проліферативного потенціалу в більш тяжких морфологічних формах.

Аналіз кореляції між PgR-A та PgR-B продемонстрував різноспрямовані зв'язки у двох підгрупах: для ПНГЕ – слабка позитивна кореляція ($r = 0,08$), тоді як для КНГЕ спостерігалася сильна негативна залежність ($r = -0,80$). Така інверсна асоціація у групі КНГЕ може вказувати на втрату рецепторного балансу, що ймовірно зумовлює резистентність до прогестинів і підвищену ймовірність рецидиву або прогресії захворювання.

Отримані дані дозволяють розглядати співвідношення PgR-A/PgR-B, зокрема зниження PgR-A та переважання PgR-B, як додаткові маркери агресивнішого перебігу гіперпластичних процесів ендометрія та резистентності до гормональної терапії.

In patients with PNHE, the mean level of PgR-A expression was 42.2 ± 1.92 , with a 95% confidence interval (CI) [39.8; 44.6], while in the KNGE group it was significantly lower: 31.6 ± 2.70 (95% CI [28.2; 35.0]). The difference between the groups was statistically significant (ANOVA: $p = 0.000097$), which confirms the decrease in the level of PgR-A as a potential marker of progression of hyperplastic processes.

In turn, the expression of PgR-B was significantly higher in the KNGE group (85.2 ± 1.92 , 95% CI [82.8; 87.6]) compared to the PNGE group (77.8 ± 1.92 , 95% CI [75.4; 80.2]), which may also indicate the preservation of proliferative potential in more severe morphological forms.

Correlation analysis between PgR-A and PgR-B demonstrated multidirectional relationships in two subgroups: for PNGE – weak positive correlation ($r = 0.08$), while for KNGE a strong negative dependence was observed ($r = -0.80$). Such an inverse association in the KNGE group may indicate a loss of receptor balance, which probably causes resistance to progestins and an increased likelihood of relapse or progression of the disease.

The obtained data allow us to consider the PgR-A/PgR-B ratio, in particular a decrease in PgR-A and a predominance of PgR-B, as additional markers of a more aggressive course of endometrial hyperplastic processes and resistance to hormonal therapy.

Таблиця 2. Експресія рецепторів PgR-A, PgR-B (H-score)

та їх співвідношення в трьох групах пацієнток з гіперплазією ендометрія: до лікування та після 6-ти місяців прогестинів

Table 2. Expression of PgR-A, PgR-B receptors (H-score)

and their ratio in three groups of patients with endometrial hyperplasia: before treatment and after 6 months of progestins

Група/Groups	PgR-A H-score	PgR-B H-score	PgR-A/PgR-B Ratio
Рецидив ГЕ (до лікування) / GE recurrence (before treatment)	$40 \pm 2,54$	$80 \pm 1,7$	0,50
Нормалізація (після 6 міс.) / Normalization (after 6 months)	$80 \pm 3,55$	$60 \pm 3,85$	1,33
Контроль (нормальний ендометрій) / Control (normal endometrium)	$100 \pm 1,7$	$90 \pm 1,21$	1,11

Експресія прогестеронових рецепторів (PgR total, PgR-A, PgR-B) у тканинах ендометрія при різних типах гіперплазії залежно від чутливості до дії прогестинів, представлено на рис. 2.

На рис. 2 і таблиці 3 представлено імуногістохімічне забарвлення прогестеронових рецепторів при ГЕ з різним типом чутливості до терапії в порівнянні з еутопічним ендометрієм (ЕЕ).

Expression of progesterone receptors (PgR total, PgR-A, PgR-B) in endometrial tissues with different types of hyperplasia depending on sensitivity to the action of progestins is presented in Fig. 2.

Fig. 2 and Table 3 present the immunohistochemical staining of progesterone receptors in GE with different types of sensitivity to therapy compared with eutopic endometrium (EE).

Таблиця 3. Експресія прогестеронових рецепторів

у різних видах гіперплазії без атипії (ГЕ+, ГЕ-) та еутопічному ендометрії (ЕЕ)

Table 3. Expression of progesterone receptors

in different types of hyperplasia without atypia (GE+, GE-) and eutopic endometrium (EE)

Тип НГЕ PgR рецептори	PgR total	PgR-A	PgR-B
ГЕ- GE-	–	–	+/-
ГЕ+ GE+	+	++	++
ЕЕ	+++	+++	+

Примітки / Notes:

– – відсутність/мінімальна експресія;
+ – слабка;
++ – помірна;
+++ – висока.

– – absent/minimal expression;
+ – weak;
++ – moderate;
+++ – high.

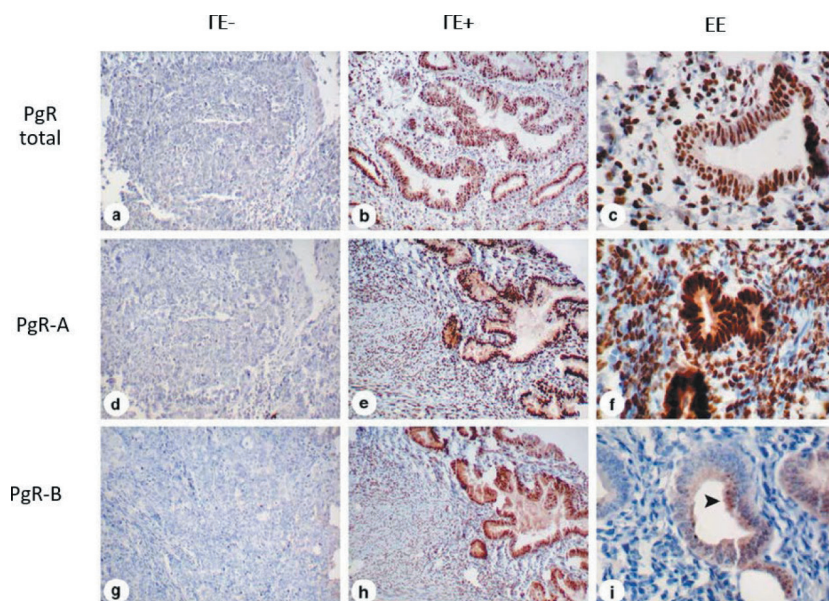


Рис 2. Експресія прогестеронових рецепторів (PgR total, PgR-A, PgR-B) у тканинах ендометрія при різних типах гіперплазії залежно від чутливості до дії прогестинів. Імуногістохімічне забарвлення з використанням антитіл до рецепторів прогестерону (LabVision, DAKO. Збільш. x 400) **a** – дуже низька експресія загальних прогестеронових рецепторів (PgR total) у тканині гіперплазованого ендометрія без відповіді на терапію (ГЕ–); відсутнє ядерне забарвлення. **b** – помірна позитивна експресія PgR total у залозах при гіперплазії після лікування прогестинами (ГЕ+); відзначається чітке ядерне забарвлення. **c** – інтенсивна експресія PgR total у контрольному ендометрії (ЕЕ); типове ядерне забарвлення залозистого епітелію. **d** – низький рівень PgR-A у гіперплазованому ендометрії без ефекту лікування (ГЕ–); відсутність специфічного забарвлення. **e** – підвищення експресії PgR-A у відповідь на терапію прогестинами (ГЕ+); виражене ядерне забарвлення епітелію. **f** – висока експресія PgR-A у контрольному ендометрії (ЕЕ); чітке інтенсивне забарвлення ядер залоз. **g** – помірна експресія PgR-B у тканині ГЕ–; фрагментарне слабке ядерне забарвлення. **h** – значне підвищення PgR-B після лікування (ГЕ+); дифузне ядерне забарвлення у залозах. **i** – контрольна тканина (ЕЕ); чітке позитивне забарвлення PgR-B у залозистому епітелії (вказано стрілкою)

Fig. 2. Expression of progesterone receptors (PgR total, PgR-A, PgR-B) in endometrial tissues with different types of hyperplasia depending on sensitivity to progestins. Immunohistochemical staining using antibodies to progesterone receptors (LabVision, DAKO. Magnification x 400). **a** – very low expression of total progesterone receptors (PgR total) in hyperplastic endometrial tissue without response to therapy (GE–); no nuclear staining. **b** – moderate positive expression of PgR total in glands with hyperplasia after treatment with progestins (GE+); clear nuclear staining is noted. **c** – intense expression of PgR total in control endometrium (EE); typical nuclear staining of glandular epithelium. **d** – low level of PgR-A in hyperplastic endometrium without effect of treatment (GE–); no specific staining. **e** – increased PgR-A expression in response to progestin therapy (GE+); pronounced nuclear staining of the epithelium. **f** – high PgR-A expression in the control endometrium (EE); clear intense staining of the glandular nuclei. **g** – moderate PgR-B expression in the GE– tissue; fragmentary weak nuclear staining. **h** – significant increase in PgR-B after treatment (GE+); diffuse nuclear staining in the glands. **i** – control tissue (EE); clear positive PgR-B staining in the glandular epithelium (indicated by the arrow)

При гормонорезистентній формі ГЕ (ГЕ–) спостерігалася майже повна втрата рецепторної експресії (PgR total, PgR-A, PgR-B), що свідчить про гормонорезистентний стан. Відсутність PgR-A особливо показова – PgR-A є ключовим репресором PgR-B та основним детермінантом ефективної реакції на прогестини. При гормоночутливій формі ГЕ (ГЕ+) можна побачити яскраве підвищення експресії PgR total і PgR-A після терапії, це свідчить про реактивацію прогестеронових шляхів – молекулярно підтверджує відновлення рецепторної функції.

Як приклад і для порівняння в еутопічному ендометрії (ЕЕ), можна побачити природний рецепторний профіль (висока PgR total і PgR-A з помірною PgR-B), що демонструє фізіологічне співвідношення ізоформ. Із проведеного дослідження можна зробити висновок, що низька експресія PgR total і PgR-A у ГЕ, є маркером гормонорезистентності, що корелює з ризиком рецидиву. Після терапії з застосуванням 400 мг прогестерону упродовж 6-ти місяців спостерігається активація PgR-A (до ++) у ГЕ+ підтверджує, що PgR-A є ключовим для відповіді на лікування. PgR-B у ГЕ+

In the hormone-resistant form of endometrial hyperplasia (EH–), there was an almost complete loss of receptor expression (PgR total, PgR-A, PgR-B), indicating a state of hormonal resistance. The absence of PgR-A is particularly significant – PgR-A functions as a key repressor of PgR-B and is a major determinant of an effective progestin response. In the hormone-sensitive form of EH (EH+), a pronounced increase in PgR total and PgR-A expression after therapy suggests reactivation of progesterone signaling pathways – a molecular confirmation of restored receptor function.

In comparison, eutopic endometrium (EE) demonstrated a physiological receptor profile with high PgR total and PgR-A expression and moderate PgR-B, reflecting normal isoform balance. Based on this study, low PgR total and PgR-A expression in EH– can be considered markers of hormonal resistance and are associated with a higher risk of recurrence. After treatment with 400 mg of progesterone for six months, activation of PgR-A (up to ++) was observed in EH+, confirming that PgR-A is crucial for treatment response. While PgR-B was also activated in EH+, the absence of PgR-A dominance may contribute

теж активується, але без домінанти PgR-A це може сприяти проліферативним процесам – роль PgR-A як репресора PgR-B.

Загалом, після проведеного лікування мікронізованим прогестероном (400 мг/добу протягом 6-ти місяців), за результатами морфологічного дослідження ендометрія, у 37 жінок із 45 (82,2%) відбулася регресія гіперплазованого ендометрія та спостерігалася гістологічна нормалізація співвідношення стромального і епітеліального компонентів.

Серед пацієнток основної групи з рецепторним співвідношенням PgR-A:PgR-B >1 у залозах і стромі після лікування, гістологічна картина була такою: у 3-х жінок (14,3%) діагностовано просту неатипову гіперплазію ендометрія, а у 2-х жінок (4,4%) – комплексну неатипову гіперплазію ендометрія, що вказує на прогресування захворювання. Таким чином, у 5-ти пацієнток (18,7 %) спостерігалася відсутність ефекту від терапії, що дозволяє виділити цю підгрупу як прогестеронрезистентну форму ГЕ без атипії. Для таких пацієнток слід розглядати альтернативні методи лікування.

У пацієнток із співвідношенням PgR-A:PgR-B ≤1 до початку терапії гістологічна нормалізація досягнута лише у 6-ти жінок (29%). У решти спостерігалася така морфологічна структура ендометрія: у 14 жінок (63,7%) – ПНГЕ, а у 8 жінок (36,3%) – КНГЕ. Ця група також характеризувалася низькою експресією PgR-A в залозах ($p = 0,013$) і стромі ($p < 0,001$) та високою експресією PgR-B у залозах ($p = 0,001$), що додатково підтверджує гормонорезистентний фенотип.

Отже, у 18 % жінок з гіперплазією ендометрія без атипії було встановлено відсутність терапевтичного ефекту від мікронізованого прогестерону, що дозволяє ідентифікувати прогестеронорезистентний підтип захворювання, який потребує альтернативного підходу до лікування.

Відзначені особливості рецепторної експресії свідчать про важливу роль PgR-A як чутливого прогностичного маркера ефективності терапії гіперпластичних процесів ендометрія, тоді як стабільно підвищена експресія PgR-B може свідчити про хронізацію або рецидивний перебіг патологічного процесу. Морфологічна форма гіперплазії, особливо комплексна неатипова гіперплазія, асоціюється з вираженішими змінами рецепторного профілю, що необхідно враховувати при індивідуалізації терапевтичної тактики.

ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати демонструють, що експресія рецепторів прогестерону і PgR-B у тканинах ендометрія, має вагомe прогностичне значення для оцінки відповіді на прогестинову терапію у жінок з неатиповою гіперплазією ендометрія. Зокрема, виявлено, що низький рівень PgR-A та співвідношення PgR-A:PgR-B ≤1 до початку лікування асоціюються з високим ризиком неефективності терапії та рецидиву захворювання. Навпаки, підвищення рівня PgR-A після лікування та досягнення співвідношення PgR-A:PgR-B ≥1 корелює з регресією гіперплазії та нормалізацією гістологічної картини.

Ці висновки мають ключове значення для розуміння механізмів гормонорезистентності ендометрія,

to proliferative processes – highlighting the role of PgR-A as a functional repressor of PgR-B.

Overall, after six months of micronized progesterone therapy (400 mg/day for 6 months), regression of endometrial hyperplasia and histological normalization of the stromal-to-epithelial ratio were observed in 37 women (82.2%). Among patients with a PgR-A:PgR-B ratio >1 in glands and stroma, 14.3% were diagnosed with simple non-atypical EH, while 4.4% were diagnosed with complex non-atypical EH (CNEH), indicating disease progression. Thus, approximately 18.7% of women showed no response to micronized progesterone, classifying them as having a progesterone-resistant form of EH without atypia. These patients may require alternative therapeutic strategies.

Among women with a baseline PgR-A:PgR-B ratio ≤1, only 29% achieved histological normalization after treatment. In non-responders, 63.7% were diagnosed with simple EH, and 36.3% with CNEH. This group exhibited low PgR-A expression in glandular ($P = 0.013$) and stromal ($P < 0.001$) compartments, and high PgR-B expression in glands ($P = 0.001$). Of these, 6 women (13.3%) were diagnosed with simple EH, and 2 women (4%) with CNEH, again reflecting disease progression.

In total, about 18% of women showed no benefit from micronized progesterone therapy and may be classified as having progesterone-resistant EH without atypia, necessitating alternative treatment approaches.

The observed features of receptor expression highlight the critical role of PgR-A as a sensitive marker of therapeutic efficacy in endometrial hyperplastic conditions, while sustained PgR-B expression may serve as a potential marker for chronic or recurrent progression. The morphological type of hyperplasia, particularly complex non-atypical, is associated with higher receptor activity, which should be considered when personalizing treatment strategies.

DISCUSSION

The results obtained demonstrate that the expression of progesterone receptors PgR-A and PgR-B in endometrial tissues has a significant prognostic value for assessing the response to progestin therapy in women with atypical endometrial hyperplasia. In particular, it was found that low levels of PgR-A and a PgR-A:PgR-B ratio ≤1 before the start of treatment are associated with a high risk of therapy failure and disease recurrence. On the contrary, an increase in PgR-A levels after treatment and achieving a PgR-A:PgR-B ratio ≥1 correlates with regression of hyperplasia and normalization of the histological picture.

These findings are of key importance for understanding the mechanisms of endometrial hormone resistance,

а також для персоналізації терапевтичного підходу. PgR-A виступає як маркер гормональної чутливості, тоді як стабільно висока експресія PgR-B за низького PgR-A може вказувати на хронічний, резистентний перебіг процесу. Отже, аналіз рецепторного профілю може бути використаний для стратифікації пацієнток за ризиком та вибору альтернативних методів лікування у випадках потенційної резистентності.

Наші результати узгоджуються з даними Sletten та співавт. [10], які продемонстрували, що низький рівень PgR-A пов'язаний із несприятливим прогнозом при гіперплазії ендометрія. Також подібні висновки були отримані в роботах Enfield K et al. [4], де акцентовано на ролі PgR-A як маркера відповіді на терапію. У дослідженні Azeez JM et al. [15] зазначено, що рецепторний дисбаланс PgR-A/PgR-B може впливати на результат лікування навіть за відсутності атипії.

Розбіжності з окремими публікаціями, які не виявляли суттєвого впливу рецепторного статусу на ефективність терапії, можуть бути пов'язані з відмінностями у методиках оцінки імуногістохімічної експресії, різною чутливістю H-score, а також гетерогенністю вибірок (вік, фази циклу, наявність супутньої патології).

На результати могли вплинути також обмеження, пов'язані з відносно невеликим обсягом вибірки та відсутністю стратифікації за фертильністю або фазою менструального циклу. Водночас, є підстави припускати, що тривалість лікування, тип прогестину та індивідуальна чутливість тканин, можуть мати додатковий вплив на рецепторну відповідь, що потребує подальших досліджень.

Таким чином, рецепторний профіль PgR-A/PgR-B може розглядатися як доступний та інформативний інструмент для прогнозування ефективності терапії та вибору оптимальної тактики лікування гіперплазії ендометрія без атипії.

ВИСНОВКИ

Отримані результати підтверджують, що оцінка рецепторного профілю ендометрія, зокрема рівнів експресії PgR-A та PgR-B та їх співвідношення, є ключовим прогностичним маркером ефективності прогестинової терапії у пацієнток з неатиповою гіперплазією ендометрія.

Виявлено, що низький рівень PgR-A (у залозах: $p = 0,013$; у стромі: $p < 0,001$) у поєднанні з підвищеним PgR-B ($p = 0,001$) асоціюється з високим ризиком рецидиву захворювання. Пацієнтки зі співвідношенням PgR-A:PgR-B ≤ 1 до початку лікування мали рецидив у 71 % випадків, тоді як при PgR-A:PgR-B > 1 – лише у 19% ($p < 0,001$).

Прогестинова терапія виявилася малоефективною у пацієнток з рецепторним дисбалансом (PgR-A:PgR-B ≤ 1), що може бути причиною як рецидиву, так і прогресуванню патологічного процесу. Визначення рецепторного статусу до початку лікування дозволяє прогнозувати його ефективність, уникнути нерационального призначення терапії та обрати альтернативну лікувальну тактику.

Вперше було виявлено, що специфічний рецепторний профіль ендометрія – низька експресія PgR-A, підвищена експресія PgR-B та співвідношення

as well as for personalizing the therapeutic approach. PgR-A acts as a marker of hormonal sensitivity, while consistently high PgR-B expression with low PgR-A may indicate a chronic, resistant course of the process. Therefore, the analysis of the receptor profile can be used to stratify patients by risk and select alternative treatment methods in cases of potential resistance.

Our results are consistent with the data of Sletten et al. [10], who demonstrated that low levels of PgR-A are associated with an unfavorable prognosis in endometrial hyperplasia. Similar conclusions were also obtained in the works of Enfield K. et al [4], which emphasized the role of PgR-A as a marker of response to therapy. The study of Azeez JM, et al. [15] indicated that the receptor imbalance of PgR-A/PgR-B can affect the outcome of treatment even in the absence of atypia.

Discrepancies with individual publications that did not show a significant effect of receptor status on the effectiveness of therapy may be due to differences in the methods of assessing immunohistochemical expression, different H-score sensitivity, as well as heterogeneity of the samples (age, cycle phase, presence of concomitant pathology).

The results may also be affected by limitations associated with the relatively small sample size and the lack of stratification by fertility or menstrual cycle phase. At the same time, there are reasons to assume that the duration of treatment, the type of progestin and individual tissue sensitivity may have an additional effect on the receptor response, which requires further research.

Thus, the PgR-A/PgR-B receptor profile can be considered as an accessible and informative tool for predicting the effectiveness of therapy and choosing the optimal treatment tactics for endometrial hyperplasia without atypia.

CONCLUSIONS

The results obtained confirm that the assessment of the endometrial receptor profile, in particular the expression levels of PgR-A and PgR-B and their ratio, is a key prognostic marker of the effectiveness of progestin therapy in patients with atypical endometrial hyperplasia.

It was found that low levels of PgR-A (in glands: $p = 0.013$; in stroma: $p < 0.001$) in combination with increased PgR-B ($p = 0.001$) are associated with a high risk of disease recurrence. Patients with a PgR-A:PgR-B ratio ≤ 1 before the start of treatment had a recurrence in 71% of cases, while with PgR-A:PgR-B > 1 – only in 19% ($p < 0.001$).

Progestin therapy has been shown to be ineffective in patients with receptor imbalance (PgR-A:PgR-B ≤ 1), which can be the cause of both relapse and progression of the pathological process. Determining the receptor status before starting treatment allows predicting its effectiveness, avoiding irrational therapy and choosing alternative treatment tactics.

For the first time, it was found that a specific receptor profile of the endometrium – low expression of PgR-A, increased expression of PgR-B and the ratio of PgR-A:PgR-B ≤ 1 – is a reliable marker of hormone resistance and a high risk of relapse of endometrial

PgR-A:PgR-B ≤ 1 – є достовірним маркером гормонорезистентності та високого ризику рецидиву гіперплазії ендометрія без атиpii. Це відкриття обґрунтовує необхідність рутинного застосування імуногістохімічної оцінки PgR-профілю у клінічній практиці.

Практична значущість дослідження полягає у можливості використання PgR-A/PgR-B-співвідношення як інструменту персоналізації гормональної терапії, що може підвищити її ефективність, зменшити частоту рецидивів і покращити якість життя пацієнток.

hyperplasia without atypia. This discovery justifies the need for routine use of immunohistochemical assessment of the PgR profile in clinical practice.

The practical significance of the study lies in the possibility of using the PgR-A/PgR-B ratio as a tool for personalizing hormonal therapy, which can increase its effectiveness, reduce the frequency of relapses, and improve the quality of life of patients.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гіперплазія Ендометрія. Клінічна настанова, заснована на доказах. Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. 2021. URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/05/2021_869_kn_gipendom_dor.pdf
2. Татарчук Т. Ф., Калугина Л. В., Тутченко Т. Н. Гіперпластичні процеси ендометрія: що нового? *Репродуктивна Ендокринологія*. 2015. №5 (25). С. 7–13. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2015.25.7-13>
3. Piette P. C. M. The pharmacodynamics and safety of progesterone. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. 2020. №69 P. 13–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.06.002>
4. Lv M., Chen P., Bai M., et al. Progesterone Resistance and Corresponding Management of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Cancer. *Cancers*. 2022. №14 (24). P. 6210. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14246210>
5. Gallos I. D., Ganesan R., Gupta J. K. Prediction of Regression and Relapse of Endometrial Hyperplasia with Conservative Therapy. *Obstetrics & Gynecology*. 2013. №121 (6). P. 1165–1171. DOI: <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31828cb563>
6. Diep C. H., Mauro L. J., Lange C. A. Navigating a plethora of progesterone receptors: Comments on the safety/risk of progesterone supplementation in women with a history of breast cancer or at high-risk for developing breast cancer. *Steroids*. 2023. №200. P. 109329. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109329>
7. Enfield K., Avenant C., Hapgood J. P. Progestogens exhibit progesterone-, promoter- and isoform-specific effects via the progesterone receptor. *Steroids*. 2022. №187. P. 109094. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2022.109094>
8. Travaglini A., Raffone A., Saccone G., et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: a systematic review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2019. №98 (9). P. 1086–1099. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.13587>
9. Запорожан В. М., Фетеску С. А. Імуно-морфологічні особливості розвитку гіперпластичних процесів ендометрія. *Репродуктивна Ендокринологія*. 2015. №1 (21). С. 15–18. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2015.21.15-18>
10. Cartwright M., Louw-du Toit R., Jackson H., et al. Progesterone receptor isoform ratios influence the transcriptional activity of progestins via the progesterone receptor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2023. №232. P. 106348. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsmb.2023.106348>
11. Sletten E. T., Arnes M., Lyse L. M., et al. Significance of progesterone receptors (PR-A and PR-B) expression as predictors for relapse after successful therapy of endometrial hyperplasia: a retrospective cohort study. *IJO: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2019. №126 (7). P. 936–943. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15579>
12. Громова О. Л., Потапов В. О., Хасхачих Д. А. та ін. Епігенетичний профіль проліферації ендометрія при різних морфотипах гіперплазії. *Репродуктивна Ендокринологія*. 2021. №1 (57). P. 68–78. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2021.57.68-78>
13. Rocha-Junior C. V., Da Broi M. G., Miranda-Furtado C. L., et al. Progesterone Receptor B (PgR-B) Is Partially Methylated in Eutopic Endometrium From Infertile Women With Endometriosis. *Reproductive Sciences*. 2019. №26 (12). P. 1568–1574. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719119828078>
14. Hu M., Li L., Zhang Y., et al. Endometrial progesterone receptor isoforms in women with polycystic ovary syndrome. *American Journal of Translational Research*. 2018. №10 (8). P. 2696–2705.
15. Потапов В. О., Хасхачих Д. А., Громова О. Л. та ін. Гестагенрезистентні форми гіперплазії ендометрія без атиpii. Молекулярні критерії діагностики та стратегія патогенетичної терапії.

REFERENCE

1. Endometrial hyperplasia. Evidence-based clinical guideline. State Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine. (In Ukrainian). 2021. URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/05/2021_869_kn_gipendom_dor.pdf
2. Tatarchuk TF, Kalugina LV, Tutchenko TN. Hyperplastic processes of the endometrium: what is new? *Reproductive Endocrinology*. 2015;5(25):7–13. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2015.25.7-13>
3. Piette PCM. The pharmacodynamics and safety of progesterone. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. 2020;69:13–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.06.002>
4. Lv M, Chen P, Bai M, Huang Y, Li L, Feng Y, et al. Progesterone Resistance and Corresponding Management of Endometrial Hyperplasia and Endometrial Cancer. *Cancers*. 2022;14(24):6210. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14246210>
5. Gallos ID, Ganesan R, Gupta JK. Prediction of Regression and Relapse of Endometrial Hyperplasia with Conservative Therapy. *Obstetrics & Gynecology*. 2013;121(6):1165–71. DOI: <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31828cb563>
6. Diep CH, Mauro LJ, Lange CA. Navigating a plethora of progesterone receptors: Comments on the safety/risk of progesterone supplementation in women with a history of breast cancer or at high-risk for developing breast cancer. *Steroids*. 2023;200:109329. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109329>
7. Enfield K, Avenant C, Hapgood JP. Progestogens exhibit progesterone-, promoter- and isoform-specific effects via the progesterone receptor. *Steroids*. 2022;187:109094. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2022.109094>
8. Travaglini A, Raffone A, Saccone G, Insabato L, Mollo A, De Placido G, et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: a systematic review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2019;98(9):1086–99. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.13587>
9. Zaporozhan VM, Fetescu SA. Immuno-morphological features of the development of endometrial hyperplastic processes. *Reproductive Endocrinology*. 2015;1(21):15–8. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2015.21.15-18>
10. Cartwright M, Louw-du Toit R, Jackson H, van Vuuren Africander D. Progesterone receptor isoform ratios influence the transcriptional activity of progestins via the progesterone receptor. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2023;232:106348. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsmb.2023.106348>
11. Sletten ET, Arnes M, Lyse LM, Larsen M, Ørbo A. Significance of progesterone receptors (PR-A and PR-B) expression as predictors for relapse after successful therapy of endometrial hyperplasia: a retrospective cohort study. *IJO: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2019;126(7):936–43. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15579>
12. Gromova OL, Potapov VO, Khaskhachykh DA, Finkova OP, Gaponova OV, Kukina GO, et al. Epigenetic profile of endometrial proliferation in the different morphotypes of endometrial hyperplasia. *Reproductive Endocrinology*. 2021;1(57):68–78. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2021.57.68-78>
13. Rocha-Junior CV, Da Broi MG, Miranda-Furtado CL, Navarro PA, Ferriani RA, Meola J. Progesterone Receptor B (PgR-B) Is Partially Methylated in Eutopic Endometrium From Infertile Women With Endometriosis. *Reproductive Sciences*. 2019;26(12):1568–74. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719119828078>
14. Hu M, Li L, Zhang Y, Li X, Brännström M, Shao LR, et al. Endometrial progesterone receptor isoforms in women with polycystic ovary syndrome. *American Journal of Translational Research*. 2018;10(8):2696–705.
15. Potapov VA, Khaskhachykh DA, Gromova AI, Poslavskaya OV, Kukina GO, Garagulya IS. Progesterone-resistant forms of endometrial hyperplasia without atypia: molecular diagnostic

Репродуктивна Ендокринологія. 2025. №2 (77). С. 40–46. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2025.77.40-46>

16. Sanderson P. A., Critchley H. O., Williams A. R., et al. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. *Human reproduction update*. 2017. №23 (2). P. 232–254. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw042>
17. Azeez J. M., Susmi T. R., Remadevi V., et al. New insights into the functions of progesterone receptor (PR) isoforms and progesterone signaling. *American Journal of Cancer Research*. 2021. №11 (11). P. 5214–5232. PMID: 34873457.
18. Антомонов М. Ю. Математична обробка і аналіз медико-біологічних даних. *Медінформ*. 2018. С. 579.

criteria and pathogenetic therapy strategy. *Reproductive Endocrinology*. 2025;2(77):40–6. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2025.77.40-46>

16. Sanderson PA, Critchley HO, Williams AR, Arends MJ, Saunders PT. New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. *Human reproduction update*. 2027;23(2):232–54. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw042>
17. Azeez JM, Susmi TR, Remadevi V, Ravindran V, Sasikumar Sujatha A, Ayswarya RNS, Sreeja S. New insights into the functions of progesterone receptor (PR) isoforms and progesterone signaling. *American Journal of Cancer Research*. 2021;11(11):5214–32.
18. Artomonov MYu. Mathematical Processing and Analysis of Medical and Biological Data. *Medinform*. 2018;579. (In Ukrainian).

Обмеження дослідження

Автори свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Проспективний одноцентровий характер не дає підстав для причинних висновків і зберігає ризик селекційного зміщення та залишкової змішувальної дії, попри використання підходів до контролю змішувальних чинників. Розмір і склад вибірки ($n=55$ жінок репродуктивного віку, середній вік $38,4 \pm 2,55$ років, ІМТ $27,83 \pm 1,96$ кг/м²) обмежують точність оцінок і переносимість результатів, з огляду на особливості маршрутизації пацієнтів і практик надання допомоги в Україні. Для мінімізації впливів стандартизовано вимірювання, проведено навчання оцінювачів, за можливості застосовано засліплення, виконано аналізи чутливості. Узагальнюваність висновків обмежена контекстом; підтвердження потребує проспективних мультицентрових досліджень з обґрунтованим розрахунком потужності, зовнішньою валідацією та дотриманням Належної клінічної практики (Good Clinical Practice – GCP).

Study Limitations

The authors acknowledge that this study has certain limitations related to its design and execution. The prospective single-center nature of the study (Municipal Clinical Hospital № 6, Dnipro) does not allow for causal inferences and carries the risk of selection bias and residual confounding, despite the use of confounding control approaches. The sample size and composition ($n=55$ reproductive-age women, mean age 38.4 ± 2.55 years, BMI 27.83 ± 1.96 kg/m²) limit the precision of estimates and the generalizability of the results, considering the specifics of patient referral pathways and healthcare practices in Ukraine. To minimize bias, measurements were standardized, raters were trained, blinding was applied when feasible, and sensitivity analyses were conducted. The generalizability of the conclusions is context-dependent and requires confirmation in future prospective multicenter studies with adequate power calculations, external validation, and adherence to Good Clinical Practice (GCP) standards.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження доцільно спрямувати на розширення вибірки пацієнток, вивчення епігенетичних механізмів регуляції PgR-A та PgR-B, а також розробку мультифакторних прогностичних моделей з використанням сучасних біоінформативних підходів. Особливу увагу слід приділити пошуку альтернативних методів терапії для пацієнток із прогестин-незалежними формами гіперплазії. Інтеграція імуногістохімічної оцінки рецепторів у клінічну практику може підвищити ефективність індивідуалізованого лікування.

Prospects for further research

Future studies should aim to expand the patient cohort, explore the epigenetic regulation of PgR-A and PgR-B, and develop multifactorial prognostic models using modern bioinformatics approaches. Particular attention should be given to identifying alternative therapeutic options for patients with progestin-independent forms of hyperplasia. Integrating immunohistochemical receptor assessment into routine clinical practice may significantly improve the effectiveness of individualized treatment strategies.

Конфлікт інтересів

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

Conflict of interest

The author declares no actual or potential conflicts of interest related to the findings of this study with any pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, or other organizations whose products, services, or funding may be linked to the subject of the submitted materials.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Інформована згода на участь у дослідженні була отримана від усіх учасників після надання їм зрозумілої, повної та доступної інформації про мету,

Ethics statement

The authors of this manuscript consciously affirm that the study was conducted using data from primary medical records and included clinical observation of patients. The research was performed in accordance with the ethical standards outlined in the Declaration of Helsinki of the World Medical Association on ethical principles for medical research involving human subjects, the European Society Directive 86/609 on the participation of humans in biomedical research, as well as Order No. 690 of the Ministry of Health of Ukraine dated September 23, 2009. Informed consent to participate in the study was obtained from all participants after they were provided with clear, complete, and accessible information regarding the purpose, design, and

дизайн і методологію дослідження, його потенційні ризики, очікувані переваги та можливі альтернативи. Дизайн дослідження та всі діагностично-лікувальні методики використані в дослідженні, були схвалені комісією з питань біомедичної етики Дніпровського Державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (Протокол № 1 від 16.01.2017 р.) та проведені згідно з письмовою згодою учасників і відповідно до принципів біоетики.

methodology of the study, potential risks, expected benefits, and available alternatives. The study design and all diagnostic and therapeutic procedures employed were approved by the Bioethics Committee of the Dnipro State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (Protocol No. 1, dated January 16, 2017) and were conducted in accordance with the principles of bioethics and written informed consent from participants.

Використання штучного інтелекту

Автор рукопису свідомо засвідчує використання інструментів генеративного штучного інтелекту у процесі підготовки цього рукопису. Відповідно до Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*), 2025 р.), за повного людського нагляду було делеговано завдання з вичитування, редагування, та перекладу. Для цього використовувався ChatGPT-5 (OpenAI, версія від червня 2025 р.). Усі результати, отримані за допомогою цього інструменту, були ретельно перевірені, відредаговані та затверджені автором, який несе повну відповідальність за зміст і висновки публікації. Інструменти генеративного штучного інтелекту не зазначаються як автори та не несуть відповідальності за кінцеві результати. Ця декларація не поширюється на використання базових інструментів перевірки граматики, орфографії чи оформлення посилань.

Use of Generative Artificial Intelligence

The author of this manuscript consciously acknowledge the use of generative artificial intelligence tools during the preparation of this manuscript. According to the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025), tasks such as proofreading, editing, and translation were delegated under full human oversight. For these purposes, ChatGPT-5 (OpenAI, version as of June 2025) was used. All outcomes generated by the AI tool were thoroughly reviewed, edited, and approved by the authors, who bear full responsibility for the content and conclusions of the publication. Generative AI tools are not listed as authors and do not hold responsibility for the final results. This declaration does not apply to the use of standard tools for grammar, spelling, or reference formatting checks.

Первинні дані та матеріали

Автор рукопису свідомо засвідчує, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The author of this manuscript consciously affirm that the study is based on the results of their own clinical research, which were systematized and analyzed by the authors. The primary data include generalized patient characteristics, laboratory results, protocols, and obtained quantitative parameters. All materials are archived by the research group and can be made available upon reasonable request to the corresponding author, subject to confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Робота виконана за власні кошти.

Funding information

The study was conducted using personal funds.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Хасхачих Дмитро Анатолійович – кандидат медичних наук, доцент кафедри акушерства та гінекології Дніпровського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Володимира Вернадського, буд. 9, м. Дніпро, Україна, 49044;
e-mail: dodcdhas@gmail.com
моб.: +38(050) 453-00-55

Внесок автора: формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Khaskhachykh Dmytro Anatoliyovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Dnipro State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 9 Volodymyr Vernadsky Str., Dnipro, Ukraine, 49044;
e-mail: dodcdhas@gmail.com
tel: +38(050) 453-00-55

Author's contribution: formulation of the purpose of the work, conducting experimental research, analysis of the obtained data and their statistical processing, selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
26.08.2025

Отримано після рецензування
Received after review
30.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-04>
УДК: 616.3-006:577



Індукція різних шляхів активації білків системи комплементу при аденокарциномі шлунка

Лавінська О.В.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7320-0925>, e-mail: lavinska.ov@gmail.com

Клімова О.М.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-4007-6806>, e-mail: labionhnamnu@gmail.com

Сушков С.В.¹, <http://orcid.org/0000-0002-6951-9789>, e-mail: labionhnamnu@gmail.com

¹Державна установа «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Induction of different pathways of complement system protein activation in gastric adenocarcinoma

Lavinska O.V.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7320-0925>, e-mail: lavinska.ov@gmail.com

Klimova O.M.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0002-4007-6806>, e-mail: labionhnamnu@gmail.com

Sushkov S.V.¹, <http://orcid.org/0000-0002-6951-9789>, e-mail: labionhnamnu@gmail.com

¹State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University
of Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

аденокарцинома шлунка, постковідний синдром, система комплементу, цитотоксичні фракції DAMPs.

Для кореспонденції:

Клімова Олена Михайлівна
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, кафедра молекулярної біології та біотехнології;
майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: labionhnamnu@gmail.com

© Лавінська О.В., Клімова О.М.,
Сушков С.В., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Ріст розповсюдженості онкозахворювань, зокрема аденокарциноми шлунка, спонукає до пошуку прогностичних предикторів цієї небезпечної патології. Відомо, що нестабільність геному, яка споріднена з клітинною трансформацією, різко зросла після пандемії SARS-CoV-2, і особливо у пацієнтів з симптомокомплексом постковідного синдрому. Має місце виражена клінічна гетерогенність у наявності стадії та розповсюдженості пухлинного процесу і виражений поліморфізм спектра порушень імунних показників, асоційовані з певним віком пацієнтів. Відомо, що хронічне запалення є передумовою прогресування онкологічного процесу. Сьогодні для лікування аденокарциноми шлунка в комплексній терапії використовують методи направленої імунотерапії, обмеженої певною кількістю контрольних точок. Для удосконалення підходів до імунотерапії пухлин доцільне подальше вивчення порушень факторів імунореактивності, які можуть сприяти розвитку індукції запальних процесів.

Мета роботи – оцінити вміст центрального компонента С3 і багатофункціонального компонента С4 та загальну гемолітичну активність системи комплементу у різних вікових групах пацієнтів з коморбідним перебігом постковідного синдрому та аденокарциноми шлунка різного ступеня розповсюдженості для прогнозу онкопроцесу і обґрунтування індивідуальних підходів для направленої імунотерапії.

Матеріали та методи. Обстежено 51 хворого на аденокарциному шлунка різної стадії та розповсюдженості. Було виділено три вікові групи пацієнтів: група 1 (n = 17, середній вік 51,5 ± 3,6 року); група 2 (n = 12, середній вік 64,1 ± 2,5 року); група 3 (n = 22, середній вік 73,7 ± 3,1 року). Використано методи: імунотурбидиметрія (визначення концентрації С3- та С4-компонентів комплементу); спектрофотометрія (визначення гемолітичної активності комплементу, концентрації циркулюючих імунних комплексів та цитотоксичних фракцій DAMPs).

Результати. Білки комплементу С3 і С4, як головні ефектори вродженого імунітету, по-різному впливають на пухлинний процес від його інгібування до активації. У всіх вікових групах пацієнтів з різною стадією аденокарциноми шлунка виявили значне збільшення С3-компонента комплементу, що свідчило про активацію альтернативного шляху комплементу і наявність запального процесу, який сприяє розвитку онкопатології. В 2-й віковій групі виявили підвищення концентрації С3 і зниження концентрації С4 компонента комплементу за рахунок його споживання, що є негативним фактором; підвищення концентрації С4 (групи 1 та 3) є позитивним прогностичним фактором. Але у всіх пацієнтів виявили зниження функціональної гемолітичної активності комплементу. В 2-й групі виявили значне збільшення

олігонуклеотидної фракції DAMPs внаслідок накопичення клітинного дебрису на тлі запальної реакції.

Висновки. Активація компонентів комплементу на тлі зниження гемолітичної активності свідчить про незавершені кінцеві етапи цитолітичних реакцій вродженого імунітету, і саме накопичення циркулюючих імунних комплексів та підвищення олігонуклеотидної фракції DAMPs різною мірою сприяє розвитку запального процесу у пацієнтів з різною стадією та розповсюдженням аденокарциноми шлунка в залежності від віку. Отримані результати можуть бути основою для розробки імунокорекції виявлених контрольних точок.

Для цитування:

Лавінська О.В., Клімова О.М., Сушков С.В. Індукція різних шляхів активації білків системи комплементу при аденокарциномі шлунка. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2025. Т. 33. № 5(56). С. 719–734. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-04>

Keywords:

gastric adenocarcinoma; post-COVID-19 syndrome, complement system; DAMPs cytotoxic fractions.

For correspondence:

Klimova Olena Mikhailivna
V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science
of Ukraine, Department of Molecular
Biology and Biotechnology;
4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: labionhnamnu@gmail.com

© Lavinska O.V., Klimova O.M.,
Sushkov S.V., 2025

ABSTRACT

Background. The increase in the prevalence of cancer, including gastric adenocarcinoma, prompts the search for prognostic predictors of this dangerous pathology. It is known that genome instability, which is related to cellular transformation, has increased sharply after the SARS-CoV-2 pandemic, and especially in patients with the post-COVID-19 syndrome symptom complex. There is pronounced clinical heterogeneity in the presence of the stage and prevalence of the tumor process and pronounced polymorphism of the immune disorders' spectrum associated with a certain age of patients. It is known that chronic inflammation is a prerequisite for the oncological process progression. Today, for the treatment of gastric adenocarcinoma, methods of targeted immunotherapy limited to a certain number of control points are used in complex therapy. To improve approaches to tumor immunotherapy, it is advisable to further study disorders of immunoreactivity factors that can contribute to the development of inflammatory processes induction.

Purpose – is to assess the content of the central component C3 and the multifunctional component C4 and the complement system total hemolytic activity in different age groups of patients with comorbid post-COVID-19 syndrome and gastric adenocarcinoma of prevalence varying degrees to predict the oncological process and justify individual approaches for targeted immunocorrection.

Materials and Methods. We examined 51 patients with gastric adenocarcinoma of various stages and prevalence. Three age groups of patients were distinguished: group 1 (n = 17, mean age 51.5 ± 3.6 years); group 2 (n = 12, mean age 64.1 ± 2.5 years); group 3 (n = 22, mean age 73.7 ± 3.1 years). Methods used: immunoturbidimetry (complement C3 and C4 components concentration); spectrophotometry (hemolytic activity of complement, concentration of circulating immune complexes (CICs) and DAMPs cytotoxic fractions).

Results. Complement components C3 and C4, as the main effectors of innate immunity; differently affect the tumor process from its inhibition to activation. In all age groups of patients with different stages of gastric adenocarcinoma, a significant increase in the C3 component was found, which indicated the alternative complement pathway activation and the presence of an inflammatory process that contributes to the oncological pathology development. In the group 2, an increase in the concentration of C3 and a decrease in the concentration of C4 component due to its consumption were found, which is a negative factor; and an increase in the concentration of C4 (group 1 and 3) is a positive prognostic factor. However, all patients showed a decrease in the functional hemolytic activity of complement. In group 2, a significant increase in the DAMPs oligonucleotide fraction was found due to the accumulation of cellular debris against the background of the inflammatory reaction.

Conclusions. Activation of complement components against the background of a decrease in hemolytic activity indicates incomplete final stages of innate immunity cytolytic reactions, and it is precisely due to the accumulation of CICs and an increase in the DAMPs oligonucleotide fraction that it contributes to the inflammatory process development in patients with different stages and prevalence of gastric adenocarcinoma depending on age. The results obtained may be the basis for the development of the identified checkpoints immunocorrection.

For citation:

Lavinska OV, Klimova OM, Sushkov SV. Induction of different pathways of complement system protein activation in gastric adenocarcinoma. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):719–734. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-04>

ВСТУП

Онкологічні захворювання, зокрема аденокарцинома шлунка, посідають провідне місце у світі за поширеністю та є причинами високого рівня смертності. Ajani et al. вважають, що кількість онкологічних пацієнтів зростає, причому чим вище показники тривалості життя, тим вище ризик розвитку онкозахворювань [1]. Але є й інші дані, які свідчать про те, що онкозахворювання стали частою патологією у молодих людей [2].

Існує багато причин виникнення пухлини, до яких відносять як фактори зовнішнього середовища (ультрафіолетове опромінювання, іонізуюча радіація, дія канцерогенних речовин, інфекції тощо), так і стан здоров'я самої людини (гормональний дисбаланс, хронічне запалення, шкідливі звички тощо) [3]. Ініціюючим фактором, який запускає процес клітинної трансформації, є виникнення в клітині генетичної нестабільності, і як наслідок – поява мутацій, які закріплюються у нових клітинних генераціях, і зміна експресії генів під дією негативних факторів середовища [4]. Це призводить до подальшого росту пухлини та набуття нею все більш злоякісного фенотипу. Крім того, з боку імунної системи відбувається порушення імуногенетичного контролю і це сприяє відбору найбільш пристосованих до виживання пухлин у цьому мікрооточенні. Активна проліферація цих клітин веде до подальшого накопичення мутаційного навантаження і зрештою до повної клітинної трансформації за рахунок механізмів ухилення пухлинних клітин від імуногенетичного контролю [5].

Епідеміологічні та експериментальні дані свідчать, що запалення сприяє онкогенезу [6]. Солідні пухлини аденокарциноми шлунка можуть бути інфільтровані імунними клітинами, що індукує запалення, яке спрямоване на знищення пухлинних клітин практично на всіх стадіях онкогенезу. Сьогодні відомо багато варіантів порушень вродженого та адаптивного імунітету, які можуть сприяти розвитку запалення [7]. Молекулярні та клітинні шляхи, які з'єднують запалення та онкогенез є перспективними мішенями для профілактики та імунотерапії раку [8].

Процес онкогенезу залежить від складної взаємодії генетичних та епігенетичних факторів середовища. Після пандемії COVID-19 залишаються питання щодо довгострокових наслідків дії SARS-CoV-2 (гострий респіраторний синдром та системні ускладнення) і потенційної ролі COVID-19 в онкогенезі [9–11]. COVID-19 викликає значну імунну відповідь, яка часто характеризується цитокіновим штормом, що завжди призводить до розвитку хронічного запалення. Тривалі запальні реакції можуть викликати пошкодження ДНК, сприяти клітинній проліферації, пригніченню апоптозу і онкогенезу [12, 13]. Draxler та співавт. показали, що у пацієнтів з постковідним синдромом зростає рівень маркерів оксидативного стресу (з наступним розвитком мітохондріальної дисфункції), це корелювало зі збільшенням факторів ризику раку, зокрема маркерів пошкодження ДНК, що сприяло підвищенню фракцій DAMPs [14].

Останніми роками накопичено докази того, що система комплементу, головний ефектор

INTRODUCTION

Oncological diseases, including gastric adenocarcinoma, occupy a leading place in the world in terms of prevalence and are the causes of high mortality. Ajani et al. believe that the number of cancer patients is increasing, and the higher the life expectancy, the higher the developing cancer risks [1]. But there is other data indicating that cancer has become a common pathology in young adults [2].

There are many causes of tumor formation, including both environmental factors (ultraviolet radiation, ionizing radiation, exposure to carcinogenic substances, SARS-CoV-2 infection, etc.) and the health status of the person himself (hormonal imbalance, chronic inflammation, bad habits, etc.) [3]. The initiating factor that triggers the cellular transformation is the occurrence of genetic instability in the cell, and as a consequence, the appearance of mutations that are fixed in new cell generations and a change in gene expression under the influence of negative environmental factors [4]. This leads to further tumor growth and its acquisition of an increasingly malignant phenotype. In addition, immunogenetic control is impaired on the immune system, and this contributes to the selection of tumors most adapted to survival in this microenvironment. The active proliferation of these cells leads to further mutational load accumulation and ultimately to complete cellular transformation due to mechanisms of tumor cell evasion from immunogenetic control [5].

Epidemiological and experimental data indicate that inflammation contributes to oncogenesis [6]. Solid tumors of gastric adenocarcinoma can be infiltrated by immune cells and induces inflammation, which is aimed at destroying tumor cells at almost all stages of oncogenesis. Today, many variants of innate and adaptive immunity disorders are known that can contribute to the inflammation development [7]. Molecular and cellular pathways that connect inflammation and oncogenesis are promising targets for cancer prevention and immunotherapy [8].

The oncogenesis depends on a complex interaction of genetic and epigenetic environmental factors. After the COVID-19 pandemic, questions remain about the long-term consequences of SARS-CoV-2 exposure (severe acute respiratory syndrome and systemic complications) and the potential role of COVID-19 in oncogenesis [9–11]. COVID-19 induces a significant immune response, often characterized by a cytokine storm, which always leads to the chronic inflammation development. Prolonged inflammatory responses can cause DNA damage, promote cell proliferation, inhibit apoptosis, and induce oncogenesis [12, 13]. Draxler et al. showed that patients with post-COVID syndrome had increased levels of oxidative stress markers (with the subsequent development of mitochondrial dysfunction), this correlated with increased cancer risk factors, including markers of DNA damage which contributed to an increase in DAMPs fractions [14].

In recent years, evidence has accumulated that the complement system, a major effector of innate immunity, plays an important role in influencing tumor biology. This role is diverse and is based on a delicate balance between

врожденного імунітету, відіграє важливу роль у впливі на біологію пухлини. Ця роль є різноманітною та ґрунтується на тонкому балансі між активацією та інгібуванням комплементу [15]. Важливим є індивідуальна оцінка ступеня активації білків системи комплементу як тригера запалення у пацієнтів з аденокарциномою шлунка.

Мета роботи – оцінити вміст центрального компонента C3 і багатофункціонального компонента C4 та загальну гемолітичну активність системи комплементу у різних вікових групах пацієнтів з коморбідним перебігом постковідного синдрому та аденокарциноми шлунка різного ступеня розповсюдженості для прогнозу онкопроцесу і обґрунтування індивідуальних підходів для направленої імунотерапії.

complement activation and inhibition [15]. Individual assessment of the complement system proteins activation degree as a trigger of inflammation in patients with gastric adenocarcinoma is important.

Objective – is to assess the content of the central component C3 and the multifunctional component C4 and the complement system total hemolytic activity in different age groups of patients with comorbid post-COVID-19 syndrome and gastric adenocarcinoma of prevalence varying degrees to predict the oncological process and justify individual approaches for targeted immunocorrection.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В роботі проаналізовано результати обстеження 51 хворого на аденокарциному шлунка, які були госпіталізовані до клініки Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України». Виділено три вікові групи пацієнтів: група 1 (n = 17, середній вік $51,5 \pm 3,6$ року); група 2 (n = 12, середній вік $64,1 \pm 2,5$ року); група 3 (n = 22, середній вік $73,7 \pm 3,1$ року). Для порівняння використовували референтні значення лабораторії, які були набрані у 2019 році. Усі учасники дослідження були анкетовані на виявлення симптомів постковідного синдрому. Найбільш частими були симптоми, пов'язані з порушенням функції органів травлення, опорно-рухової системи та когнітивні розлади. Стадія та ступінь поширеності злоякісного процесу в обстежених хворих на аденокарциному шлунка варіювала від помірної до тяжкої. Детальна характеристика трьох вікових груп пацієнтів надана в таблиці 1.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The study analyzed the results of the examination of 51 patients with gastric adenocarcinoma who were admitted to the clinic of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». Three age groups of patients were identified: group 1 (n = 17, mean age 51.5 ± 3.6 years); group 2 (n = 12, mean age 64.1 ± 2.5 years); group 3 (n = 22, mean age 73.7 ± 3.1 years). For comparison, laboratory reference values collected in 2019 were used. All study participants were surveyed to identify symptoms of post-COVID-19 syndrome. The most common were symptoms associated with impaired function of the digestive system, musculoskeletal system, and cognitive disorders. The stage and extent of the malignant process in the examined patients with gastric adenocarcinoma varied from moderate to severe. Detailed characteristics of the patients in the three age groups are given in Table 1.

Таблиця 1. Характеристика груп пацієнтів з різною стадією та поширеністю аденокарциноми шлунка
Table 1. Characteristics of patients' groups with different stages and prevalence of gastric adenocarcinoma

Показник Parameter	Група 1 Group 1	Група 2 Group 2	Група 3 Group 3
Кількість пацієнтів в групі (n) Number of patients in the group (n)	17	12	22
Вік, роки / Age, years	$51,5 \pm 3,6$	$64,1 \pm 2,5$	$73,7 \pm 3,1$
Чоловіки / Male	62%	37%	47%
Жінки / Female	38%	63%	53%
Тип пухлини за міжнародною класифікацією Tumor type according to international classification	T2N0M0	T4N1M0	T3-4N2M1
Форма злоякісного процесу Form of malignant process	Локалізована Localized	Місцево-поширена Locally disseminated	Метастатична форма Metastatic
Характеристика злоякісного процесу Characteristics of the malignant process	Ураження стінки шлунка Damage of the stomach wall	Ураження стінки шлунка та регіонарних лімфатичних вузлів Damage of the stomach wall with involvement of the regional lymph nodes	Глибоке проростання пухлини в стінку шлунка, залучення до процесу лімфатичних вузлів Deep tumor growth into the stomach wall, involvement of lymph nodes in the process
Метастази Metastases	Без віддалених метастазів Without distant metastases		Наявність метастазів Presence of metastases

Дослідження проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» (переглянутої у 2013 році) та схваленої Етичним комітетом Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України» (Харків, Україна) відповідно до вимог, прийнятих міжнародною спільнотою, та чинних нормативно-правових актів України: «Конвенції про захист прав людини та гідності людини стосовно застосування біології та медицини» (1997). Усі учасники надали підписану інформовану згоду перед включенням до дослідження. Обстеження пацієнтів проводились відповідно до зазначених нормативних документів та принципів добровільності, конфіденційності й безпеки пацієнтів.

Гемолітичну активність комплементу визначали за 100% лізисом еритроцитів барана (CH100). Використовували гемолітичну систему – суміш рівних об'ємів розведеної по триразовому титру гемолітичної сироватки і 3% завісі еритроцитів барана. Гемолітичну систему витримували 30 хв при 37°C для сенсibiliзації еритроцитів. Досліджувану сироватку розводили фізіологічним розчином у співвідношенні 1:10 і додавали в пробірки від 0,1 мл до 1 мл із різницею між пробами 0,1 мл. Вміст кожної пробірки доводили фізіологічним розчином до об'єму 1,5 мл, після чого в кожну пробірку додавали по 1,5 мл сенсibiliзованих еритроцитів барана. Проби інкубували при 37°C 45 хв, після чого центрифугували 10 хв при 350 g. Визначали оптичну щільність надосадової рідини за довжини хвилі 340 нм («STATFAX» 1904, США). Відсоток гемолізу визначали за допомогою стандартної шкали. За одиницю активності комплементу (CH100) обирали ту концентрацію, яка приводила до 100% лізису 0,5 мл сенсibiliзованих еритроцитів.

Визначення C3- та C4-компонентів комплементу у сироватці крові проводили імунотурбидиметричним методом, заснованим на взаємодії білка зі специфічними антитілами з утворенням імунокомплексів, преципітація яких призводила до збільшення каламутності розчину. Концентрацію компонентів комплементу визначали за довжини хвилі 340 нм (набір реагентів Dialab, Австрія; біохімічний аналізатор «STATFAX» 1904, США).

Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові визначали спектрофотометрично після їх преципітації поліетиленгліколем (ПЕГ) із молекулярною масою 6000. В пробірки вносили по 0,1 мл сироватки крові. В контрольну пробірку додавали 2,9 мл боратного буферу, в дослідну пробірку вносили 0,2 мл боратного буферу та 2,7 мл ПЕГ. Інкубували 1 годину при кімнатній температурі. Визначали оптичну щільність зразків за довжини хвилі 450 нм проти боратного буферу (Shimadzu UV-2600, Японія). Концентрацію ЦІК (од. Е) визначали як різницю між значеннями оптичної щільності дослідної та контрольної проб.

Вміст цитотоксичних компонентів сироватки крові – молекулярних патернів, асоційованих з пошкодженням DAMPs визначали спектрофотометрично (Shimadzu UV-2600, Японія). В пробірки вносили 0,6 мл сироватки крові та 0,3 мл 10% трихлороцтової кислоти, перемішували. Центрифугували 30 хв при

The study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects» (revised in 2013) and approved by the Ethics Committee of the State Institution «Zaycev V.T. Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine) in accordance with the requirements adopted by the international community and the current regulatory legal acts of Ukraine: «Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine» (1997). All participants provided signed informed consent before inclusion in the study. Patient examinations were conducted in accordance with the specified regulatory documents and the principles of voluntariness, confidentiality and patient safety.

Hemolytic activity of complement was determined by 100% lysis of sheep erythrocytes (CH100). A hemolytic system was used – a mixture of equal volumes of hemolytic serum diluted by 3-fold titer and 3% sheep erythrocyte suspension. The hemolytic system was kept for 30 min at 37°C to sensitize erythrocytes. The study serum was diluted with saline in a ratio of 1:10 and added to test tubes from 0,1 ml to 1 ml with a difference between samples of 0,1 ml. The contents of each test tube were adjusted to a volume of 1,5 ml with saline, after which 1,5 ml of sensitized sheep erythrocytes were added to each tube. The samples were incubated at 37°C for 45 min, then centrifuged for 10 min at 350 g. The optical density of the supernatant was determined at a wavelength of 340 nm («STATFAX» 1904, USA). The percentage of hemolysis was determined using a standard scale. The unit of complement activity (CH100) was taken as the concentration that led to 100% lysis of 0,5 ml of sensitized erythrocytes.

Determination of C3 and C4 complement components in blood serum was performed by immunoturbidimetry, based on the interaction of protein and specific antibodies with the immunocomplexes formation, the precipitation of which led to an increase of the solution turbidity. The complement components concentration was determined at a wavelength of $\lambda = 340$ nm (Dialab reagent set, Austria; biochemical analyzer «STATFAX» 1904, USA).

The circulating immune complexes (CIC) content in blood serum was determined by spectrophotometry after their precipitation with polyethylene glycol (PEG) with a molecular weight of 6000. Blood serum (0,1 ml) was added to the test tubes. 2.9 ml of borate buffer was added to the control tube; 0.2 ml of borate buffer and 2.7 ml of PEG were added to the test tube. Incubation was carried out for 1 hour at room temperature. The optical density of the samples was determined at a wavelength of 450 nm against borate buffer (Shimadzu UV-2600, Japan). The CIC concentration (units E) was determined as the difference between the optical density values of the test and control tubes.

The content of cytotoxic components of blood serum – damage-associated molecular patterns (DAMPs) was determined by spectrophotometry (Shimadzu UV-2600, Japan). 0.6 ml of blood serum and 0.3 ml of 10% trichloroacetic acid were added to the test tubes and mixed. Centrifugation was carried out for 30 min at

1400 g. Відбирали 0,2 мл надосадової рідини і додавали 1,8 мл дистильованої води. Вимірювали оптичну щільність зразків у кварцевих кюветах за довжини хвилі 238 нм (олігопептидна фракція DAMPs) та 260 нм (олігонуклеотидна фракція DAMPs).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми Statistica 6.1 (StatSoft Inc., USA). Нормальність розподілу оцінювали за тестом Шапіро–Вілкі. Для порівняння середніх значень використовували ANOVA. Розраховували середнє значення (x) та похибку середнього (SE). Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

1400 g. 0.2 ml of supernatant was collected and 1.8 ml of distilled water was added. The optical density of the samples was measured in quartz cuvettes at wavelengths of 238 nm (oligopeptide fraction of DAMPs) and 260 nm (oligonucleotide fraction of DAMPs).

Statistical processing of the results was performed using the Statistica 6.1 (StatSoft Inc., USA). Normality of distribution was assessed by the Shapiro–Wilk test. ANOVA was used to compare mean values. The mean (x) and standard error of the mean (SE) were calculated. The difference was considered significant at $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Для оцінки завершеності ефекторної функції системи комплементу в цілому визначали гемолітичну активність системи комплементу (CH100), яка у всіх вікових групах пацієнтів з симптомами постковідного синдрому та різною розповсюдженістю аденокарциноми шлунка була зниженою у порівнянні з референтними значеннями ($22,6 \pm 1,9$ гем. од.): на 50% в 1-й групі; на 20% в 2-й групі та на 52% в 3-й групі (табл. 2).

RESULTS

To assess the completeness of the complement system effector function as a whole, the hemolytic activity of the complement system (CH100) was determined, which in all age groups of patients with symptoms of post-COVID syndrome and different prevalence of gastric adenocarcinoma was reduced compared to reference values (22.6 ± 1.9 hem. units): by 50% in group 1; by 20% in group 2 and by 52% in group 3 (Table 2).

Таблиця 2. Активність системи комплементу та утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у різних вікових групах хворих на аденокарциному шлунка (x ± SE)

Table 2. Complement system activity and circulating immune complexes (CICs) formation in different age groups of patients with gastric adenocarcinoma (x ± SE)

Показник Parameter	РЗ RV	Група 1 Group 1	Група 2 Group 2	Група 3 Group 3
Гемолітична активність комплементу (CH100), гем. од. Hemolytic activity of complement (CH100), hem units	$22,6 \pm 1,9$	$15,1 \pm 3,2^*$	$18,9 \pm 4,3$	$14,9 \pm 2,3^*$
C3, г/л C3, g/l	$1,05 \pm 0,17$	$1,4 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,4^*$	$1,5 \pm 0,2^*$
C4, г/л C4 g/l	$0,25 \pm 0,09$	$0,32 \pm 0,08$	$0,19 \pm 0,07^{**}$	$0,47 \pm 0,06^{**}$
ЦІК, од. Е CICs, units E	$75,0 \pm 15,0$	$108,6 \pm 10,5^*$	$173,8 \pm 22,6^{**}$	$118,2 \pm 11,7^*$

Примітки / Notes:

* – відмінності достовірні щодо референтних значень ($p < 0,05$);

** – відмінності достовірні між досліджуваними групами. РЗ – референтні значення.

* – differences are significant relative to reference values ($p < 0,05$);

** – differences are significant between the studied groups. RV – reference values.

Важливим показником є і вміст окремих компонентів комплементу. Концентрація C3 компонента комплементу у всіх групах була збільшена відносно референтних значень ($1,05 \pm 0,71$ г/л). Максимальне збільшення рівня C3 компонента комплементу виявили в 2-й групі – на 70%. В 1-й і 3-й групі збільшення C3 компонента комплементу було менш виражено і перевищувало референтні значення на 30% та 40% відповідно (див. табл. 2).

Концентрація C4 компонента комплементу в трьох групах змінювалась різнонаправлено. У пацієнтів 1-ї групи і у пацієнтів старшої 3-ї вікової групи виявили збільшення концентрації C4 компонента комплементу на 28% та 88% відповідно відносно референтних значень ($0,25 \pm 0,09$ г/л). В 2-й групі спостерігали значне зниження концентрації C4 компонента комплементу на 32% (див. табл. 2).

При визначенні концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) виявили, що в обстежених пацієнтів

An important indicator is also the individual complement components content. The concentration of C3 complement component in all groups was increased relative to reference values (1.05 ± 0.71 g/l). The maximum increase in the level of C3 complement component was found in group 2 – by 70%. In groups 1 and 3, the increase in C3 complement component was less pronounced and exceeded the reference values by 30% and 40%, respectively (Table 2).

The concentration of the C4 complement component in the three groups changed in different directions. In young patients of group 1 and in patients of the older age group 3, an increase in the concentration of the C4 component by 28% and 88%, respectively, relative to the reference values (0.25 ± 0.09 g/l) was observed. Patients of group 2 had a significant decrease (by 32%) in the C4 component (Table 2).

Determination of the circulating immune complexes (CIC) concentration showed that in the examined

трьох груп концентрація ЦІК була збільшена відносно референтних значень ($75,0 \pm 15,0$ од. Е). В 1-й та 3-й групі збільшення було на 45% та на 58% відповідно. В 2-й групі концентрації ЦІК були максимально підвищеними (у 2,3 рази) (табл. 2) на тлі зниженого рівня С4 компонента та зниженої загальної гемолітичної активності, що вказує на функціональну недостатність цих білків та їх активне споживання.

У трьох групах пацієнтів виявили збільшення цитотоксичних фракцій DAMPs (damage-associated molecular patterns). У 1-й та 3-й вікових групах збільшення олігопептидної фракції DAMPs становило у 1,9 та 1,8 рази відповідно; а олігонуклеотидної фракції у 1,8 рази у двох групах (табл. 3). У 2-й віковій групі виявили максимальне збільшення концентрації олігопептидної фракції DAMPs (у 2,2 рази) при референтному рівні ($0,62 \pm 0,09$) од. Е та олігонуклеотидної фракції DAMPs (у 2,2 рази) при референтному рівні ($0,24 \pm 0,05$) од. Е.

patients of the three groups, the concentration of CIC was increased relative to the reference values (75.0 ± 15.0 units of E). In groups 1 and 3, the increase was 45% and 58%, respectively. In group 2, the CICs concentration was maximally increased (2.3 times) (Table 2) against the background of a reduced level of the C4 component and reduced overall hemolytic activity, which indicates functional insufficiency of these proteins and their active consumption.

An increase in cytotoxic fractions of DAMPs (damage-associated molecular patterns) was found in three groups of patients. In the 1st and 3rd age groups, the increase in the oligopeptide fraction DAMPs was 1.9 and 1.8 times, respectively; and the oligonucleotide fraction was 1.8 times in both groups (Table 3). In the 2nd age group, the maximum increase in the concentration of the oligopeptide fraction DAMPs (2.2 times) at the reference level (0.62 ± 0.09) units E and the oligonucleotide fraction DAMPs (2.2 times) at the reference level (0.24 ± 0.05) units E was found.

Таблиця 3. Концентрація цитотоксичних фракцій DAMPs в різних вікових групах хворих на аденокарциному шлунка ($x \pm SE$)
Table 3. Concentration of DAMPs cytotoxic fractions in different age groups of patients with gastric adenocarcinoma ($x \pm SE$)

Показник Parameter	P3 RV	Група 1 Group 1	Група 2 Group 2	Група 3 Group 3
Олігопептидна фракція DAMPs DAMPs oligopeptide fraction	$0,62 \pm 0,09$	$1,19 \pm 0,16^*$	$1,34 \pm 0,21^*$	$1,12 \pm 0,19^*$
Олігонуклеотидна фракція DAMPs DAMPs oligonucleotide fraction	$0,24 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,08^*$	$0,53 \pm 0,07^*$	$0,42 \pm 0,06^*$

Примітка / Note:

* – відмінності достовірні щодо референтних значень ($p < 0,05$); P3 – референтні значення.

* – differences are significant relative to reference values ($p < 0.05$); RV – reference values.

ОБГОВОРЕННЯ

Кожна ланка імунорезистентності грає певну роль як у перешкоджанні, так і у прогресуванні онкопроцесу. Комплемент є однією з ланок вродженого імунітету, який має потужну ефektorну функцію, що приводить до руйнування пухлинних клітин. І це не можна не враховувати при виборі індивідуальної тактики імунотерапії для перешкоджання в прогресуванні розповсюдження онкопроцесу. Важливою є оцінка негативної ролі білків системи комплементу в розвитку необоротних запальних реакцій. Визначення концентрації С3- та С4-компонентів комплементу характеризувало потенційний відгук гуморальної ланки вродженого імунітету. Підвищена концентрація С3 у сироватці крові обстежених хворих ймовірно пов'язана з підвищеною швидкістю синтезу цього білка, і, отже, більш високою швидкістю катаболізму, що сприяє розвитку запалення. Це необхідно враховувати як недоцільність стимуляції цієї контрольної точки в імунотерапії раку, особливо у пацієнтів 2-ї вікової групи (середній вік $64,1 \pm 2,5$ року). Характер імунної відповіді взаємопов'язаний з індивідуальними темпами старіння, а певний імунний профіль – з наявністю значного пулу клітин пам'яті, що впливає на біологічний вік організму, від якого залежить швидкість розповсюдження пухлинного процесу. Відмінності між віковими групами пацієнтів є наслідком різної швидкості біологічного старіння організму на тлі хронічної запальної реакції. В цьому контексті 1-шу групу можна

DISCUSSION

Each link of immunoresistance plays a certain role both in preventing and in the progression of the oncological process. Complement is one of the links of innate immunity, which has a powerful effector function that leads to the tumor cells destruction. And this cannot be ignored when choosing an individual immunotherapy tactic to prevent the progression of the oncological process spread. It is important to assess the negative role of complement system proteins in the irreversible inflammatory reactions development. Determination of the C3 and C4 complement components concentration characterized the potential response of the innate immunity humoral link. The increased concentration of C3 in the blood serum of the examined patients with gastric adenocarcinoma is probably associated with an increased rate of synthesis of this protein, and, consequently, a higher rate of catabolism, which contributes to the inflammation development. This should be considered as the inappropriateness of stimulating this checkpoint in cancer immunotherapy, especially in patients of age group 2 (mean age 64.1 ± 2.5 years). The nature of the immune response is interconnected with the individual rate of aging, and a certain immune profile is interconnected with the presence of a significant pool of memory cells, which affects the biological age of the organism, on which the rate of spread of the tumor process depends. Differences between age groups of patients are a consequence of different rates of biological aging of the

розглядати як варіант прискореного старіння, 2-гу групу – як варіант фізіологічного старіння, 3-тя група – уповільнене біологічне старіння. Ступені прогресування онкологічного процесу виявились спорідненими з різними темпами старіння у трьох вікових групах та з різним імунним профілем. У відповідності до цього основними групами ризику є 1-ша і 2-га групи.

Однотимчасне збільшення концентрації С3 зі зниженою концентрацією С4-компонента, що спостерігали у 2-й групі, відповідає наявності принципово різних механізмів контролю активації цих двох білків і наявності їх у сироватці, очевидно за рахунок споживання при утворенні циркулюючих імунних комплексів при антитілозалежній цитотоксичності.

Виразене пригнічення гемолітичної активності комплементу (ступінь активації класичного шляху комплементу) при онкопроцесі є відображенням зниження, відсутності та/або неактивності будь-якого компонента системи комплементу. Рівень гемолітичної активності комплементу (CH100) у сироватці крові і різних її компонентів є результатом балансу між продукцією, споживанням, і руйнуванням компонентів. На думку Pio et al., низький рівень сироваткового комплементу вочевидь може пояснюватися посиленням активації та фіксації в споживанні комплементу [16].

Компоненти комплементу С3 та С4, які функціонують разом з іншими білками гострої фази (С-реактивний білок, фібронектин, фібриноген, сироватковий амیلондний α-білок) крім виконання опсонізуючої ролі для полегшення фагоцитозу, безпосередньо забезпечують обмеження поширення збудника в організмі і виконують захисну функцію для власних тканин, оскільки є інгібіторами продуктів перекисного окиснення, що утворюються в результаті дегрануляції фагоцитуючих нейтрофілів [17]. Однак, для перешкодження запальному процесу надмірний синтез цих компонентів повинен ліквідуватися швидким споживанням, але це відбувається не завжди. Складається ситуація, коли необхідно вживати для їх корекції інгібітори білків системи комплементу.

Асоційована з пухлиною активність комплементу впливає на синтез і сироватковий вміст білків комплементу та/або фрагментів активації комплементу у хворих на онкологічну патологію. Зміна активності білків системи комплементу може бути використана як індивідуальні біомаркери для прогнозу перебігу онкологічного захворювання [18].

Система комплементу бере участь в утворенні й елімінації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), що утворюються після зв'язування антигену антиген-специфічними антитілами в присутності комплементу. Тому між вмістом окремих компонентів, гемолітичною активністю системи комплементу і рівнем ЦІК існує тісний кореляційний зв'язок.

Збільшення синтезу білків системи комплементу також пов'язують з активацією катаболізму та індукцією запального процесу. Одним із результатів цитолітичної дії комплементу є накопичення молекул DAMPs (damage-associated molecular patterns), які відображають утворення клітинного дебрису через пошкодження клітин. Максимальне збільшення цитотоксичних фракцій DAMPs виявили в 2-й віковій групі за рахунок руйнування мітохондрій, що сприяло

body against the background of a chronic inflammatory reaction. In this context, the 1st group can be considered as a variant of accelerated aging, the 2nd group – as a variant of physiological aging, the 3rd group – slowed biological aging. The stages of cancer progression were found to be related to different rates of aging in the three age groups and to different immune profiles. Accordingly, the main risk groups are the 1st and 2nd groups.

The simultaneous increase in the concentration of C3 with a reduced concentration of the C4 component observed in group 2 corresponds to the fundamentally different mechanisms presence for controlling the activation of these two proteins and their presence in the serum, apparently due to consumption during the circulating immune complexes formation (CICs) in antibody-dependent cytotoxicity.

A pronounced inhibition of the complement hemolytic activity (the degree of the classical complement pathway activation) in the oncological process is a reflection of the decrease, absence and/or inactivity of any complement system component. The level of complement hemolytic activity (CH100) in the blood serum and its various components is the result of the balance between production, consumption, and destruction of components. According to Pio et al., low serum complement levels can apparently be explained by increased activation and fixation in complement consumption [16].

Complement components C3 and C4, which function together with other acute phase proteins (C-reactive protein, fibronectin, fibrinogen, serum amyloid α-protein), in addition to performing an opsonizing role to facilitate phagocytosis, directly limit the spread of the pathogen in the body and perform a protective function for its own tissues, as they are inhibitors of peroxidation products formed as a result of phagocytic neutrophils degranulation [17]. However, to prevent the inflammatory process, excessive synthesis of these components must be eliminated by rapid consumption, but this does not always happen. A situation arises when it is necessary to use inhibitors of complement system proteins for their correction.

Tumor-associated complement activity affects the synthesis and serum levels of complement proteins and/or complement activation fragments in patients with oncological pathology. Changes in the activity of complement system proteins can be used as individual biomarkers for the prognosis of the oncological disease course [18].

The complement system is involved in the formation and elimination of circulating immune complexes (CICs), which are formed after antigen binding by antigen-specific antibodies in the presence of complement. Therefore, there is a correlation between the content of individual components and indicators of hemolytic activity of the complement system and the level of CICs.

The increase in the complement system proteins synthesis also is associated with the activation of catabolism and the inflammatory process induction. One of the results of the complement cytolytic action is the DAMPs molecules (damage-associated molecular patterns) accumulation, which reflects the cellular debris formation due to cell damage. The maximum increase in cytotoxic fractions of DAMPs was found in the 2nd age group due to the destruction of mitochondria, which

зниженню енергетичних ресурсів клітин. Тривалий запальний процес сприяє клітинній деструкції, утворенню дебрису та накопиченню цитотоксичних фракцій DAMPs, що також може бути пов'язано з вираженою тяжкістю онкологічного процесу (рис. 1). Порушення цілісності клітинної мембрани супроводжується вивільненням речовин мітохондріального походження, таких як форміл-пептиди та мітохондріальна ДНК, що значно посилює запальні реакції [19].

contributed to the reduction of cellular energy resources. Prolonged inflammatory process contributes to cellular destruction, debris formation and DAMPs cytotoxic fractions accumulation, which may also be associated with the severe severity of the oncological process (Fig. 1). Violation of the cell membrane integrity is accompanied by the release of mitochondrial origin substances, such as formyl peptides and mitochondrial DNA, and significantly enhances inflammatory reactions [19].

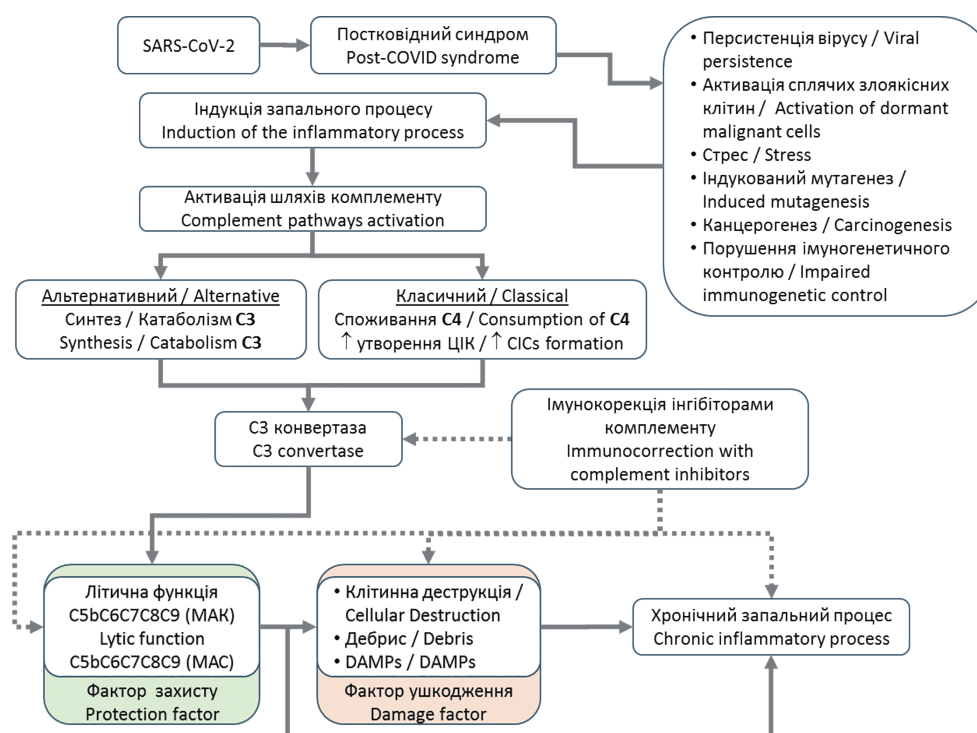


Рис. 1. Вплив факторів малігнізації на активацію системи комплементу і формування хронічного запального процесу
Fig. 1. The influence of malignancy factors on the complement system activation and the chronic inflammatory process formation

Функціонування системи комплементу є багатостадійним і послідовним протеолітичним каскадом за участі серинових протеаз і активних зимогенів, і на кінцевому (цитолітичному) етапі часто відбувається утворення на мембрані клітини-мішені цитолітичного білкового комплексу C5b-C9 (мембраноатакуючого комплексу, МАК). Оскільки, кінцевий етап активації комплементу аналогічний для всіх трьох шляхів (альтернативного, класичного, лектинового) і запускається розщепленням центрального компонента C3 комплементу на активні фрагменти під дією C3-конвертази, то це повинно призводити до формування МАК як кінцевого продукту активації комплементу. А вбудовування МАК у плазматичну мембрану призводить до її перфорації та лізису клітини при завершенні процесу [15]. Процес формування МАК є індивідуальним і може виступати тригером різних імунопатологічних процесів: надлишкової продукції медіаторів запалення, активних форм кисню та експресії адгезивних молекул [20]. Надпродукція хемотоксинів, опсонінів, анафілатоксинів та МАК значною мірою сприяє прогресуванню деструктивних патологічних змін.

При патологічних процесах відбувається гіперактивація системи комплементу та гіперпродукція його

The functioning of the complement system is a multi-stage and sequential proteolytic cascade with the participation of serine proteases and active zymogens, at the final (cytolytic) stage, the cytolytic protein complex C5b-C9 (membrane attack complex, MAC) formation on the target cell membrane often occurs. Since the final stage of complement activation is similar for all three pathways (alternative, classical, lectin) and is triggered by the cleavage of the central component C3 into active fragments under the action of C3 convertase, this should lead to the MAC formation as the complement activation final product. And the MAC incorporation into the plasma membrane leads to its perforation and cell lysis at the process completion [15]. The process of MAC formation is individual and can trigger various immunopathological processes: excessive production of inflammatory mediators, reactive oxygen species and expression of adhesive molecules [20]. Overproduction of chemotoxins, opsonins, anaphylatoxins and MAC significantly contributes to the progression of destructive pathological changes.

In pathological processes, the complement system is hyperactivated and its cytotoxic products are overproduced, which may be due to an individual complex of hormonal-metabolic and genetic disorders.

цитотоксичних продуктів, що може бути зумовлено індивідуальним комплексом гормонально-метаболических та генетичних порушень. Крім цитотоксичних ефектів, вбудовування МАК у мембрани клітин призводить до вивільнення факторів росту, які стимулюють проліферацію клітин [21]. Кінцеві продукти активації комплементу та їхні рецептори опосередковують міжклітинні взаємодії, які регулюють декілька біологічних функцій у позасудинній тканині. Це сприяє дедиференціації клітин, проліферації та міграції на додаток до зменшення апоптозу та розповсюдження онкологічного процесу [16]. Всі ці негативні риси системи білків комплементу можуть сприяти розвитку необоротних запальних реакцій, які необхідно буде гальмувати за допомогою специфічних інгібіторів.

З іншого боку, сучасний погляд на роль комплементу в онкогенезі виходить за рамки прямого усунення пухлинних клітин. Зростаюча кількість доказів підкреслює важливість пов'язаної з пухлиною активації комплементу в прогресуванні пухлини. За даними Ajona et al. пухлинні клітини розвивають інгібуючі механізми для кінцевих етапів каскаду комплементу, таким чином запобігаючи опосередкованій комплементом цитотоксичності [22], що було виявлено в наших дослідженнях у пацієнтів 1-ї і 3-ї вікової групи. Це, в свою чергу, забезпечується експресією мембранозв'язаних регуляторів комплементу (mCRP), які включають рецептори кластери диференціювання CD35, CD46, CD55, CD59 та імуноглобулін рецептора комплементу (CRIg) або розчинних інгібіторів комплементу (фактор І (CFI), фактор Н (CFH), фактор Н-подібний 1 (FHL-1), інгібітор C1 (C1-INH), білок, що зв'язує C4b (C4BP), кластерин (CLU) та вітронектин (Vn)). Підхід, який полягає у блокуванні контрольної точки, а саме – експресії мембранозв'язаного регулятора CD55 може сенситизувати ракові клітини шляхом комплементозалежної цитотоксичності і дозволяє перешкоджати прогресуванню онкопроцесу [23].

Клітини пухлини, які ухиляються від імуногенетичного контролю, також можуть змінювати комплементозалежну цитотоксичність за допомогою альтернативних механізмів, таких як експресія протеаз, які розщеплюють компоненти комплементу; елімінація МАК шляхом ендоцитозу або везикуляції; або генерація сублітичних доз МАК, що забезпечують внутрішньоклітинний захист від атаки комплементу [24].

Однак, останні дослідження показали, що активація комплементу в мікрооточенні пухлини може й сприяти її росту. Тривала надмірна активація комплементу підтримує хронічне запалення, викликає окиснювальне пошкодження та подальшу трансформацію, сприяє імуносупресивному мікросередовищу, індукуює ангіогенез (компоненти комплементу, такі як C1q, C3 та C5a, можуть прямо чи опосередковано сприяти ангіогенезу, індукуючи активність ендотеліальних клітин та експресію фактора росту судин VEGF, що призводить до збільшення утворення кровоносних судин у пухлині) і активує пов'язані з раком сигнальні шляхи для збільшення розповсюдження онкологічного процесу [22]. Лімфатичні ендотеліальні клітини LECs, які утворюють лімфатичні судини в пухлині, сприяють її росту, метастазуванню та лімфангіогенезу через

In addition to cytotoxic effects, the incorporation of MAC into cell membranes leads to the release of growth factors that stimulate cell proliferation [21]. The end products of complement activation and their receptors mediate intercellular interactions that regulate several biological functions in extravascular tissue. This promotes cell dedifferentiation, proliferation and migration in addition to reducing apoptosis and the spread of the oncological process [16]. All these negative features of the complement protein system can contribute to the irreversible inflammatory reactions development, which will need to be inhibited with the help of specific inhibitors.

On the other hand, the current view of the role of complement in oncogenesis goes beyond the direct elimination of tumor cells. A growing amount of evidence emphasizes the importance of tumor-associated complement activation in tumor progression. According to Ajona et al., tumor cells develop inhibitory mechanisms for the complement cascade final steps, thus preventing complement-mediated cytotoxicity [22], which was found in our studies in patients of age groups 1 and 3. This, in turn, is mediated by the expression of membrane-bound complement regulators (mCRPs), which include the cluster of differentiation receptors CD35, CD46, CD55, CD59, and complement receptor immunoglobulin (CRIg) or soluble complement inhibitors (factor I (CFI), factor H (CFH), factor H-like 1 (FHL-1), C1 inhibitor (C1-INH), C4b-binding protein (C4BP), clusterin (CLU), and vitronectin (Vn)). The checkpoint blockade of the expression of the membrane-bound regulator CD55 can sensitize cancer cells to complement-dependent cytotoxicity and can prevent tumor progression [23].

Tumor cells that evade immunogenetic control can also alter complement-dependent cytotoxicity through alternative mechanisms, such as: expression of proteases that cleave complement components; MAC elimination endocytosis or vesiculation; or MAC sublytic doses generation that provide intracellular protection against complement attack [24].

However, recent studies have shown that complement activation in the tumor microenvironment can also promote tumor growth. Prolonged excessive complement activation maintains chronic inflammation, causes oxidative damage and subsequent transformation, promotes an immunosuppressive microenvironment, induces angiogenesis (complement components such as C1q, C3, and C5a can directly or indirectly promote angiogenesis by inducing endothelial cell activity and vascular growth factor (VEGF) expression, leading to increased blood vessel formation in the tumor), and activates cancer-related signaling pathways to increase tumor dissemination [22]. Lymphatic endothelial cells (LECs), which form lymphatic vessels in the tumor, promote tumor growth, metastasis, and lymphangiogenesis through excessive tumor-dependent production of C3, complement factor B (CFB), and secretion of C1q [25].

Cancer cells are able to modulate complement activity to their advantage without being adversely affected by it. For example, Tong et al. showed that overexpression of the C3 component can activate the JAK2/STAT3 (janus kinase 2 / signal transducer and activator of transcription 3) pathway, and this correlates with the gastric adenocarcinoma progression [23]. That is, the regulated

надмірну пухлинозалежну продукцію C3, фактору комплементу В (CFB) та секреції C1q [25].

Ракові клітини здатні модулювати активність комплементу на свою користь, не зазнаючи його шкідливого впливу. Наприклад, Tong із співавт. показали, що надмірна експресія C3 компонента може активувати шлях JAK2/STAT3 (janus kinase 2 / signal transducer and activator of transcription 3), і це корелює з прогресуванням аденокарциноми шлунка [23]. Тобто, регульована активність комплементу запускає внутрішньоклітинні сигнальні шляхи пухлини в пухлинних, стромальних та імунних клітинах і впливає не лише на ріст пухлини, але й на етапи метастатичного процесу.

Сьогодні є специфічні інгібітори контрольних точок. Наприклад, можливий вплив на активність комплементу із застосуванням інгібітора на основі компстатину AMY-101 циклічної структури, що посилює його спорідненість до зв'язування та стабільність з C3-компонентом, запобігає розщепленню C3 на C3a та C3b, регулюючи систему комплементу [26]. Це підвищує здатність кількох методів лікування (променева терапія, хіміотерапія та імунотерапія), які застосовуються для онкологічних пацієнтів [23]. Така модуляція комплементу може бути перспективною стратегією в імунотерапії онкопатології. Блокування активації C3 компонента або генерація ефекторів наступних після C3 компонентів може значно послабити прозапальні наслідки патологічного процесу. Як генетична відсутність C3, так і блокування ефекторів комплементу, таких як C5a/C5aR1 мають терапевтичний потенціал, стримуючи шкідливі наслідки запального процесу, головним чином шляхом пригнічення активації моноцитів/нейтрофілів та інфільтрації імунних клітин [27].

Необхідно також враховувати наявність у пацієнтів симптомокомплексу постковідного синдрому, який сприяє розвитку патологічних змін різних ланок імунорезистентності, і має істотний вплив на прогресування онкологічної патології. Збільшення мутабельності, зокрема синдром накопичення мікросателітних повторів ДНК (simple sequence repeats) посилюється після пандемії SARS-CoV-2 у пацієнтів з симптомокомплексом постковідного синдрому [28]. При наявності цього феномену використовують інші методи імюнокорекції. В попередніх дослідженнях було показано, що наслідки постковідного синдрому можуть ускладнювати перебіг онкологічного захворювання через наявність тривалих запальних реакцій, надмірну активацію комплементу (особливо C3 компонента), секрецію прозапальних цитокінів, порушення проліферативного потенціалу, і моделювання мікрооточення пухлини, що знижує чутливість до імунотерапії [19].

Таким чином, система комплементу є ключовим компонентом вродженого імунітету, який бере участь у протилежних механізмах прогресування пухлини та терапії раку. Система комплементу може діяти як імунний ефектор проти раку та модулює протипухлинну активність певних терапевтичних антитіл (наприклад, антитіла проти C5 компонента: екулізумаб, равулізумаб, вілобелімаб [20]), але й може сприяти створенню мікрооточення (яке складається з імунних та неімунних клітин, таких як стромальні та судинні клітини, поряд з позаклітинним матриксом),

complement activity triggers intracellular tumor signaling pathways in tumor, stromal, and immune cells and affects not only tumor growth but also important steps in the metastatic process.

Today, there are specific checkpoint inhibitors. For example, it is possible to influence complement activity using the cyclic structure of the compstatin-based inhibitor AMY-101, which increases its binding affinity and stability to the C3 component, preventing the cleavage of C3 into C3a and C3b, thereby regulating the complement system [26]. This increases the efficacy of several treatments (radiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy) used in cancer patients [23]. Such complement modulation may be a promising strategy in the immunotherapy of cancer. Blocking of the C3 component activation or generating effectors downstream of C3 can significantly attenuate the pro-inflammatory consequences of the pathological process. Both genetic absence of C3 and blocking of complement effectors such as C5a/C5aR1 have therapeutic potential, restraining the harmful consequences of the inflammatory process, mainly by inhibiting monocyte/neutrophil activation and immune cell infiltration [27].

It is also necessary to take into account the presence of a post-COVID-19 syndrome (PCS) symptom complex in patients, which contributes to the pathological changes' development in various immunoresistance links, and has a significant impact on the oncological pathology progression. Increased mutability, including the syndrome of accumulation of DNA microsatellite repeats (simple sequence repeats), increased after the SARS-CoV-2 pandemic in patients with the PCS symptom complex [28]. In the presence of this phenomenon, other methods of immunocorrection are used. Previous studies have shown that the consequences of PCS can complicate the course of cancer due to the prolonged inflammatory reactions presence, excessive activation of complement (especially the C3 component), and secretion of pro-inflammatory cytokines, impaired proliferative potential, and modeling of the tumor microenvironment, which reduces sensitivity to immunotherapy [19].

Thus, the complement system is a key component of innate immunity, which is involved in opposing mechanisms of tumor progression and cancer therapy. The complement system can act as an immune effector against cancer and modulate the antitumor activity of certain therapeutic antibodies (e.g., antibodies against the C5 component: eculizumab, ravulizumab, vilobelimab [20]), but can also contribute to the creation of a microenvironment (composed of immune and non-immune cells, such as stromal and vascular cells, along with the extracellular matrix), which, in turn, promotes tumor progression [22]. Understanding this dual role of complement is the basis for the development and implementation of individualized immunotherapy strategies for oncological pathology.

що, в свою чергу, сприяє прогресуванню пухлинного процесу [22]. Розуміння цієї подвійної ролі комплекменту є основою до розробки та впровадження індивідуальних стратегій імунотерапії онкологічної патології.

ВИСНОВКИ

Система комплекменту з одного боку через опсонізацію чужорідних антигенів є індуктором процесів елімінації, зокрема пухлинних клітин, а з іншого боку, може забезпечувати альтернативні процеси в підтримці онкогенезу через індукцію хронічного запального процесу.

Значне порушення багатьох фізіологічних процесів, які впливають на швидкість біологічного старіння, є важливими для прогресування пухлинного процесу. Виявлені зміни показників системи комплекменту та вмісту цитотоксичних фракцій DAMPs у пацієнтів з коморбідним перебігом постковідного синдрому та аденокарциноми шлунка вказують на те, що в 1-й віковій групі негативним прогностичним фактором прогресування онкопроцесу може бути прискорене старіння, а в 2-й віковій групі на тлі фізіологічних темпів старіння – надмірна активація досліджуваних гуморальних маркерів.

У всіх вікових групах пацієнтів з коморбідним перебігом патологічних процесів був компенсаторно збільшений С3 компонент комплекменту на фоні зниження гемолітичної активності. Завершення цитолітичної функції не відбувалось, а навпаки розвивався хронічний запальний процес, який є додатковим індуктором малігнізації. Максимальне підвищення С3 компонента в 2-й групі відбувалось через дію інгібуючих механізмів пригнічення кінцевих компонентів комплекменту.

Збільшення концентрації циркулюючих імунних комплексів та зниження гемолітичної активності комплекменту відбувалось через його споживання, характерне для активного поточного імунотоксичного процесу, що спостерігали у всіх групах.

У 2-й віковій групі спостерігали максимальне збільшення сироваткового вмісту цитотоксичної олігонуклеотидної фракції DAMPs, до складу якої входила ДНК мітохондріального походження, що є певним фактором індукції запальних реакцій.

У випадках довготривалого підвищення вмісту компонентів комплекменту на тлі значного збільшення цитотоксичної олігонуклеотидної фракції DAMPs та циркулюючих імунних комплексів у пацієнтів 2-ї групи з коморбідною патологією і фізіологічними темпами старіння доцільним є застосування інгібіторів комплекменту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ajani J. A., D'Amico T. A., Bentrem D. J., et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2022. №20 (2). P. 167–192. DOI: <http://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0008>
2. di Martino E., Smith L., Bradley S. H., et al. Incidence trends for twelve cancers in younger adults – a rapid review. *British journal of cancer*. 2022. №126 (10). P. 1374–1386. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-022-01704-x>
3. Liu H., Ni S., Wang H., et al. Charactering tumor microenvironment reveals stromal-related transcription factors promote tumor

CONCLUSIONS

The complement system, on the one hand, through opsonization of foreign antigens, is an inducer of elimination processes, including tumor cells, and on the other hand, it can provide alternative processes in supporting oncogenesis through the chronic inflammatory process induction.

Significant disruption of many physiological processes that affect the rate of biological aging are important for the tumor process progression. The detected changes in the complement system indicators and the DAMPs cytotoxic fractions content in patients with comorbid post-COVID syndrome and gastric adenocarcinoma indicate that a negative prognostic factor for the oncological process progression may be accelerated aging in the 1st group and excessive activation of the studied humoral markers against the background of aging physiological rates in the 2nd group.

In all age groups of patients with comorbid pathological processes, the C3 component was compensatory increased against the background of a decrease in hemolytic activity. The completion of the cytolytic function did not occur, but on the contrary, a chronic inflammatory process developed, which is an additional inducer of malignancy. The maximum increase in the C3 component in the 2nd group occurred due to the inhibitory mechanisms action of the terminal complement components suppression.

The increase in the circulating immune complexes concentration and the decrease in complement hemolytic activity occurred due to its consumption, characteristic of the active ongoing immune complex process, which was observed in all groups.

In the 2nd age group, the maximum increase in the serum content of the cytotoxic oligonucleotide fraction DAMPs was observed, which included DNA of mitochondrial origin, which is a certain factor in the inflammatory reactions' induction.

In cases of long-term increase in the complement components content against the background of a significant increase in the cytotoxic oligonucleotide fraction DAMPs and circulating immune complexes in patients of the 2nd group with comorbid pathology and physiological aging rates, the use of complement inhibitors is advisable.

REFERENCES

1. Ajani JA, D'Amico TA, Bentrem DJ, Chao J, Cooke D, Corvera C, et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2022;20(2):167–92. DOI: <http://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0008>
2. di Martino E, Smith L, Bradley SH, Hemphill S, Wright J, Renzi C, et al. Incidence trends for twelve cancers in younger adults – a rapid review. *British journal of cancer*. 2022;126(10):1374–86. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-022-01704-x>
3. Liu H, Ni S, Wang H, Zhang Q, Weng W. Charactering tumor microenvironment reveals stromal-related transcription factors

- carcinogenesis in gastric cancer. *Cancer Medicine*. 2020. №9 (14). P. 5247–5257. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.3133>
4. Warenus H. M. The essential molecular requirements for the transformation of normal cells into established cancer cells, with implications for a novel anti-cancer agent. *Cancer Reports*. 2023. №6 (8). P. e1844. DOI: <https://doi.org/10.1002/cnr2.1844>
5. Dhillion P., Evan G. In conversation with Gerard Evan. *The FEBS Journal*. 2019. №286 (24). P. 4824–4831. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.15121>
6. Greten F. R., Grivennikov S. I. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity*. 2019. №51 (1). P. 27–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>
7. Клімова О., Дроздова Л., Лавінська О., та ін. Особливості порушення імунорезистентності при формуванні постковідного синдрому і розвитку невідкладної серцево-судинної патології. Медицина невідкладних станів. 2024. №20 (5). С. 338–350. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.20.5.2024.1733>
8. Xie Y., Liu F., Wu Y., et al. Inflammation in cancer: therapeutic opportunities from new insights. *Molecular Cancer*. 2025. №24 (1). P. 51. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-025-02243-8>
9. Jahankhani K., Ahangari F., Adcock I. M., et al. Possible cancer-causing capacity of COVID-19: Is SARS-CoV-2 an oncogenic agent? *Biochimie*. 2023. №213. P. 130–138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.05.014>
10. Choudhary S., Sharma K., Silakari O. The interplay between inflammatory pathways and COVID-19: A critical review on pathogenesis and therapeutic options. *Microbial pathogenesis*. 2021. №150. P. 104673. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104673>
11. Zong Z., Wei Y., Ren J., et al. The intersection of COVID-19 and cancer: signaling pathways and treatment implications. *Molecular Cancer*. 2021. №20 (1). P. 76. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01363-1>
12. Zhao H., Wu L., Yan G., et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal transduction and targeted therapy*. 2021. № 6 (1). P. 263. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>
13. Tan L. Y., Komarasamy T. V., RMT Balasubramaniam V. Hyperinflammatory Immune Response and COVID-19: A Double Edged Sword. *Frontiers in Immunology*. 2021. №12. P. 742941. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.742941>
14. Draxler A., Blaschke A., Binar J., et al. Age-related influence on DNA damage, proteomic inflammatory markers and oxidative stress in hospitalized COVID-19 patients compared to healthy controls. *Redox Biology*. 2023. №67. P. 102914. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102914>
15. Ye J., Ren Y., Chen J., et al. Prognostic Significance of Preoperative and Postoperative Complement C3 Depletion in Gastric Cancer: A Three-Year Survival Investigation. *BioMed Research International*. 2017. №2017 (1). P. 2161840. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2161840>
16. Pio R., Corrales L., Lambris J. D. The Role of Complement in Tumor Growth. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2013. №772. P. 229–262. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5915-6_11
17. Ajona D., Ortiz-Espinosa S., Pio R. Complement anaphylatoxins C3a and C5a: Emerging roles in cancer progression and treatment. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2019. №85. P. 153–163. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.11.023>
18. Afshar-Kharghan V. The role of the complement system in cancer. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017. №127 (3). P. 780–789. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI90962>
19. Klimova E. M., Lavinska O. V., Drozdova L. A. The role of DAMP cytotoxic fractions in the immune markers' disruption in patients with urgent surgical pathology and against the background of post-COVID-19 syndrome. *Immunology Letters*. 2025. №276. P. 107033. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2025.107033>
20. Ricklin D. Complement-targeted therapeutics: Are we there yet, or just getting started? *European Journal of Immunology*. 2024. №54. (12). P. e2350816. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.202350816>
21. Zhang R., Liu Q., Li T., et al. Role of the complement system in the tumor microenvironment. *Cancer Cell International*. 2019. №19. P. 300. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12935-019-1027-3>
22. Ajona D., Cragg M. S., Pio R. The complement system in clinical oncology: Applications, limitations and challenges. *Seminars in Immunology*. 2025. №77. P. 101921. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2024.101921>
23. Tong X., Yang X., Tong X., et al. Complement system-related genes in stomach adenocarcinoma: Prognostic signature, immune landscape, and drug resistance. *Frontiers in Genetics*. 2020. №13. P. 903421. DOI: <http://doi.org/10.3389/fgene.2022.903421>
24. Schmidt C. Q., Lambris J. D., Ricklin D. Protection of host cells by complement regulators. *Immunological Reviews*. 2016. №274 (1). P. 152–171. DOI: <http://doi.org/10.1111/imr.12475>
25. Oliveira-Ferrer L., Milde-Langosch K., Eylmann K., et al. Mechanisms of Tumor-Lymphatic Interactions in Invasive Breast and Prostate promote tumor carcinogenesis in gastric cancer. *Cancer Medicine*. 2020;9(14):5247–57. DOI: <https://doi.org/10.1002/cam4.3133>
4. Warenus HM. The essential molecular requirements for the transformation of normal cells into established cancer cells, with implications for a novel anti-cancer agent. *Cancer Reports*. 2023. №6 (8). P. e1844. DOI: <https://doi.org/10.1002/cnr2.1844>
5. Dhillion P., Evan G. In conversation with Gerard Evan. *The FEBS journal*. 2019;286(24):4824–31. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.15121>
6. Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity*. 2019;51(1):27–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>
7. Klimova O, Drozdova L, Lavinska O, Boyko V, Buchneva O, Pogulaylo O. Peculiarities of impaired immunoresistance in the formation of post-COVID syndrome and the acute cardiovascular pathology. *Emergency medicine*. 2024;20(5):338–50. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.20.5.2024.1733>
8. Xie Y, Liu F, Wu Y, Zhu Y, Jiang Y, Wu Q, et al. Inflammation in cancer: therapeutic opportunities from new insights. *Molecular Cancer*. 2025;24(1):51. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-025-02243-8>
9. Jahankhani K, Ahangari F, Adcock IM, Mortaz, E. Possible cancer-causing capacity of COVID-19: Is SARS-CoV-2 an oncogenic agent? *Biochimie*. 2023;213:130–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.05.014>
10. Choudhary S, Sharma K, Silakari O. The interplay between inflammatory pathways and COVID-19: A critical review on pathogenesis and therapeutic options. *Microbial pathogenesis*. 2021;150:104673. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104673>
11. Zong Z, Wei Y, Ren J, Zhang L, Zhou F. The intersection of COVID-19 and cancer: signaling pathways and treatment implications. *Molecular cancer*. 2021;20(1):76. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01363-1>
12. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, Li Y. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal transduction and targeted therapy*. 2021;6(1):263. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>
13. Tan LY, Komarasamy TV, RMT Balasubramaniam V. Hyperinflammatory Immune Response and COVID-19: A Double Edged Sword. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:742941. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.742941>
14. Draxler A, Blaschke A, Binar J, Weber M, Haslacher M, Bartak V, et al. Age-related influence on DNA damage, proteomic inflammatory markers and oxidative stress in hospitalized COVID-19 patients compared to healthy controls. *Redox biology*. 2023;67:102914. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102914>
15. Ye J, Ren Y, Chen J, Song W, Chen C, Cai S, et al. Prognostic Significance of Preoperative and Postoperative Complement C3 Depletion in Gastric Cancer: A Three-Year Survival Investigation. *BioMed Research International*. 2017;2017:2161840. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2161840>
16. Pio R, Corrales L, Lambris JD. The Role of Complement in Tumor Growth. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2013;772:229–62. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5915-6_11
17. Ajona D, Ortiz-Espinosa S, Pio R. Complement anaphylatoxins C3a and C5a: Emerging roles in cancer progression and treatment. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2019;85:153–63. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.11.023>
18. Afshar-Kharghan V. The role of the complement system in cancer. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(3):780–89. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI90962>
19. Klimova EM, Lavinska OV, Drozdova LA. The role of DAMP cytotoxic fractions in the immune markers' disruption in patients with urgent surgical pathology and against the background of post-COVID-19 syndrome. *Immunology Letters*. 2025;276:107033. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2025.107033>
20. Ricklin D. Complement-targeted therapeutics: Are we there yet, or just getting started? *European Journal of Immunology*. 2024;54(12):e2350816. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.202350816>
21. Zhang R, Liu Q, Li T, Liao Q, Zhao Y. Role of the complement system in the tumor microenvironment. *Cancer Cell International*. 2019;19:300. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12935-019-1027-3>
22. Ajona D, Cragg MS, Pio R. The complement system in clinical oncology: Applications, limitations and challenges. *Seminars in Immunology*. 2025;77:101921. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2024.101921>
23. Tong X, Yang X, Tong X, Zhai D, Liu Y. Complement system-related genes in stomach adenocarcinoma: Prognostic signature, immune landscape, and drug resistance. *Frontiers in Genetics*. 2020;13:903421. DOI: <http://doi.org/10.3389/fgene.2022.903421>
24. Schmidt CQ, Lambris JD, Ricklin D. Protection of host cells by complement regulators. *Immunological Reviews*. 2016;274:152–71. DOI: <http://doi.org/10.1111/imr.12475>
25. Oliveira-Ferrer L, Milde-Langosch K, Eylmann K, Rossberg M, Müller V, Schmalfeldt B, et al. Mechanisms of Tumor-Lymphatic Interactions in Invasive Breast and Prostate Carcinoma.

- Carcinoma. International Journal of Molecular Sciences. 2020. №21 (2). P. 602. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21020602>
26. Mastaglio S., Ruggeri A., Risitano A. M., et al. The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101. *Clinical immunology*. 2020. №215. P. 108450. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108450>
27. Gralinski L. E., Sheahan T. P., Morrison T. E., et al. Complement Activation Contributes to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis. *MBio*. 2018. №9 (5). P. e01753–18. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.01753-18>
28. Risitano A. M., Mastellos D. C., Huber-Lang M., et al. Complement as a target in COVID-19? *Nature reviews Immunology*. 2020. №20. P. 343–344. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0320-7>
- International journal of molecular sciences. 2020;21(2):602. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21020602>
26. Mastaglio S., Ruggeri A., Risitano AM, Angelillo P, Yancopoulou D, Mastellos DC, et al. The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101. *Clinical immunology*. 2020;215:108450. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108450>
27. Gralinski LE, Sheahan TP, Morrison TE, Menachery VD, Jensen K, Leist SR, et al. Complement Activation Contributes to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Pathogenesis. *MBio*. 2018;9(5):e01753–18. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.01753-18>
28. Risitano AM, Mastellos DC, Huber-Lang M, Yancopoulou D, Garlanda C, Ciceri F, et al. Complement as a target in COVID-19? *Nature reviews Immunology*. 2020;20:343–44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0320-7>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що інтерпретація результатів обмежена видовими чинниками та ресурсними рамками. Розмір груп і часткова рандомізація знижують точність і підвищують ризик систематичних помилок; міжлабораторної реплікації не виконано. Для зменшення впливів дотримано Настанов щодо Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice – GLP), стандартизовано протоколи, детально описано статистичні процедури. Результати є попередніми; підтвердження потребує багатоцентрових повторень та оцінювання клінічно значущих кінцевих точок.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується продовження дослідження гуморальних факторів імунорезистентності, які можуть виступати контрольними точками для проведення імунотерапії при аденокарциномі шлунка.

Конфлікт інтересів

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

Дотримання етичних норм

Дослідження було проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» (переглянутої у 2013 році) та схваленої Етичним комітетом Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України» (Харків, Україна) відповідно до вимог, прийнятих міжнародною спільнотою, та чинних нормативно-правових актів України: «Конвенції про захист прав людини та гідності людини стосовно застосування біології та медицини» (1997). Усі учасники надали підписану інформовану згоду перед включенням до дослідження. Обстеження пацієнтів проводились відповідно до зазначених нормативних документів та принципів добровільності, конфіденційності й безпеки пацієнтів.

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань

Limitations of the study

The authors of the manuscript acknowledge that the interpretation of the results is limited by species and resource constraints. Group size and partial randomization reduce precision and increase the risk of bias; interlaboratory replication was not performed. Good Laboratory Practice (GLP) guidelines were followed to minimize bias, protocols were standardized, and statistical procedures were described in detail. Results are preliminary; confirmation requires multicenter replication and assessment of clinically relevant endpoints.

Prospects for further research

In the future, it is planned to continue the study of immunoresistance humoral factors, which may serve as control points for immunotherapy in gastric adenocarcinoma.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, and other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the materials provided, or who sponsored the research conducted.

Ethics statement

The study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects» (revised in 2013) and approved by the Ethics Committee of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine) in accordance with the requirements adopted by the international community and the current regulatory legal acts of Ukraine: «Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine» (1997). All participants provided signed informed consent before inclusion in the study. Patient examinations were conducted in accordance with the specified regulatory documents and the principles of voluntariness, confidentiality and patient safety.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that in the process of conducting the research and preparing this manuscript, they did not use any generative artificial intelligence tools or services to perform any tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All

генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних експериментальних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники, лабораторні результати, експериментальні протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням етичних норм та правових обмежень.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України. Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України» «Дослідити вплив тригерних факторів (вірус SARS-CoV-2 і стрес) на реакцію показників імунно-нейро-ендокринного комплексу і формування предикторів розвитку ускладненої злоякісної патології», номер державної реєстрації 0124U004945, фундаментальна, терміни виконання 2025–2027 рр., керівник – завідувачка діагностичної лабораторії з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, доктор біологічних наук, професор О.М. Клімова.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Лавінська Олена Володимирівна – кандидат біологічних наук, доцент, старший науковий співробітник діагностичної лабораторії з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України»; доцент кафедри молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: lavinska.ov@gmail.com

моб.: +38 (050) 166-71-41

Внесок автора: збір даних, аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті.

Клімова Олена Михайлівна – доктор біологічних наук, професор, завідувачка діагностичної лабораторії з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України»; професор кафедри молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: labionhnamnu@gmail.com

моб.: +38 (050) 303-31-72

Внесок автора: концепція та дизайн дослідження, аналіз та інтерпретація даних, остаточне затвердження статті.

stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed without the involvement of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Primary data and materials

The authors of the manuscript consciously certify that the work uses the results of their own experimental studies, which were systematized and analyzed by the authors. Primary data include generalized indicators, laboratory results, experimental protocols and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the archive of the research group and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, taking into account ethical norms and legal restrictions.

Funding information

Funding from the State Budget of Ukraine. The article is a fragment of the research work of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» «To study the influence of trigger factors (SARS-CoV-2 virus and stress) on the reaction of the immune-neuro-endocrine complex indicators and the predictors formation of the complicated malignant pathology development», state registration number 0124U004945, fundamental, implementation dates 2025–2027, head – head of the diagnostic laboratory with enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescent analysis, Doctor of Biological Sciences, Professor O.M. Klimova.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Lavinska Olena Volodymyrivna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor; Senior Research Officer of Diagnostic Laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Associate Professor of the Department of Molecular Biology and Biotechnology 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: lavinska.ov@gmail.com

tel.: +38 (050) 166-71-41

Author's contribution: data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing.

Klimova Olena Mikhailovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Diagnostic Laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Professor of the Department of Molecular Biology and Biotechnology 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: labionhnamnu@gmail.com

tel.: +38 (050) 303-31-72

Author's contribution: research concept and design, data analysis and interpretation, final approval of the article.

Сушков Сергій Валентинович – доктор медичних наук, професор, заступник директора з наукової роботи Державної установи «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева Національної академії медичних наук України», Лікарський в'їзд, буд. 1, м. Харків, Україна, 61103;

е-mail: labionhnamnu@gmail.com

моб.: +38 (067) 570-79-49

Внесок автора: збір даних, аналіз та інтерпретація даних, остаточне затвердження статті.

Sushkov Sergey Valentinovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director of research of the State Institution «V.T. Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 1 Likarskyi vyizd, Kharkiv, Ukraine, 61103;

е-mail: labionhnamnu@gmail.com

моб.: +38 (067) 570-79-49

Author's contribution: data collection, data analysis and interpretation.

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 18.08.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 25.09.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-05>
УДК: 616.006.6-006.66-076:578.825.13-085.28



Дослідження частоти реактивації герпесвірусних інфекцій при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на рак грудної залози

Отченаш Н.М.^{1,2}, <https://orcid.org/0009-0004-0848-7308>, e-mail: nat.otchenash@gmail.com
Малярєва Л.В.¹, <https://orcid.org/0000-0002-7902-7016>, e-mail: l.v.maliarova@karazin.ua

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна
²Комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради
«Обласний центр онкології», Харків, Україна

Study of the frequency of herpesvirus infection reactivation during neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer

Otchenash N.M.^{1,2}, <https://orcid.org/0009-0004-0848-7308>, e-mail: nat.otchenash@gmail.com
Maliarova L.V.¹, <https://orcid.org/0000-0002-7902-7016>, e-mail: l.v.maliarova@karazin.ua

¹V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
²Communal non-profit enterprise of the Kharkiv Regional Council
«Regional Center of Oncology», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

герпесвірусні інфекції, реактивація, імуносупресія, неоад'ювантна хіміотерапія, ускладнення, відносні ризики.

Для кореспонденції:

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

© Отченаш Н.М.,
Малярєва Л.В., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. У структурі онкологічних захворювань рак грудної залози займає одне із лідируючих місць у всьому світі, тому дослідження спрямовані на розробку ефективних схем моніторингу та профілактики ускладнень, що можуть бути пов'язані з інфекційними агентами при проведенні поліхіміотерапії є вельми актуальними.

Мета роботи – дослідити та оцінити частоту реактивації герпесвірусних інфекцій у хворих на рак грудної залози при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії.

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження була слина та сироватка хворих, яка була отримана до початку проведення терапії (I період) та в період завершення курсу (II період).

Серологічні та молекулярно-генетичні дослідження проводилися методом проточної цитофлюометрії з використанням аналізатора BioPlex 2200 та тест-систем BioRad (США) та ампліфікатора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралія). Статистична обробка даних проводилась за допомогою IBM SPSS Statistics for Windows програмне забезпечення для статистичного аналізу версії 22.

Результати. Дослідження виявило високий рівень статистичної значущості ризиків реактивації (відносних ризиків) для ВЕБ-інфекції (ВЕБ NA IgG, ВР на рівні 0,035 (95% ДІ 0,011–0,109; $p < 0,001$; $\chi^2 = 49,001$) та ВЕБ VCA IgG – ВР на рівні 0,040 (95% ДІ 0,015–0,110; $p < 0,001$; $\chi^2 = 51,822$). Найнижчі значення ВР на рівні 0,033 та 0,050 вказують на найбільше підвищення ризиків системної реактивації ВЕБ ДНК (кров) (95% ДІ 0,002–0,563; $p < 0,001$; $\chi^2 = 13,241$) та активної реплікації ВЕБ ДНК (слина) – (95% ДІ 0,020–0,125; $p < 0,001$; $\chi^2 = 50,443$).

До групи високого ризику віднесено ВПГ-1 та ВПГ-6 – ВПГ-1 IgG (ВР на рівні 0,141 (95% ДІ 0,065–0,307; $p < 0,001$; $\chi^2 = 26,339$); ВПГ-6 IgG (ВР на рівні 0,288 (95% ДІ 0,135–0,614; $p < 0,001$; $\chi^2 = 10,880$); та виражену реплікативну активність ВПГ-1 ДНК (слина) (ВР на рівні 0,089 (95% ДІ 0,020–0,405; $p < 0,001$; $\chi^2 = 13,906$). ЦМВ і ВПГ-2 продемонстрували нижчу частоту реактивації (ЦМВ IgG-64,1%, ВР на рівні 0,360 (95% ДІ 0,176–0,736; $p = 0,005$; $\chi^2 = 8,008$), ВПГ-2 – 42,2%, ВР на рівні 0,196 (95% ДІ 0,080–0,478; $p < 0,001$; $\chi^2 = 14,196$). ВПГ-2 IgM, ЦМВ IgM, ЦМВ ДНК (кров), ВПГ-3 IgM, ВПГ-6 ДНК (кров) не досягли статистичної значущості ($p > 0,05$).

Висновки. Реактивація герпесвірусів може впливати на ефективність та результати хіміотерапії та розвиток ускладнень у хворих на рак грудної залози.

Для цитування:

Отченаш Н.М., Малиарова Л.В. Дослідження частоти реактивації герпесвірусних інфекцій при проведенні неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на рак грудної залози. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 735–747. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-05>

Keywords:

herpesvirus infections, reactivation, immunosuppression, neoadjuvant chemotherapy, complications, relative risks.

For correspondence:

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

© Отченаш Н.М.,
Малиарова Л.В., 2025

ABSTRACT

Background. In the structure of oncological diseases, breast cancer ranks among the leading malignancies worldwide. Therefore, studies aimed at developing effective monitoring and prevention strategies for complications potentially associated with infectious agents during polychemotherapy are of significant relevance.

Purpose – to investigate and evaluate the frequency of herpesvirus infection reactivation in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy.

Materials and Methods. The material for the study consisted of saliva and serum samples obtained from patients prior to the initiation of therapy (Period I) and upon completion of the treatment course (Period II).

Serological and molecular genetic analyses were performed using flow cytometry with a BioPlex 2200 analyzer and Bio-Rad (USA) test systems, as well as a Rotor-Gene 6000 amplifier (Corbett Research, Australia). Statistical data analysis was carried out using IBM SPSS Statistics for Windows, version 22.

Results. The study revealed a high level of statistical significance for the relative risk of reactivation associated with EBV infection – EBV NA IgG, RR = 0.035 (95% CI 0.011–0.109; $p < 0.001$; $\chi^2 = 49.001$) and EBV VCA IgG, RR = 0.040 (95% CI 0.015–0.110; $p < 0.001$; $\chi^2 = 51.822$). The lowest RR values – 0.033 and 0.050 – indicated the highest risk of systemic EBV DNA reactivation (blood) (95% CI 0.002–0.563; $p < 0.001$; $\chi^2 = 13.241$) and active EBV DNA replication (saliva) (95% CI 0.020–0.125; $p < 0.001$; $\chi^2 = 50.443$), respectively.

The high-risk group also included HSV-1 and HHV-6: HSV-1 IgG, RR = 0.141 (95% CI 0.065–0.307; $p < 0.001$; $\chi^2 = 26.339$); HHV-6 IgG, RR = 0.288 (95% CI 0.135–0.614; $p < 0.001$; $\chi^2 = 10.880$); and pronounced replicative activity of HSV-1 DNA (saliva), RR = 0.089 (95% CI 0.020–0.405; $p < 0.001$; $\chi^2 = 13.906$). In contrast, CMV and HSV-2 demonstrated a lower frequency of reactivation: CMV IgG – 64.1%, RR = 0.360 (95% CI 0.176–0.736; $p = 0.005$; $\chi^2 = 8.008$); HSV-2 – 42.2%, RR = 0.196 (95% CI 0.080–0.478; $p < 0.001$; $\chi^2 = 14.196$). Markers HSV-2 IgM, CMV IgM, CMV DNA (blood), HSV-3 IgM, and HHV-6 DNA (blood) did not reach statistical significance ($p > 0.05$).

Conclusions. Herpesvirus reactivation may influence the efficacy and outcomes of chemotherapy and contribute to the development of complications in patients with breast cancer.

For citation:

Отченаш НМ, Малиарова ЛВ. Study of the frequency of herpesvirus infection reactivation during neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):735–747. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-05>

ВСТУП

Рак грудної залози (РГЗ) залишається однією з провідних медико-соціальних проблем сучасної онкології, посідаючи друге місце серед усіх злоякісних новоутворень у світі [1]. Незважаючи на впровадження профілактичних програм і вдосконалення методів лікування, захворюваність на РГЗ продовжує зростати [2].

Сучасне лікування РГЗ є етапним, багатокомпонентним процесом, який передбачає індивідуальний підхід. Поліхіміотерапія, що широко застосовується при лікуванні РГЗ, може супроводжуватися розвитком різноманітних побічних ефектів, вираженість яких визначається типом препарату, дозуванням, тривалістю терапії та індивідуальними особливостями імунного статусу пацієнта [3–9].

Інфекційні ускладнення, що пов'язані з вторинними імуносупресивними станами, становлять одну із провідних проблем сучасної клінічної медицини.

INTRODUCTION

Breast cancer (BC) remains one of the leading medical and social challenges in modern oncology, ranking second among all malignant neoplasms worldwide [1]. Despite the implementation of preventive programs and improvements in treatment methods, the incidence of BC continues to rise [2].

Modern breast cancer therapy is a stepwise, multicomponent process that requires an individualized approach. Polychemotherapy, which is widely used in BC treatment, may be accompanied by the development of various side effects, the severity of which depends on the type of drug, dosage, duration of therapy, and the individual characteristics of the patient's immune status [3–9].

Infectious complications associated with secondary immunosuppressive conditions represent one of the leading problems in modern clinical medicine. They significantly affect the course, prognosis, and quality

Вони істотно впливають на перебіг, прогноз та якість життя пацієнтів з онкологічними захворюваннями, коли імунна недостатність формується як під дією онкологічного процесу, так і внаслідок проведення хіміотерапії.

Використання цитостатиків, таргетних та імуносупресивних препаратів зумовлює значне пригнічення клітинних і гуморальних механізмів імунної відповіді. Унаслідок цього латентні віруси можуть переходити в активну фазу реплікації [10].

Серед спектра ускладнень при проведенні неoad'ювантної хіміотерапії (НАХТ) у хворих на РГЗ однією із найсерйозніших проблем є реактивовані вірусні інфекції, що характеризуються довічною персистенцією, адже у періоди імуносупресії вони можуть зумовлювати тяжкі, інколи летальні ускладнення, оскільки їх патогенез пов'язаний з «уникненням» від адекватної відповіді імунної системи [11].

Саме це визначає необхідність ретельного моніторингу латентних інфекцій, оцінки їх впливу на якість життя, перебіг основного захворювання та ефективності лікування.

Найбільш частими латентними патогенами, що становлять загрозу для хворих з онкологічними захворюваннями, є герпесвіруси. Для хворих з онкопатологією найбільшу загрозу становлять вірус простого герпесу (*herpes simplex virus*, HSV), що зберігається у нервових гангліях; вірус вітряної віспи (*varicella zoster virus*, VZV) який у латентній фазі локалізується у сенсорних гангліях, а його реактивація призводить до розвитку опістотичного герпесу; цитомегаловірус (*cytomegalovirus*, CMV, ЦМВ), реактивація якого асоціюється з ураженням легень, печінки, сітківки ока та розвитком генералізованих цитомегаловірусних інфекцій та вірус Епштейна–Барр (Epstein-Barr virus, EBV, ВЕБ) з реактивацією якого описаний розвиток пневмоніту, що є особливо небезпечним для таких пацієнтів [11, 26, 28].

Мета роботи – дослідити та оцінити частоту реактивації герпесвірусних інфекцій у хворих на рак грудної залози при проведенні неoad'ювантної хіміотерапії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано на клінічній базі медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України – Комunalного некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласний центр онкології» (директор, доктор медичних наук, професор Лихман В.М.) в науково-дослідній роботі: «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: 11.2023–11.2028 рр., керівник науково-дослідної роботи – завідувачка кафедри, кандидат медичних наук, доцент Волобуєва Ольга Вікторівна.

Дизайн дослідження був схвалений комісією з питань біоетики медичного факультету Харківського

of life of cancer patients, as immunodeficiency develops both as a result of the oncological process itself and due to chemotherapy.

The use of cytostatic, targeted, and immunosuppressive agents leads to significant suppression of both cellular and humoral immune response mechanisms. As a result, latent viruses may enter an active phase of replication [10].

Among the spectrum of complications observed during neoadjuvant chemotherapy (NACT) in patients with breast cancer, reactivated viral infections constitute one of the most serious problems. These infections are characterized by lifelong persistence and, during periods of immunosuppression, may cause severe, sometimes fatal, complications, since their pathogenesis is associated with the ability to evade adequate immune responses [11].

This highlights the necessity for careful monitoring of latent infections and assessment of their impact on quality of life, disease progression, and treatment effectiveness.

The most common latent pathogens posing a threat to patients with oncological diseases are herpesviruses. Among cancer patients, the greatest risk is associated with the herpes simplex virus (HSV), which persists in neural ganglia; the varicella-zoster virus (VZV), which remains latent in sensory ganglia and whose reactivation leads to the development of herpes zoster; the cytomegalovirus (CMV), whose reactivation is associated with damage to the lungs, liver, and retina, as well as the development of generalized cytomegalovirus infections; and the Epstein–Barr virus (EBV), whose reactivation has been linked to the development of pneumonitis, posing a particular danger to such patients [11, 26, 28].

Objective – To investigate and assess the frequency of herpesvirus infection reactivation in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy and to propose a monitoring protocol.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The study was conducted at the clinical base of the School of Medicine of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine – the Municipal Non-Commercial Enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Oncology Center» (Director: Professor Volodymyr M. Lykhan) – within the framework of the research project «Investigation of the role of immune, autoimmune, and metabolic disorders in the pathogenesis and outcomes of infectious processes caused by bacteria, viruses, and viral-bacterial associations in acute, prolonged, and chronic diseases, and improvement of treatment strategies» (State registration No. 0123U105022, project duration: November 2023 – November 2028; scientific supervisor: Olha V. Volobueva, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department).

The study design was approved by the Bioethics Committee of the School of Medicine of V.N. Karazin

національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (протокол №3 від 13.12.2023 року) та проведені згідно з письмовою згодою учасників і відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)» [12].

Клінічна і патологічна характеристика досліджуваної групи

В дослідження було включено дані 64 жінок IIA та IIIB стадії ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$ стадії) РГЗ, з HER-2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2) негативним статусом, що знаходились на лікуванні у Комунальному некомерційному підприємстві Харківської обласної ради «Обласний центр онкології» у 2022–2024 рр. Включення пацієнток до програми обстеження та лікування проводилося після підтвердження діагнозу РГЗ. Пацієнткам, згідно зі стандартами, було призначено курс передопераційної хіміотерапії за схемою AC (циклофосфамід 600 мг/м² у 1-й день, доксорубіцин 60 мг/м² у 1-й день, кожні 2–3 тижні, 4 цикли), потім паклітаксел 80 мг/м² щотижня 12 введень). Середній вік пацієнток складав $43,6 \pm 10,5$ року.

Результати дослідження базувались на даних медичних карт кожної пацієнтки, що дозволило нам визначити клінічні та патологічні характеристики РГЗ (табл. 1).

Матеріалом для дослідження наявності ДНК та антитіл до окремих типів герпесвірусів була слина та сироватка крові хворих на РГЗ, яка була отримана до початку проведення ПХТ (I період) та в період завершення курсу (II період). Кров для досліджень

Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (Protocol No. 3 dated 13 December 2023) and was carried out in accordance with the written informed consent of all participants and the ethical principles outlined in the *Declaration of Helsinki* («*Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects*») and the *Universal Declaration on Bioethics and Human Rights* (UNESCO) [12].

Clinical and Pathological Characteristics of the Study Group

The study included data from 64 women diagnosed with stage IIA–IIIB ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$) breast cancer with HER2-negative (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) status, who were treated at the Regional Oncology Center between 2022 and 2024.

Enrollment of patients into the examination and treatment program was conducted after histopathological confirmation of the breast cancer diagnosis. According to standard clinical protocols, patients received a course of neoadjuvant chemotherapy following the AC regimen (cyclophosphamide 600 mg/m² on day 1 and doxorubicin 60 mg/m² on day 1, every 2–3 weeks, for 4 cycles), followed by paclitaxel 80 mg/m² weekly for 12 administrations. The mean age of the patients was 43.6 ± 10.5 years.

The results of the study were based on data obtained from the medical records of each patient, which allowed us to determine the clinical and pathological characteristics of breast cancer (Table 1).

Biological material used for the detection of herpesvirus DNA and antibodies included saliva and serum samples collected from patients prior to the initiation of chemotherapy (Period I) and after completion of the chemotherapy course (Period II). Blood samples

Таблиця 1. Клінічні та патологічні характеристики досліджуваної групи (n = 64)
Table 1. Clinical and pathological characteristics of the study population (n = 64)

Показник	Маркер	Кількість (абс., %)
Гістологічний тип / Histological type	Інвазивна протокова карцинома (ІПК) / Invasive ductal carcinoma (IDC)	54 (84,4%)
	Інвазивна лобулярна карцинома (ІЛК) / Invasive lobular carcinoma ILC	10 (15,6%)
Локація РГЗ / Location BC	Ліва ГЗ / Left	26 (40,6%)
	Права ГЗ / Right	38 (59,4%)
Статус рецепторів гормонів / Hormone receptor status (HR)	Позитивний / Positive	53 (82,8)
	Негативний / Negative	-
HER2-статус / HER2-status	Позитивний / Positive	-
	Негативний / Negative	64 (100%)
HR- / HER2-	Triple negative	11 (17,2%)
Ступінь злоякісності / Grade of malignancy	G ₁	11 (17,2%)
	G ₂	38 (59,4%)
	G ₃	15 (23,4%)
Розмір пухлини / Tumor size	T ₁	2 (3,1%)
	T ₂	39 (60,9%)
	T ₃	23 (36%)
	T ₄	-
Лімфатичні вузли / Lymph Nodes	N ₀	19 (29,7%)
	N ₁	27 (42,2%)
	N ₂	13 (20,3%)
	N ₃	5 (7,8%)

Абревіатури / Abbreviations:

ІПК – інвазивна протокова карцинома / IDC – invasive ductal carcinoma;

ІЛК – інвазивна лобулярна карцинома / ILC – invasive lobular carcinoma; HER2 – Рецептор 2 епідермального фактора росту людини / Human Epidermal growth factor Receptor 2;

G – ступінь злоякісності / grade of malignancy.

збирали натще із ліктьової вени у стерильну пробірку типу «Епендорф».

Серологічні дослідження проводилися методом проточної цитофлюометрії з використанням аналізатора BioPlex 2200 та тест-систем BioRad (США). Молекулярно-генетичні дослідження щодо виявлення ДНК герпесвірусів проводилися методом ПЛР із зворотною транскрипцією з використанням ампліфікатора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралія).

Статистична обробка даних проводилась за допомогою IBM SPSS Statistics for Windows програмне забезпечення для статистичного аналізу версії 22. Відмінності оцінювали за допомогою точного критерію Фішера та Пірсона χ^2 -квадрат за потреби для категоріальних змінних і t-критерієм Стюдента для безперервних змінних. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз клінічної та патологічної характеристики хворих, що були включені у дослідження (табл. 2), виявив наявність ІПК у 54 (84,4%) хворих, з домінуючою локалізацією процесу у правій ГЗ – 38 (59,4%), HR-/HER2- (triple negative) – у 11 (17,2%). Більшість пацієнток мали ступінь злоякісності G_2 – 38 (59,4%), розмір пухлини T_2 – 39 (60,9%) та ураження лімфатичних вузлів N_1 – у 27 (42,2%).

Дослідження було проведено з метою оцінки реактивації герпесвірусних інфекцій у хворих на РГЗ при проведенні неoad'ювантної хіміотерапії.

Критерії реактивації ГІ при динамічному спостереженні базувались на підвищенні вмісту антитіл IgM, підвищенні вмісту IgG порівняно з результатами I періоду мінімум у 2 рази, підвищенні вмісту ДНК у сироватці на 2 Ig та наявності ДНК у сироватці крові.

Серологічне дослідження щодо наявності антитіл до вірусу простого герпесу 1 типу (ВПГ-1, HHV-1) та ДНК ВПГ-1 (кількісно) дозволило встановити їх підвищення у II періоді дослідження. Наявність IgM ВПГ-1 у хворих на РГЗ до проведення НАХТ (I період) було виявлено у 1 пацієнтки (1,6%), тоді як у II періоді підвищення рівнів IgM ВПГ-1 відзначалося у 12 хворих (18,8%). Дослідження вмісту IgG ВПГ-1 виявило їх підвищений вміст у 16 хворих (25%) у I періоді та вірогідне підвищення у 45 (70,3%) пацієнток у II періоді дослідження. Схожа тенденція відзначалася при кількісному дослідженні наявності ДНК ВПГ-1 у сироватці хворих на РГЗ – 2 пацієнтки (3,1%) до проведення НАХТ (I період) та 17 пацієнток (26,6%) у II періоді. Реактивація ВПГ-1 маніфестувала з клінічних проявів лабіального герпесу у 29 пацієнток (45,3%), герпесу носової порожнини у 8 пацієнток (12,5%) та герпетичного стоматиту у 5 хворих (7,8%) і однієї особи діагностовано розвиток вірусного пневмоніту.

Дослідження наявності підвищених рівнів антитіл до вірусу простого герпесу 2-го типу (ВПГ-2, HHV-2) виявило значуще підвищення їх вмісту у II періоді дослідження. Наявність IgM до ВПГ-2 була визначена у однієї пацієнтки (1,6%) у II періоді. Однак підвищення IgG ВПГ-2 виявлено у 27 пацієнток (42,2%) у II періоді проти 8 пацієнток (12,5%) у I періоді та кількісному

were collected in the fasting state from the cubital vein into sterile Eppendorf tubes.

Serological analyses were performed using flow cytometry on the BioPlex 2200 analyzer with Bio-Rad (USA) test systems. Molecular genetic analyses for the detection of herpesvirus DNA were carried out using reverse transcription PCR (RT-PCR) on a Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia) amplifier.

Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics for Windows, version 22. Differences were assessed using Fisher's exact test and Pearson's chi-square test for categorical variables, and Student's t-test for continuous variables. Pearson's correlation coefficient was used to determine correlations between variables. A p -value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Analysis of the clinical and pathological characteristics of the patients included in the study (Table 2) revealed that invasive ductal carcinoma (IDC) was present in 54 (84.4%) patients, with the right breast being the predominant site of tumor localization – 38 (59.4%) cases. The HR-/HER2- (triple-negative) subtype was identified in 11 (17.2%) patients. Most patients had a grade 2 (G_2) malignancy – 38 (59.4%), a tumor size of T_2 – 39 (60.9%), and lymph node involvement N_1 in 27 (42.2%) cases.

The study was conducted to assess the reactivation of herpesvirus infections in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy (NACT).

Criteria for herpesvirus infection reactivation during dynamic observation were based on an increase in IgM antibody levels, a minimum twofold increase in IgG levels compared with the first period, a two-log increase in viral DNA content in saliva, and the presence of viral DNA in blood serum.

Serological analysis for the presence of antibodies to herpes simplex virus type 1 (HSV-1, HHV-1) and quantitative detection of HSV-1 DNA revealed an increase in these parameters during the second study period. The presence of HSV-1 IgM antibodies in breast cancer patients prior to neoadjuvant chemotherapy (Period I) was detected in 1 patient (1.6%), whereas in Period II, elevated HSV-1 IgM levels were observed in 12 patients (18.8%). Assessment of HSV-1 IgG demonstrated elevated levels in 16 patients (25%) during Period I and a significant increase in 45 patients (70.3%) during Period II. A similar trend was observed in the quantitative detection of HSV-1 DNA in saliva, where 2 patients (3.1%) tested positive before the initiation of neoadjuvant chemotherapy (Period I), compared to 17 patients (26.6%) in Period II. HSV-1 reactivation manifested clinically as labial herpes in 29 patients (45.3%), nasal herpes in 8 patients (12.5%), herpetic stomatitis in 5 patients (7.8%), and viral pneumonitis was diagnosed in one patient.

Investigation of antibodies to herpes simplex virus type 2 (HSV-2, HHV-2) also revealed a significant increase during Period II. The presence of HSV-2 IgM was detected in 1 patient (1.6%) after therapy. However, an increase in HSV-2 IgG was found in 27 patients (42.2%) in Period II compared to 8 patients (12.5%)

вмісту у слині ДНК ВПГ-2 – 12 хворих (18,8%) проти однієї хворої (1,6%).

Визначення серологічних показників до ВПГ-3 (Varicella zoster virus, VZV) у II періоді виявило підвищення IgM у 4,7% (3 хворих) та IgG – у 53,1% (34 хворих). ДНК VZV у слині було виявлено у 20% (15 хворих) на РГЗ. Визначення серологічних маркерів VZV-інфекції до проведення НАХТ виявило відсутність IgM та ДНК VZV у слині та наявність IgG до VZV у 32,8% (21 пацієнтка). Клінічна маніфестація реактивованої форми VZV-інфекції проявлялася ознаками оперізуючого герпесу у 8 пацієнток (12,5%) з локалізацією на тулубі у 5 хворих, на лицьовій частині черепа у двох осіб, та за ходом стегнового нерва у однієї особи.

Дослідження реактивації ВПГ-4 типу (вірусу Епштейна-Барр, ВЕБ, EBV) базувалося на визначенні серологічних маркерів: IgG EA, IgG NA, IgM та IgG до VCA та дослідженні реплікації вірусу методом ПЛР у слині.

Профілі антитіл до ВЕБ та ДНК ВЕБ характеризувалися вірогідним підвищенням рівнів досліджуваних маркерів у II періоді, що підтверджувало реактивацію ВЕБ-інфекції на фоні імуносупресивної терапії у даної категорії хворих. Так, антитіла до раннього антигену ВЕБ (IgG EA) у II періоді визначалися у 18,8% (12 хворих), тоді як до початку лікування наявність даних антитіл була визначена лише у 4,7% (3 хворих). Підвищення вмісту антитіл до нуклеарного антигену (IgG NA) у II періоді відзначалася у 93,8% (60 хворих), що вірогідно перевищувало показники пацієнток до початку проведення НАХТ – 34,4% (22 хворих). Аналогічна тенденція спостерігалась з динамікою антитіл до капсидного антигену ВЕБ (IgM VCA), який був визначений у 16 осіб (25%) по закінченню терапії, що перевищувало показники хворих до початку лікування у 8 разів – 2 хворих (3,1%). Наявність IgG VCA до початку проведення НАХТ була виявлена у 28,1% (18 хворих), після закінчення курсу – у 90,6% (58 хворих), що перевищувало показники у 3,2 раза до початку проведення терапії. Реплікативна активність ВЕБ була оцінена за наявністю ДНК ВЕБ у слині та крові хворих на РГЗ. Слід зазначити, що до початку проведення терапії ДНК ВЕБ у слині було виявлено у 23,4% (15 осіб) та не виявлялося у сироватці крові, тоді як після закінчення терапії ДНК ВЕБ було виявлено у слині у 85,9% (55 хворих) та у сироватці крові – у 28,1% (18 хворих), що перевищувало показники до проведення НАХТ у 3,7 та 18 разів.

Цитомегаловірус (ЦМВ, CMV), який у більшості випадків має безсимптомний перебіг, також при реактивації може ускладнювати ефективне проведення НАХТ у хворих на РГЗ.

Так, дослідження показників реактивації CMV-інфекції (IgM) до початку проведення НАХТ (I період) не виявило їх серед групи обстеження, однак, після закінчення курсу терапії IgM до CMV було виявлено у однієї особи (1,6%). IgG CMV були наявними у 39,1% (25 хворих) на РГЗ до проведення НАХТ, та визначалися у 64,1% (41 хвора) після закінчення терапії. Дослідження ДНК CMV у слині та сироватці крові хворих на РГЗ виявило відсутність реплікативної активності CMV до початку проведення терапії та реактивацію у II періоді: у слині – 18,8% (12 хворих); у сироватці – 4,7% (3 хворих).

in Period I. Quantitative detection of HSV-2 DNA in saliva was positive in 12 patients (18.8%) after NACT and in 1 patient (1.6%) before therapy.

Assessment of antibodies to varicella-zoster virus (VZV, HHV-3) during Period II revealed elevated IgM levels in 3 patients (4.7%) and IgG in 34 patients (53.1%). VZV DNA was detected in saliva samples of 15 patients (20%). Before NACT, no IgM antibodies or VZV DNA were detected, while IgG antibodies to VZV were present in 21 patients (32.8%). Clinically, reactivated VZV infection manifested as herpes zoster in 8 patients (12.5%) – localized on the trunk in 5 patients, on the facial region in 2 patients, and along the femoral nerve in 1 patient.

Reactivation of Epstein-Barr virus (EBV, HHV-4) was assessed by determining the presence of serological markers (IgG EA, IgG NA, IgM and IgG to VCA) and viral replication using PCR in saliva samples.

The antibody profile and EBV DNA detection demonstrated a significant increase in all studied markers during Period II, confirming EBV reactivation under immunosuppressive therapy in this cohort. Specifically, IgG EA antibodies were found in 12 patients (18.8%) after therapy versus 3 patients (4.7%) before treatment. IgG NA antibodies were detected in 60 patients (93.8%) in Period II, compared with 22 patients (34.4%) before NACT. Similarly, IgM VCA antibodies were present in 16 patients (25%) after therapy, compared with 2 patients (3.1%) before treatment. IgG VCA antibodies were detected in 18 patients (28.1%) before therapy and in 58 patients (90.6%) after therapy, representing a 3.2-fold increase. EBV replicative activity, evaluated by PCR detection of viral DNA in saliva and serum, revealed that EBV DNA was found in saliva of 15 patients (23.4%) before therapy and absent from serum. After therapy, EBV DNA was detected in saliva in 55 patients (85.9%) and in serum in 18 patients (28.1%), representing 3.7-fold and 18-fold increases, respectively.

Cytomegalovirus (CMV, HHV-5), which is typically latent or asymptomatic, may also complicate NACT through reactivation.

Similarly, the analysis of cytomegalovirus (CMV) reactivation markers (IgM) prior to the initiation of neoadjuvant chemotherapy (Period I) did not reveal their presence in the study group. However, following completion of the treatment course, CMV IgM antibodies were detected in one patient (1.6%). CMV IgG antibodies were present in 39.1% (25 patients) with breast cancer before neoadjuvant chemotherapy and were detected in 64.1% (41 patients) after therapy completion. Examination of CMV DNA in saliva and serum samples from breast cancer patients demonstrated no replicative activity of CMV prior to therapy, whereas reactivation was observed during Period II: in saliva – 18.8% (12 patients) and in serum – 4.7% (3 patients).

Detection of replicative activity of human herpesvirus type 6 (HHV-6) revealed an increase in IgG levels in 51.6% of patients during Period II of the study, which was 2.2 times higher than the values observed in Period I. The presence of HHV-6 DNA in saliva was identified in 28 patients (43.8%) during Period II, whereas prior to the initiation of neoadjuvant chemotherapy (Period I), HHV-6 DNA was detected in only 7 patients (10.9%). It was established that in 24 patients during

Визначення наявності реплікативної активності вірусу герпесу 6-го типу (ВГ-6, HHV-6) виявило підвищення IgG у 51,6% пацієнток у II періоді дослідження, що перевищувало у 2,2 раза показники у I періоді дослідження.

Наявність ДНК HHV-6 у слині визначалась у 28 пацієнток (43,8%) II періоду, тоді як до початку проведення НАХТ ДНК HHV-6 визначалась у 7 пацієнток (10,9%). Встановлено, що у 24 пацієнток у II періоді відзначалася асоціація ДНК HHV-6 та ВЕБ у слині. Наявність реплікативної активності HHV-6 у сироватці крові було виявлено у двох осіб (3,1%).

Period II, there was an association between HHV-6 DNA and EBV DNA in saliva samples. The replicative activity of HHV-6 in serum was detected in 2 patients (3.1%).

Таблиця 2. Реактивація герпесвірусів у хворих на РГЗ при проведенні НАХТ: частота, значущість та відносний ризик
Table 2. Reactivation of herpesviruses in patients with BC during NACT: frequency, significance and relative risk

Показники Indicators (n = 64)	I період I period		II період II period		χ^2	p-value	BP/RR (95% CI)
	Та yes	Hi no	Так yes	Hi no			
ВПГ-1 IgM, Од/мл / HHV-1 IgM, Un/ml	1 (1,6%)	63 (98,4%)	12 (18,8%)	52 (81,3%)	10,360	0,001	0,069 (0,009–0,547)
ВПГ-1 IgG, Од/мл / HHV-1 IgG, Un/ml	16 (25%)	48 (75%)	45 (70,3%)	19 (29,7%)	26,339	< 0,001	0,141 (0,065–0,307)
ВПГ-1 ДНК (слина), копій/мл / HHV-1 DNA (saliva), copies/ml	2 (3,1%)	62 (96,9%)	17 (26,6%)	47 (73,4%)	13,906	< 0,001	0,089 (0,020–0,405)
ВПГ-2 IgM, Од/мл / HHV-2 IgM, Un/ml	0	64 (100%)	1 (1,6%)	63 (98,4%)	1,008	0,315	0,328 (0,013–8,208)
ВПГ-2 IgG, Од/мл / HHV-2 IgG, Un/ml	8 (12,5%)	56 (87,5%)	27 (42,2%)	37 (57,8%)	14,196	< 0,001	0,196 (0,080–0,478)
ВПГ-2 ДНК (слина), копій/мл / HHV-2 DNA (saliva), copies/ml	1 (1,6%)	63 (98,4%)	12 (18,8%)	52 (81,3%)	10,360	0,001	0,069 (0,009–0,547)
ВПГ-3 IgM, Од/мл / VZV IgM, Un/ml	0	64 (100%)	3 (4,7%)	61 (95,3%)	3,072	0,080	0,136 (0,007–2,692)
ВПГ-3 IgG, Од/мл / VZV IgG, Un/ml	21 (32,8%)	43 (67,2%)	34 (53,1%)	30 (46,9%)	5,388	0,020	0,431 (0,210–0,882)
ВПГ-3 ДНК (слина), копій/мл / VZV DNA (saliva), copies/ml	0	64 (100%)	15 (23,4%)	49 (76,6%)	16,991	< 0,001	0,025 (0,001–0,424)
ВЕБ EA IgG, Од/мл / EBV EA IgG, Un/ml	3 (4,7%)	61 (95,3%)	12 (18,8%)	52 (81,3%)	6,117	0,013	0,213 (0,057–0,796)
ВЕБ NA IgG, Од/мл / EBV NA IgG, Un/ml	22 (34,4%)	42 (65,6%)	60 (93,8%)	4 (6,2%)	49,001	< 0,001	0,035 (0,011–0,109)
ВЕБ VCA IgM, Од/мл / EBV VCA IgM, Un/ml	2 (3,1%)	62 (96,9%)	16 (25%)	48 (75%)	12,671	< 0,001	0,097 (0,021–0,441)
ВЕБ VCA IgG, Од/мл / EBV VCA IgG, Un/ml	18 (28,1%)	46 (71,9%)	58 (90,6%)	6 (9,4%)	51,822	< 0,001	0,040 (0,015–0,110)
ВЕБ ДНК (слина), копій/мл / EBV DNA (saliva), copies/ml	15 (23,4%)	49 (76,6%)	55 (85,9%)	9 (14,1%)	50,443	< 0,001	0,050 (0,020–0,125)
ВЕБ ДНК (кров), копій/мл / EBV DNA (blood), copies/ml	0	64 (100%)	12 (18,8%)	52 (81,3%)	13,241	< 0,001	0,033 (0,002–0,563)
ЦМВ IgM, Од/мл / CMV IgM, Un/ml	0	64 (100%)	1 (1,6%)	63 (98,4%)	1,008	0,315	0,328 (0,013–8,208)
ЦМВ IgG, Од/мл / CMV IgG, Un/ml	25 (30,1%)	39 (60,9%)	41 (64,1%)	23 (35,9%)	8,008	0,005	0,360 (0,176–0,736)
ЦМВ ДНК (слина), копій/мл / CMV DNA (saliva), copies/ml	0	64 (100%)	12 (18,7%)	52 (81,3%)	13,241	< 0,001	0,033 (0,002–0,563)
ЦМВ ДНК (кров), копій/мл / CMV DNA (blood), copies/ml	0	64 (100%)	3 (4,7%)	61 (95,3%)	3,072	0,080	0,136 (0,007–2,692)
ВПГ-6 IgG, Од/мл / HHV-6 IgG, Un/ml	15 (23,4%)	49 (76,6%)	33 (51,6%)	31 (48,4%)	10,800	0,001	0,288 (0,135–0,614)
ВПГ-6 ДНК (слина), копій/мл / HHV-6 DNA (saliva), copies/ml	7 (10,9%)	57 (89,1%)	28 (43,8%)	36 (56,3%)	17,342	< 0,001	0,158 (0,062–0,399)
ВПГ-6 ДНК (кров), копій/мл / HHV-6 DNA (blood), copies/ml	0	64 (100%)	2 (3,1%)	62 (96,9%)	2,032	0,154	0,194 (0,009–4,118)

Відносний ризик та порівняння частоти реактивації герпесвірусних інфекцій до та після проведення НАХТ

Для розуміння впливу НАХТ на реактивацію герпесвірусів нами було оцінено ризики реактивації ГВ на тлі НАХТ. При проведенні дослідження було виявлено високий рівень статистичної значущості ризиків реактивації всіх досліджених ВР, що підтверджується зростанням частоти виявлення IgG ($p \leq 0,020$) і ДНК (слина) ($p < 0,001$). Найбільш виражений ефект впливу НАХТ було виявлено при реактивації ВЕБ-інфекції на фоні імуносупресивної терапії (ВЕБ NA IgG ВР на рівні 0,035 (95% ДІ 0,011–0,109; $p < 0,001$; $\chi^2 = 49,001$) та ВЕБ VCA IgG – ВР на рівні 0,040 (95% ДІ 0,015–0,110; $p < 0,001$; $\chi^2 = 51,822$) у даній категорії хворих. Також найнижчі значення ВР на рівні 0,033 та 0,050 вказують на найбільше підвищення ризиків системної реактивації ВЕБ ДНК (кров) (95% ДІ 0,002–0,563; $p < 0,001$; $\chi^2 = 13,241$) та активної реплікації ВЕБ ДНК (слина) – (95% ДІ 0,020–0,125; $p < 0,001$; $\chi^2 = 50,443$). ВР на рівні 0,025 перевищує показники активної реплікації ВПГ-3 ДНК (слина) до початку проведення терапії у 40 разів (95% ДІ 0,001–0,424; $p < 0,001$; $\chi^2 = 16,991$).

До групи високого ризику відносяться віруси ВПГ-1 та ВПГ-6, що мають високу частоту реактивації латентної інфекції – ВПГ-1 IgG (ВР на рівні 0,141 (95% ДІ 0,065–0,307; $p < 0,001$; $\chi^2 = 26,339$); ВПГ-6 IgG (ВР на рівні 0,288 (95% ДІ 0,135–0,614; $p < 0,001$; $\chi^2 = 10,880$); та виражену реплікативну активність ВПГ-1 ДНК (слина) (ВР на рівні 0,089 (95% ДІ 0,020–0,405; $p < 0,001$; $\chi^2 = 13,906$).

ЦМВ і ВПГ-2 демонструють найнижчу частоту реактивації латентної інфекції (ЦМВ IgG – 64,1%, ВР на рівні 0,360 (95% ДІ 0,176–0,736; $p = 0,005$; $\chi^2 = 8,008$), ВПГ-2 – 42,2%, ВР на рівні 0,196 (95% ДІ 0,080–0,478; $p < 0,001$; $\chi^2 = 14,196$)) серед усіх ГВ, що реактивувались.

Наступні показники ВПГ-2 IgM, ЦМВ IgM, ЦМВ ДНК (кров), ВПГ-3 IgM, ВПГ-6 ДНК (кров) не досягли статистичної значущості ($p > 0,05$).

Relative Risk and Comparison of Herpesvirus Reactivation Frequency Before and After Neoadjuvant Chemotherapy

To assess the impact of neoadjuvant chemotherapy (NACT) on herpesvirus reactivation, we evaluated the relative risks (RR) of herpesvirus reactivation during NACT. The study revealed a high level of statistical significance for the risk of reactivation of all examined herpesviruses, confirmed by an increased frequency of IgG detection ($p \leq 0.020$) and DNA (saliva) positivity ($p < 0.001$). The most pronounced effect of NACT was observed in Epstein-Barr virus (EBV) reactivation under immunosuppressive therapy. Specifically, EBV NA IgG showed an RR of 0.035 (95% CI: 0.011–0.109; $p < 0.001$; $\chi^2 = 49.001$), and EBV VCA IgG had an RR of 0.040 (95% CI: 0.015–0.110; $p < 0.001$; $\chi^2 = 51.822$) in this patient category. The lowest RR values – 0.033 and 0.050 – indicated the highest risks of systemic EBV DNA (blood) reactivation (95% CI: 0.002–0.563; $p < 0.001$; $\chi^2 = 13.241$) and active EBV DNA (saliva) replication (95% CI: 0.020–0.125; $p < 0.001$; $\chi^2 = 50.443$), respectively. An RR of 0.025 for HSV-3 DNA (saliva) replication exceeded the pre-therapy levels by approximately 40-fold (95% CI: 0.001–0.424; $p < 0.001$; $\chi^2 = 16.991$).

High-risk viruses included HSV-1 and HHV-6, both demonstrating a high frequency of latent infection reactivation: HSV-1 IgG (RR = 0.141; 95% CI: 0.065–0.307; $p < 0.001$; $\chi^2 = 26.339$) and HHV-6 IgG (RR = 0.288; 95% CI: 0.135–0.614; $p < 0.001$; $\chi^2 = 10.880$). Notably, HSV-1 DNA (saliva) also exhibited significant replicative activity (RR = 0.089; 95% CI: 0.020–0.405; $p < 0.001$; $\chi^2 = 13.906$).

Cytomegalovirus (CMV) and HSV-2 demonstrated the lowest rates of latent infection reactivation among all studied herpesviruses: CMV IgG – 64.1%, RR = 0.360 (95% CI: 0.176–0.736; $p = 0.005$; $\chi^2 = 8.008$); HSV-2 – 42.2%, RR = 0.196 (95% CI: 0.080–0.478; $p < 0.001$; $\chi^2 = 14.196$).

The following parameters did not reach statistical significance ($p > 0.05$): HSV-2 IgM, CMV IgM, CMV DNA (blood), HSV-3 IgM, and HHV-6 DNA (blood).

ОБГОВОРЕННЯ

Безумовним пріоритетом сучасної онкології є профілактика та терапія РГЗ, який залишається глобальною проблемою охорони здоров'я. Тому дослідження, спрямовані на підвищення ефективності терапії, нівелювання ускладнень та ризиків, пов'язаних із застосуванням хіміотерапії є вельми актуальними [13, 14].

Проблема інфекційних ускладнень у пацієнтів на РГЗ також є однією з найактуальніших, оскільки вони визначають особливості перебігу та прогноз, а також можуть мати вирішальне значення у наслідках терапії. Особливу небезпеку становлять вірусні інфекції, схильні до довгочасної персистенції та реактивації, оскільки в періоди зниження імунної резистентності вони можуть спричиняти тяжкі або, навіть, летальні наслідки, тому контроль латентних інфекцій, оцінка їх впливу на перебіг основного захворювання та ефективність терапії є одним із ключових завдань сучасної клінічної імунології й онкології.

DISCUSSION

An undisputed priority in modern oncology is the prevention and treatment of breast cancer (BC), which remains a global public health challenge. Therefore, studies aimed at improving the effectiveness of therapy and minimizing the complications and risks associated with chemotherapy are of great relevance [13, 14].

The problem of infectious complications in BC patients is also one of the most pressing issues, as infections influence the course and prognosis of the disease and may be decisive for therapeutic outcomes. Of particular concern are viral infections capable of lifelong persistence and reactivation, as they may lead to severe or even fatal consequences during periods of reduced immune resistance. Thus, the control of latent infections and the evaluation of their influence on disease progression and treatment efficacy are among the key tasks of modern clinical immunology and oncology.

Among viral pathogens, herpesviruses occupy a special place due to their ability to persist long-term in the

Серед вірусних патогенів особливе місце посідають герпесвіруси, які здатні тривало зберігатися в організмі людини та мають складні механізми ухилення від імунного нагляду. Їхня реактивація в умовах імуносупресії перетворює ці віруси на своєрідні біомаркери стану імунної системи, а також на чинники, що можуть безпосередньо впливати на результати лікування [11, 15].

Дослідження взаємозв'язку між імуносупресивними режимами, особливостями латентності герпесвірусів і системною запальною відповіддю дає змогу краще зрозуміти механізми розвитку інфекційних ускладнень і визначити перспективні підходи до їх профілактики та терапії [10, 11, 15, 16].

Більшість герпесвірусів (HSV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7) характеризуються щоденною персистенцією у слині чи статевих секретах навіть за відсутності клінічної симптоматики, що свідчить про динамічний характер їхньої латентності. Цей стан відображає рівновагу між активністю вірусу та протівірусною імунною відповіддю. Постійне виділення вірусних частинок зумовлене наявністю механізмів імунного ухилення: пригніченням презентації антигенів, модифікацією апоптозу, блокадою Т-лімфоцитарних і NK-відповідей. Латентність є динамічним процесом, у якому вірусний геном зберігається у вигляді стабільних епісом, що розподіляються між дочірніми клітинами за участю вірусних білків «прив'язки». Обмеження транскрипції, зокрема через дію довгих некодуючих РНК (lncRNA), а також епігенетичне регулювання хроматин-асоційованої вірусної ДНК забезпечують підтримання латентного стану і готовність до реактивації [17–21].

Частота реактивації ВПГ-1 є значно вищою серед онкологічних пацієнтів, ніж у загальній популяції [22–24]. Це зумовлено імунними порушеннями, спричиненими онкологічним процесом та протипухлинною терапією, що послаблюють контроль над латентною інфекцією. Автори зазначають, що найбільший ризик реактивації спостерігається під час вираженої імуносупресії при проведенні інтенсивної хіміо- чи променевої терапії. ВПГ-1 може слугувати маркером стану імунної резистентності онкологічних хворих [25], які обґрунтовує необхідність регулярного моніторингу вірусних ускладнень, оскільки на результатах наших досліджень саме ВПГ-1 та ВПГ-6 було віднесено до групи з високим ризиком реактивації.

Реактивація EBV у онкологічних пацієнтів підтверджується численними клінічними повідомленнями та серіями випадків, особливо за умов глибокої імуносупресії або після цитотоксичної терапії [26, 27].

В дослідженнях Hsu Y.C., Tsai M.H. et al. виявлено наявність ВЕБ у пухлинах РГЗ, що, ймовірно, впливає на результати лікування пацієнтів, особливо на частоту рецидивів. Отримані результати підкреслюють важливість розгляду статусу EBV як потенційного прогностичного маркера у даній категорії пацієнток, однак автори наполягають на необхідності подальших досліджень для з'ясування основних молекулярних механізмів та розробки нових терапевтичних підходів [15].

Ко-реактивація EBV у пацієнтів з віремією CMV у дослідженнях авторів Hatayama Y., Hashimoto Y. et al., виявилася у пацієнтів раннього віку та може відображати ефективність та інтенсивність лікування, а також імуностаріння [26].

human body and their complex mechanisms of immune evasion. Reactivation of these viruses under conditions of immunosuppression transforms them into specific biomarkers of immune system status and into factors that may directly affect treatment outcomes [11, 15].

Studies of the relationship between immunosuppressive regimens, herpesvirus latency, and systemic inflammatory response contribute to a better understanding of the mechanisms of infectious complications and help identify promising approaches for their prevention and therapy [10, 11, 15, 16].

Most herpesviruses (HSV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7) are characterized by daily persistence in saliva or genital secretions, even in the absence of clinical symptoms, which indicates the dynamic nature of their latency. This condition reflects a balance between viral activity and antiviral immune responses. Continuous shedding of viral particles results from immune evasion mechanisms, including inhibition of antigen presentation, modulation of apoptosis, and suppression of T-lymphocyte and NK-cell responses. Latency is a dynamic process in which the viral genome persists as stable episomes distributed among daughter cells via viral «tethering» proteins. Limited transcription – mediated by long non-coding RNAs (lncRNAs) and epigenetic regulation of chromatin-associated viral DNA – ensures maintenance of the latent state and readiness for reactivation [17–21].

The frequency of HSV-1 reactivation is significantly higher among cancer patients than in the general population [22–24]. This is caused by immune disturbances due to both the oncological process and antitumor therapy, which weaken control over latent infection. Authors report that the highest risk of reactivation occurs during marked immunosuppression associated with intensive chemotherapy or radiotherapy. HSV-1 may serve as a marker of immune resistance status in cancer patients [25], supporting the need for regular monitoring of viral complications. According to our data, HSV-1 and HHV-6 belong to the high-risk group for reactivation.

EBV reactivation in oncology patients has been confirmed by numerous clinical observations and case series, especially under conditions of profound immunosuppression or following cytotoxic therapy [26, 27].

Studies by Hsu Y.C., Tsai M.H. et al. detected EBV within BC tumors, which may influence patient outcomes, particularly recurrence rates. These findings emphasize the importance of considering EBV status as a potential prognostic marker in this patient population; however, the authors highlight the need for further research to clarify the underlying molecular mechanisms and to develop novel therapeutic strategies [15].

Co-reactivation of EBV in patients with CMV viremia, as described by Hatayama Y., Hashimoto Y. et al., was observed in younger patients and may reflect both the efficacy and intensity of treatment, as well as immune senescence [26].

A reported clinical case indicates that clinicians should be aware that neoadjuvant chemotherapy for BC may carry a risk of EBV-induced pneumonitis, which must be considered in the differential diagnosis of pneumonitis to ensure early detection, timely treatment, and accurate prognosis in this patient category [28].

За представленим клінічним кейсом клініцисти повинні пам'ятати, що неoad'ювантна хіміотерапія РГЗ може нести ризик розвитку пневмоніту, індукованого ВЕБ, тому це потрібно розглядати в диференціальній діагностиці пневмоніту з метою ранньої діагностики, лікування та прогнозу у цієї категорії хворих [28].

Незмінним стандартом профілактики ВПГ-1 та VZV є ацикловір 400 мг тричі або чотири рази на день або валацикловір 500 мг двічі або тричі на день. Перевагу одного з двох препаратів ще не вдалося продемонструвати. Лікування слід розпочинати протягом першого тижня протипухлинної терапії та продовжувати після її закінчення. Поки що найкраща тривалість профілактики не може бути визначена. Автори рекомендують контролювати рівень CD4⁺ Т-клітин та продовжувати протівірусну профілактику, доки їх кількість не перевищить 200 клітин/мкл [29].

ВИСНОВКИ

За результатами проведеного дослідження виконано статистичні розрахунки та отримані відносні ризики та порівняння частоти реактивації герпесвірусних інфекцій до та після проведення НАХТ.

Реактивація герпесвірусів у хворих на рак грудної залози, вірогідно, може впливати на ефективність та результати терапії пацієнтів та розвиток ускладнень.

Найбільш виражений ефект впливу НАХТ виявлено при реактивації ВЕБ-інфекції (ВЕБ NA IgG, BP на рівні 0,035 (95% ДІ 0,011–0,109; $p < 0,001$; $\chi^2 = 49,001$) та ВЕБ VCA IgG – BP на рівні 0,040 (95% ДІ 0,015–0,110; $p < 0,001$; $\chi^2 = 51,822$).

До групи високого ризику віднесено ВПГ-1 та ВПГ-6, що мають високу частоту реактивації (BP на рівні 0,141 (95% ДІ 0,065–0,307; $p < 0,001$; $\chi^2 = 26,339$); ВПГ-6 IgG (BP на рівні 0,288 (95% ДІ 0,135–0,614; $p < 0,001$; $\chi^2 = 10,880$); та виражену реплікативну активність ВПГ-1 ДНК (слина) (BP на рівні 0,089 (95% ДІ 0,020–0,405; $p < 0,001$; $\chi^2 = 13,906$).

Практичне значення отриманих результатів полягає у можливості індивідуалізації терапії, підвищенню ефективності лікування та мінімізації ускладнень НАХТ за результатами моніторингу маркерів реактивації ГІ.

Управління ризиками реактивації ГІ передбачає системний підхід, що базується на проведенні передтерапевтичного скринінгу, динамічному моніторингу стану пацієнта, своєчасній молекулярній діагностиці та ранньому початку протівірусної терапії, що сприятиме зниженню частоти інфекційних ускладнень, запобігає перериванню хіміотерапії та покращує загальні прогностичні показники у хворих на РГЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ben-Dror J., Shalamov M., Sonnenblick A. The history of early breast cancer treatment. *Genes*. 2022. №13 (6). P. 960. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes13060960>
2. Ferlay J., Ervik M., Lam F., et al. International Agency for Research on Cancer. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. 2024. URL: <https://gco.iarc.who.int/today>
3. An J., Peng C., Tang H., et al. New Advances in the Research of Resistance to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22 (17). P. 9644. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179644>

The current standard prophylaxis for HSV-1 and VZV remains acyclovir 400 mg three or four times daily, or valacyclovir 500 mg twice or three times daily. No conclusive evidence favors one drug over the other. Treatment should begin within the first week of antitumor therapy and continue after its completion. The optimal duration of prophylaxis has not yet been determined. Authors recommend monitoring CD4⁺ T-cell counts and continuing antiviral prophylaxis until the count exceeds 200 cells/ μ L [29].

CONCLUSIONS

Based on the results of the conducted study, statistical analyses were performed to calculate the relative risks (RR) and to compare the frequency of herpesvirus infection reactivation before and after neoadjuvant chemotherapy (NACT). Considering that herpesvirus reactivation is associated with the development of complications.

The most pronounced effect of NACT was observed in the reactivation of Epstein-Barr virus (EBV) infection. Specifically, significant increases were detected for EBV NA IgG (RR = 0.035; 95% CI: 0.011–0.109; $p < 0.001$; $\chi^2 = 49.001$) and EBV VCA IgG (RR = 0.040; 95% CI: 0.015–0.110; $p < 0.001$; $\chi^2 = 51.822$).

The high-risk group included HSV-1 and HHV-6, which demonstrated a high frequency of reactivation of latent infection – HSV-1 IgG (RR = 0.141; 95% CI: 0.065–0.307; $p < 0.001$; $\chi^2 = 26.339$), HHV-6 IgG (RR = 0.288; 95% CI: 0.135–0.614; $p < 0.001$; $\chi^2 = 10.880$), and significant replicative activity of HSV-1 DNA in saliva (RR = 0.089; 95% CI: 0.020–0.405; $p < 0.001$; $\chi^2 = 13.906$).

The practical significance of the obtained results lies in the possibility of individualizing therapy, improving treatment efficacy, and minimizing NACT-related complications through monitoring of herpesvirus reactivation markers.

Effective risk management of herpesvirus reactivation requires a systemic approach that includes pre-therapy screening, dynamic monitoring of patient status, timely molecular diagnostics, and early initiation of antiviral therapy. Implementation of such measures may reduce the frequency of infectious complications, prevent interruptions of chemotherapy, and improve overall prognostic outcomes in patients with breast cancer.

REFERENCES

1. Ben-Dror J., Shalamov M., Sonnenblick A. The history of early breast cancer treatment. *Genes*. 2022;13(6):960. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes13060960>
2. Ferlay J., Ervik M., Lam F., Laversanne M., Colombet M., Mery L., et al. International Agency for Research on Cancer. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. 2024. URL: <https://gco.iarc.who.int/today>
3. An J., Peng C., Tang H., Liu X., Peng F. New Advances in the Research of Resistance to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(17):9644. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179644>

4. Barchiesi G., Mazzotta M., Krasniqi E., et al. Neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer: current knowledge and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. №21 (10). P. 3528. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21103528>
5. Verdial F. C., Mamtani A., Pawloski K. R., et al. The effect of age on outcomes after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2022. №29 (6). P. 3810–3819. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-022-11367-w>
6. Tse T., Sehdev S., Seely J., et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: review of the evidence and conditions that facilitated its use during the global pandemic. *Current Oncology*. 2021. №28 (2). P. 1338–1347. DOI: <https://doi.org/10.3390/curroncol28020127>
7. Leon-Ferre R. A., Hieken T. J., Boughey J. C. The landmark series: neoadjuvant chemotherapy for triple-negative and HER2-positive breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2021. №28 (4). P. 2111–2119. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-020-09480-9>
8. Wang H., Mao X. Evaluation of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020. №14. P. 2423–2433. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S253961>
9. Stankowski-Drengler T. J., Livingston-Rosanoff D., Schumacher J. R., et al. Breast cancer outcomes of neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy by receptor subtype: a scoping review. *Journal of Surgical Research*. 2020. №254. P. 83–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.04.011>
10. Sandherr M., Hentrich M., von Lilienfeld-Toal M., et al. Antiviral prophylaxis in patients with solid tumours and haematological malignancies – update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Annals of Hematology*. 2015. №94 (9). P. 1441–1450. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-015-2447-3>
11. Cohen J. I. Herpesvirus latency. *Journal of Clinical Investigation*. 2020. №130 (7). P. 3361–3369. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI136225>
12. Всесвітня медична асоціація. Гельсінська декларація: етичні принципи медичних досліджень за участю людини. 2008. URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
13. Rapoport B. L., Steel H. C., Benn C. A., et al. Dysregulation of systemic soluble immune checkpoints in early breast cancer is attenuated following administration of neoadjuvant chemotherapy and is associated with recovery of CD27, CD28, CD40, CD80, ICOS and GITR and substantially increased levels of PD-L1, LAG-3 and TIM-3. *Frontiers in Oncology*. 2023. №13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1097309>
14. Symmans W. F., Peintinger F., Hatzis C., et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2007. №25 (28). P. 4414–4422. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.10.6823>
15. Hsu Y. C., Tsai M. H., Wu G., et al. Role of Epstein-Barr Virus in breast cancer: correlation with clinical outcome and survival analysis. *Journal of Cancer*. 2024. №15 (8). P. 2403–2411. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.93631>
16. Arias-Calvachi C., Blanco R., Calaf G. M., et al. Epstein-Barr virus association with breast cancer: evidence and perspectives. *Biology*. 2022. №11 (6). P. 799. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11060799>
17. Schiffer J. T., Abu-Raddad L., Mark K. E., et al. Frequent release of low amounts of herpes simplex virus from neurons: results of a mathematical model. *Science Translational Medicine*. 2009. №1 (7). P. 7ra16. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000193>
18. De Leo A., Calderon A., Lieberman P. M. Control of viral latency by episome maintenance proteins. *Trends in Microbiology*. 2020. №28 (2). P. 150–162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.09.002>
19. Hadinoto V., Shapiro M., Sun C. C., et al. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathogens*. 2009. №5 (7). P. e1000496. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000496>
20. Ahmed W., Liu Z. F. Long non-coding RNAs: novel players in regulation of immune response upon herpesvirus infection. *Frontiers in Immunology*. 2018. №9. P. 761. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00761>
21. Lieberman P. M. Epigenetics and genetics of viral latency. *Cell Host & Microbe*. 2016. №19 (5). P. 619–628. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.008>
22. Tayyar R., Ho D. Herpes simplex virus and varicella zoster virus infections in cancer patients. *Viruses*. 2023. №15 (2). P. 439. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15020439>
23. Jalouli J., Jalouli M. M., Sapkota D., et al. Human papilloma virus, herpes simplex virus and Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Research*. 2012. №32 (2). P. 571–580. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22287747>
24. Zhang D. H., Zhang Q. Y., Hong C. Q., et al. Prevalence and association of human papillomavirus 16, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus-1 and cytomegalovirus infection with human esophageal
4. Barchiesi G., Mazzotta M., Krasniqi E., Pizzuti L., Marinelli D., Capomolla E., et al. Neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer: current knowledge and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(10):3528. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21103528>
5. Verdial FC, Mamtani A, Pawloski KR, Sevilimedu V, D'Alfonso TM, Zhang H. The effect of age on outcomes after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2022;29(6):3810–9. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-022-11367-w>
6. Tse T, Sehdev S, Seely J, Gravel DH, Clemons M, Cordeiro E, et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: review of the evidence and conditions that facilitated its use during the global pandemic. *Current Oncology*. 2021;28(2):1338–47. DOI: <https://doi.org/10.3390/curroncol28020127>
7. Leon-Ferre RA, Hieken TJ, Boughey JC. The landmark series: neoadjuvant chemotherapy for triple-negative and HER2-positive breast cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2021;28(4):2111–9. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-020-09480-9>
8. Wang H, Mao X. Evaluation of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020;14:2423–33. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S253961>
9. Stankowski-Drengler TJ, Livingston-Rosanoff D, Schumacher JR, Hitchcock ME, Hanlon BM, Neuman HB. Breast cancer outcomes of neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy by receptor subtype: a scoping review. *Journal of Surgical Research*. 2020;254:83–90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.04.011>
10. Sandherr M, Hentrich M, von Lilienfeld-Toal M, Massenkeil G, Neumann S, Penack O, et al. Antiviral prophylaxis in patients with solid tumours and haematological malignancies – update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO). *Annals of Hematology*. 2015;94(9):1441–50. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-015-2447-3>
11. Cohen JI. Herpesvirus latency. *Journal of Clinical Investigation*. 2020;130(7):3361–9. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI136225>
12. World Medical Association. Declaration of Helsinki of the "Ethical Principles of Medical Research Involving Human Subjects". 2008. (In Ukrainian). URL: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/990_005
13. Rapoport BL, Steel HC, Benn CA, Nayler S, Smit T, Heyman L, et al. Dysregulation of systemic soluble immune checkpoints in early breast cancer is attenuated following administration of neoadjuvant chemotherapy and is associated with recovery of CD27, CD28, CD40, CD80, ICOS and GITR and substantially increased levels of PD-L1, LAG-3 and TIM-3. *Frontiers in Oncology*. 2023;13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1097309>
14. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valeroet V, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(28):4414–22. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.10.6823>
15. Hsu YC, Tsai MH, Wu G, Liu CI, Chang YC, Lam HB, et al. Role of Epstein-Barr Virus in breast cancer: correlation with clinical outcome and survival analysis. *Journal of Cancer*. 2024;15(8):2403–11. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.93631>
16. Arias-Calvachi C, Blanco R, Calaf GM, Aguayo F. Epstein-Barr virus association with breast cancer: evidence and perspectives. *Biology*. 2022;11(6):799. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11060799>
17. Schiffer JT, Abu-Raddad L, Mark KE, Zhu J, Selke S, Magaret A, et al. Frequent release of low amounts of herpes simplex virus from neurons: results of a mathematical model. *Science Translational Medicine*. 2009;1(7):7ra16. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000193>
18. De Leo A, Calderon A, Lieberman PM. Control of viral latency by episome maintenance proteins. *Trends in Microbiology*. 2020;28(2):150–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.09.002>
19. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathogens*. 2009;5(7):e1000496. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000496>
20. Ahmed W, Liu ZF. Long non-coding RNAs: novel players in regulation of immune response upon herpesvirus infection. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:761. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00761>
21. Lieberman PM. Epigenetics and genetics of viral latency. *Cell Host & Microbe*. 2016;19(5):619–28. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.008>
22. Tayyar R, Ho D. Herpes simplex virus and varicella zoster virus infections in cancer patients. *Viruses*. 2023;15(2):439. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15020439>
23. Jalouli J, Jalouli MM, Sapkota D, Ibrahim SO, Larsson PA, Sand L. Human papilloma virus, herpes simplex virus and Epstein-Barr virus in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Research*. 2012;32(2):571–80. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22287747>
24. Zhang DH, Zhang QY, Hong CQ, Chen JY, Shen ZY, Zhu Y. Prevalence and association of human papillomavirus 16, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus-1 and cytomegalovirus infection with human

- carcinoma: A case-control study. *Oncology Reports*. 2011. №25 (6). P. 1731–1738. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2011.1234>
25. Hong J., Park H. K., Park S., et al. Strong association between herpes simplex virus-1 and chemotherapy-induced oral mucositis in hematologic malignancies. *Korean Journal of Internal Medicine*. 2020. №35 (5). P. 1188–1198. DOI: <https://doi.org/10.3904/kjim.2018.469>
26. Hatayama Y., Hashimoto Y., Motokura T. Frequent co-reactivation of Epstein-Barr virus in patients with cytomegalovirus viremia under chemotherapy. *Journal of International Medical Research*. 2020. №48 (11). P. 300060520972880. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300060520972880>
27. Отченаш Н. М., Лядова Т. І., Гладких Ф. В., та ін. Характеристика показників клітинної та гуморальної ланки імунітету у хворих на рак грудної залози в динаміці неoad'ювантної хіміотерапії. *Одеський медичний журнал*. 2024. №5 (190). С. 57–61. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-5-9>
28. Liao H., Zhu M., Cheng Z. Epstein-Barr virus (EBV) induced pneumonitis in a patient with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy: a case report. *Respiratory Medicine Case Reports*. 2023. №45. P. 101849. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2023.101849>
29. Henze L., Buhl C., Sandherr M., et al. Management of herpesvirus reactivations in patients with solid tumours and hematologic malignancies: update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO) on herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2, and varicella zoster virus. *Annals of Hematology*. 2022. №101 (3). P. 491–511. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04746-y>
- esophageal carcinoma: A case-control study. *Oncology Reports*. 2011;25(6):1731–8. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.2011.1234>
25. Hong J, Park HK, Park S, Lee A, Lee YH, Shin DY, et al. Strong association between herpes simplex virus-1 and chemotherapy-induced oral mucositis in hematologic malignancies. *Korean Journal of Internal Medicine*. 2020;35(5):1188-98. DOI: <https://doi.org/10.3904/kjim.2018.469>
26. Hatayama Y, Hashimoto Y, Motokura T. Frequent co-reactivation of Epstein-Barr virus in patients with cytomegalovirus viremia under chemotherapy. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(11):300060520972880. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300060520972880>
27. Otchenash NM, Liadova TI, Hladkykh FV, Kirchev VV. The characteristics of cellular and humoral immunity indicators in breast cancer patients during the course of neoadjuvant chemotherapy. *Odesa National Medical University*. 2024;5(190):57–61. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-5-9>
28. Liao H, Zhu M, Cheng Z. Epstein-Barr virus (EBV) induced pneumonitis in a patient with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy: a case report. *Respiratory Medicine Case Reports*. 2023;45:101849. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2023.101849>
29. Henze L, Buhl C, Sandherr M, Cornely OA, Heinz WJ, Khodamoradi Y, et al. Management of herpesvirus reactivations in patients with solid tumours and hematologic malignancies: update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO) on herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2, and varicella zoster virus. *Annals of Hematology*. 2022;101(3):491–511. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04746-y>

Перспективи подальших досліджень

За отриманими результатами досліджень для вдосконалення підходів до тактики ведення хворих на РГЗ при проведенні НАХТ рекомендована розробка протоколу ефективного моніторингу реактивації ГЛ.

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.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Інформована згода на участь у дослідженні була отримана від усіх учасників після надання їм зрозумілої, повної та доступної інформації про мету, дизайн і методологію дослідження, його потенційні ризики, очікувані переваги та можливі альтернативи. Усі учасники підтвердили свою добровільну участь шляхом підписання документа про інформовану згоду. Дослідження схвалене Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (витяг з протоколу № 3 від 13 грудня 2023 р.).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували

Prospects for further research

Based on the obtained results, it is recommended to develop a protocol for effective monitoring of herpesvirus reactivation to improve the management strategy of breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy.

Conflict of interest

The authors of this manuscript explicitly declare that there are no actual or potential conflicts of interest related to the results of this work with pharmaceutical companies, manufacturers of biomedical devices, or other organizations whose products, services, or financial support may be associated with the subject of the presented materials or have sponsored the conducted research.

Ethics statement

The authors of the manuscript explicitly declare that the study was conducted using primary medical records and included clinical observations of patients. The study was performed in accordance with the ethical standards of the World Medical Association's Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research involving human subjects, the European Society Directive 86/609 on the participation of humans in biomedical research, and the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 dated 23.09.2009. Informed consent for participation in the study was obtained from all participants after providing clear, complete, and accessible information about the purpose, design, and methodology of the study, its potential risks, expected benefits, and possible alternatives. All participants confirmed their voluntary participation by signing an informed consent form. The study was approved by the Ethics and Bioethics Committee of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine (extract from protocol No. 3 dated 13 January 2023.)

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript explicitly declare that during the conduct of the study and the preparation of this manuscript,

жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту (ШІ) для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами.

no generative artificial intelligence (AI) tools or services were used to perform any tasks listed in the Generative AI Task Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were completed without the involvement of generative AI, solely by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The authors of the manuscript explicitly declare that the work used the results of their own clinical research, which were systematically organized and analyzed by the authors. The primary data include aggregated patient indicators, laboratory results, protocols, and derived quantitative measures. All materials are stored in the research group's archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, in compliance with confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України. Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи: «Вивчення ролі імунних, аутоімунних 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: 11.2023–11.2028 рр., керівник – завідувачка кафедри, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

Funding information

The article represents a fragment of the research project titled «Investigation 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 improvement of therapeutic strategies», State Registration No. 0123U105022, conducted during the period November 2023 – November 2028. Project Supervisor: Head of the Department, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobueva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Отченаш Наталя Миколаївна – завідувачка хіміотерапевтичного відділення №2 Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласний центр онкології»; аспірант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: nat.otchenash@gmail.com
моб.: +38 (050) 302-17-77

Внесок автора: концепція та дизайн роботи, формулювання мети, збір даних та інтерпретація отриманих результатів, написання тексту статті, формулювання висновків.

Малярова Людмила Володимирівна – асистент кафедри гігієни та соціальної 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: l.v.maliarova@karazin.ua
моб.: +38 (096) 501-66-37

Внесок автора: аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, формулювання висновків.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Otchenash Natalya Mykolaivna – Head of Chemotherapy Department No. 2 Communal Non-Commercial Enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Oncology Center»; PhD student the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the School of medicine 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: nat.otchenash@gmail.com
tel.: +38 (050) 302-17-77

Author's contribution: concept and design of the study, formulation of the aim, data collection and interpretation of the obtained results, manuscript writing, and formulation of conclusions.

Maliarova Liudmila Volodymyrivna – Assistant of Department of Hygiene and Social Medicine 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: l.v.maliarova@karazin.ua
tel.: +38 (096) 501-66-37

Author's contribution: analysis and statistical processing of the obtained data, formulation of conclusions.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
30.08.2025

Отримано після рецензування
Received after review
09.10.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-06>

УДК: 616.5-002.52-06:616.127-008]-053.6



OPEN ACCESS

Зміни показників ультразвукового дослідження серця при тривалому перебігу системного червоного вовчака у підлітків

Головко Т.О.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-3815-7874>, e-mail: golovko@karazin.ua

Богмат Л.Ф.¹, <https://orcid.org/0000-0001-5144-3686>, e-mail: bogmatLF@gmail.com

Шевченко Н.С.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4407-6050>, e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua

Ніконова В.В.¹, <https://orcid.org/0000-0001-8269-6176>, e-mail: viktoriavvn@gmail.com

Бессонова І.М.¹, <https://orcid.org/0000-0002-8473-8365>, e-mail: irina_bessonova@yahoo.com

¹Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків

Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Харківський університет імені В.Н. Каразіна

Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Changes in echocardiographic parameters in adolescents with long-term course of systemic lupus erythematosus

Holovko T.O.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-3815-7874>, e-mail: golovko@karazin.ua

Bohmat L.F.¹, <https://orcid.org/0000-0001-5144-3686>, e-mail: bogmatLF@gmail.com

Shevchenko N.S.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4407-6050>, e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua

Nikonova V.V.¹, <https://orcid.org/0000-0001-8269-6176>, e-mail: viktoriavvn@gmail.com

Bessonova I.M.¹, <https://orcid.org/0000-0002-8473-8365>, e-mail: irina_bessonova@yahoo.com

¹State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

системний червоний вовчак, морфофункціональні показники серця, дисфункція міокарда, правий шлуночок серця, підлітки.

Для кореспонденції:

Головко Тетяна Олексіївна

Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»;

просп. Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61158;

e-mail: golovko@karazin.ua

© Головко Т.О., Богмат Л.Ф.,

Шевченко Н.С., Ніконова В.В.,

Бессонова І.М., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Системний червоний вовчак – це аутоімунне захворювання, при якому уражується багато органів та систем організму. Смертність при цьому захворюванні вища, ніж у загальній популяції і серцево-судинні захворювання є найпоширенішою причиною смерті.

Мета роботи – визначити морфофункціональні показники міокарда лівого та правого шлуночків серця у підлітків з системним червоним вовчаком з урахуванням тривалості та активності хвороби.

Матеріали та методи. Обстежено 46 пацієнтів із системним червоним вовчаком. Порівняння отриманих даних проводили з аналогічними показниками однолітків групи контролю. Всі пацієнти на момент обстеження хворіли більше одного року та отримували базисну терапію. Проведено ультразвукове дослідження камер серця в «М»- та «В»-режимах.

Результати. При дослідженні морфофункціональних показників серця, виявлені ранні ознаки формування діастолічної дисфункції у вигляді зменшення кінцево-діастолічного розміру ($p_1 < 0,05$) та ударного об'єму ($p_1 < 0,01$) цієї порожнини. Ці зміни супроводжувались підвищенням загального периферичного опору судин ($p_1 < 0,001$), що призводило до зменшення градієнтів тиску на аортальному ($p_1 < 0,001$) та легеневому ($p_1 < 0,01$) клапанах серця. З боку правого шлуночка серця зареєстровано вірогідне збільшення кінцево-сistolічного розміру ($p_1 < 0,001$), кінцево-сistolічного об'єму ($p_1 < 0,001$), кінцево-діастолічного об'єму ($p_1 < 0,001$), ударного ($p_1 < 0,05$) та хвилинного ($p_1 < 0,05$) об'ємів, що супроводжувалось значним зниженням фракції викиду ($p_1 < 0,001$).

Висновки. У дітей із системним червоним вовчаком виявлено ранні ознаки формування систолічної та діастолічної дисфункції міокарда, з більш вираженими проявами з боку правого шлуночка серця. Встановлено прогресування систолічної дисфункції міокарда обох шлуночків серця на тлі збільшення тривалості захворювання. Процеси ремоделювання міокарда та його функціональні можливості не залежали від ступеня активності системного червоного вовчака.

Для цитування:

Головко Т.О., Богмат Л.Ф., Шевченко Н.С., Ніконова В.В., Бессонова І.М. Зміни показників ультразвукового дослідження серця при тривалому перебігу системного червоного вовчак у підлітків. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 748–765. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-06>

Keywords:

systemic lupus erythematosus, cardiac morphofunctional parameters, myocardial dysfunction, right ventricle, adolescents.

For correspondence:

Holovko Tetiana Oleksiivna
State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»;
52a Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61158;
e-mail: golovko@karazin.ua

© Holovko T.O., Bohmat L.F.,
Shevchenko N.S., Nikonova V.V.,
Bessonova I.M., 2025

ABSTRACT

Background. Systemic lupus erythematosus is a chronic autoimmune disease that affects multiple organs and systems. Mortality among patients with SLE is higher compared to the general population, with cardiovascular diseases representing the leading cause of death. Early identification of subclinical cardiac dysfunction is therefore of particular importance in pediatric patients with systemic lupus erythematosus.

Purpose – to assess the morphofunctional parameters of the left and right ventricular myocardium in adolescents with systemic lupus erythematosus, taking into account disease duration and activity.

Materials and Methods. A total of 46 adolescents with systemic lupus erythematosus were examined. Findings were compared with those of age- and sex-matched healthy controls. At the time of examination, all patients had a disease duration of more than one year and were receiving baseline therapy. Echocardiographic assessment of the cardiac chambers was performed using M-mode and B-mode imaging.

Results. Analysis of morphofunctional cardiac parameters revealed early signs of left ventricular diastolic dysfunction, demonstrated by a reduction in end-diastolic diameter ($p < 0.05$) and stroke volume ($p < 0.01$). These changes were accompanied by an increase in total peripheral vascular resistance ($p < 0.001$), resulting in decreased pressure gradients across the aortic ($p < 0.001$) and pulmonary ($p < 0.01$) valves. Regarding the right ventricle, significant increases in end-systolic diameter ($p < 0.001$), end-systolic volume ($p < 0.001$), end-diastolic volume ($p < 0.001$), stroke volume ($p < 0.05$), and cardiac output ($p < 0.05$) were observed, together with a pronounced reduction in ejection fraction ($p < 0.001$).

Conclusion. Adolescents with systemic lupus erythematosus exhibit early signs of both systolic and diastolic myocardial dysfunction, with more pronounced abnormalities in the right ventricle. Progression of systolic dysfunction in both ventricles was associated with longer disease duration. Myocardial remodeling and functional capacity were not dependent on the degree of systemic lupus erythematosus activity.

For citation:

Holovko TO, Bohmat LF, Shevchenko NS, Nikonova VV, Bessonova IM. Changes in echocardiographic parameters in adolescents with long-term course of systemic lupus erythematosus. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):748–765. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-06>

ВСТУП

Системний червоний вовчак (СЧВ) – це аутоімунне захворювання, при якому уражається багато органів та систем організму людини з різними варіантами клінічної маніфестації та тяжкості перебігу хвороби [1, 2]. Смертність при СЧВ вища, ніж у загальній популяції, при цьому інфекційні хвороби та серцево-судинні захворювання є найпоширенішою причиною смерті у цих пацієнтів [1].

У 1976 році Urowitz M.B. та співавт. описали бімодальну картину смертності при СЧВ, в якій виявили, що протягом першого року захворювання смертність зумовлена переважно активністю патологічного процесу. Наступний пік настає приблизно через 8,6 року захворювання внаслідок розвитку фатальних кардіоваскулярних катастроф, таких як гострий коронарний синдром, гостра серцева недостатність, інсульт та життєзагрозливі аритмії [2, 3]. Також у пацієнтів із СЧВ високим є ризик розвитку нефатальних кардіоваскулярних подій (аритмії, інфаркт міокарда, інсульт). Так, при порівнянні з хворими на цукровий діабет, ризик нефатальних серцево-судинних ускладнень

INTRODUCTION

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease characterized by multiorgan and multisystem involvement, with diverse clinical manifestations and varying degrees of disease severity [1, 2]. Mortality among patients with SLE remains higher than in the general population, with infectious diseases and cardiovascular disorders being the most common causes of death in these patients [1].

In 1976, Urowitz M.B. and colleagues described a bimodal pattern of mortality in SLE, demonstrating that during the first year of the disease, deaths are mainly associated with disease activity. The second peak occurs approximately 8.6 years after disease onset and is attributed to fatal cardiovascular events, such as acute coronary syndrome, acute heart failure, stroke, and life-threatening arrhythmias [2, 3]. Patients with SLE also have a high risk of developing non-fatal cardiovascular events (arrhythmias, myocardial infarction, stroke). Compared with individuals with diabetes mellitus, the risk of non-fatal cardiovascular complications in SLE patients is 27% higher, and twice as high compared with the general population [2, 4].

у пацієнтів із СЧВ на 27% вище, а при порівнянні з загальною популяцією – вдвічі вищий [2, 4].

Ймовірний ризик кардіоваскулярних ускладнень зростає через застосування глюкокортикостероїдів та цитостатиків у лікуванні СЧВ. Описано негативний вплив гіперглікемії, метаболічного синдрому та дисліпідемії у цих хворих. В багатьох дослідженнях показано тісний зв'язок СЧВ з атеросклерозом, який має більш складний механізм розвитку, ніж у загальній популяції. Разом з тим механізми формування серцево-судинних ускладнень при СЧВ повністю не відомі [2, 4].

Часто СЧВ дебютує у пацієнтів у підлітковому віці на тлі значних нейрогуморальних змін, що створює додаткові умови для формування кардіоваскулярних ускладнень. Ювенільний дебют СЧВ може маніфестувати з розвитку міокардиту та перикардиту. При довготривалому захворюванні у дітей також описано формування субклінічного атеросклерозу, атеротромбозу, серцевої недостатності [5].

Мета роботи – визначити морфофункціональні показники міокарда лівого та правого шлуночків серця у підлітків з системним червоним вовчаком з урахуванням тривалості та активності хвороби.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 46 пацієнтів (41 дівчина (89,13%) та 5 юнаків (10,87%)) віком $13,89 \pm 0,39$ року, які хворіли на СЧВ більше одного року. Всі діти на період обстеження отримували трикомпонентну базисну терапію терміном понад 12 місяців, що включала глюкокортикостероїди, азатиоприн, гідроксихлорохін. У період маніфестації хвороби третині пацієнтів (32,61%) проводилась пульс-терапія високими дозами ГКС та у більшості з них (28,26%) в комбінації з препаратами цитостатичної дії (циклофосфан). Контрольна група включала 30 практично здорових підлітків (23 дівчини (76,67%) та 7 хлопців (23,33%)), віком $14,53 \pm 0,38$ року.

Пацієнтам із СЧВ проводилось комплексне обстеження та лікування у відділенні кардіоревматології клініки Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України». Діти групи контролю проходили комплексне обстеження стану здоров'я у відділенні педіатрії клініки в аналогічний період і не мали запальних захворювань, уражень суглобів та вроджених вад розвитку.

Клінічні діагнози встановлювались відповідно до міжнародної класифікації хвороб Х перегляду (МКХ-Х). Для діагностики СЧВ керувались настановою Міністерства охорони здоров'я України 31.01.2017 № 00446 «Системний червоний вовчак», класифікаційними критеріями EULAR (European League Against Rheumatism) та ACR (American College of Rheumatology), опублікованими в 2019 році, згідно з якими діагноз виставлявся при наявності у пацієнта позитивних антиядерних антитіл (ANA) та клінічних симптомів із запропонованих доменів у загальній кількості 10 і більше балів [6, 7].

Критеріями виключення були системний варіант ЮІА та наявність інших захворювань суглобів (інфекційного, ендокринного чи деструктивного походження), вік пацієнтів молодший 10 років, відсутність терапії або її тривалість менше одного року.

The probable risk of cardiovascular complications increases due to the use of glucocorticosteroids and cytostatic agents in SLE therapy. Hyperglycemia, metabolic syndrome, and dyslipidemia have been reported to exert adverse effects in these patients [2, 4]. Numerous studies have demonstrated a strong association between SLE and atherosclerosis, which develops through more complex mechanisms than in the general population. However, the precise mechanisms underlying cardiovascular complications in SLE remain incompletely understood [2, 4].

SLE frequently manifests during adolescence, a period of significant neurohormonal changes, which may predispose to cardiovascular complications. Juvenile-onset SLE may present with myocarditis or pericarditis. In the long-term course of the disease, children have also been reported to develop subclinical atherosclerosis, atherothrombosis, and heart failure [5].

Objective – to determine the morphofunctional parameters of the left and right ventricular myocardium in adolescents with systemic lupus erythematosus (SLE), taking into account disease duration and activity.

MATERIALS AND METHODS

A total of 46 patients (41 girls (89.13%) and 5 boys (10.87%)), aged 13.89 ± 0.39 years, who had been diagnosed with SLE for more than one year, were examined. All children were receiving triple-component baseline therapy for more than 12 months, which included glucocorticosteroids, azathioprine, and hydroxychloroquine. During the disease onset, one-third of the patients (32.61%) received pulse therapy with high doses of glucocorticosteroids, and most of them (28.26%) were additionally treated with cytostatic agents (cyclophosphamide). The control group included 30 practically healthy adolescents (23 girls (76.67%) and 7 boys (23.33%)), aged 14.53 ± 0.38 years.

SLE patients underwent comprehensive clinical evaluation and treatment at the Department of Cardiorheumatology, State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». The control group underwent a comprehensive health examination at the Pediatric Department of the same clinic during the same period. None of the control participants had inflammatory diseases, joint pathology, or congenital malformations.

Clinical diagnoses were established according to the International Classification of Diseases, 10th Revision (ICD-10). The diagnosis of SLE was based on the guideline of the Ministry of Health of Ukraine No. 00446 (31.01.2017) «Systemic Lupus Erythematosus» and the EULAR (European League Against Rheumatism) and ACR (American College of Rheumatology) classification criteria (2019), according to which the diagnosis was confirmed in the presence of positive antinuclear antibodies (ANA) and clinical manifestations from the proposed domains with a cumulative score of ≥ 10 points [6, 7].

Exclusion criteria included the systemic form of juvenile idiopathic arthritis, the presence of other joint diseases (infectious, endocrine, or destructive origin),

Дослідження було проведено згідно з принципами Гельсінської декларації прав людини (1948 р.), відповідно етичним та морально-правовим вимогам Статусу Української асоціації з біоетики та нормам GCP (1992 р.), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини (1997 р.), з урахуванням вимог закону України «Про лікарські засоби» (1996, ст. 7; 8; 12), положень GLP (1998 р.), ICH GCP (2008) [8, 9]. Макет дослідження та використання біологічного матеріалу людини було затверджено Для клінічної оцінки стану серцево-судинної системи (ССС) під час огляду підтримувалась частота серцевих скорочень (ЧСС) та вимірювався артеріальний тиск (АТ). ЧСС вимірювали у стані спокою в положенні сидячи протягом 15 секунд з використанням секундоміра. Нормою вважалися значення для дітей від 10 до 12 років 60–100 уд/хв, від 13 до 15 років 55–95 уд/хв, від 16 до 18 років 60–89 уд/хв [10]. АТ також вимірювали в положенні сидячи з манжеткою відповідного розміру, яку накладали на середню третину верхньої кінцівки за методом Короткова з використанням апарата Microlife AG1-20. Нормою вважалось значення АТ для дітей до 12 років 120/80 мм рт.ст. та нижче, для дітей понад 12 років – до 130/85 мм рт.ст. та нижче [11].

Для визначення морфофункціональних параметрів серця проведено ультразвукове дослідження в «М»- та «В»-режимах, а також у режимі постійно-хвильового й кольорового сканування широкосмуговим секторним фазованим датчиком GE 3Sc-RS частотою 3,5–5,0 МГц і кутом розгорнення 80° (апарат LOGIC V2(США)) згідно з рекомендаціями з ехокардіографічної кількісної оцінки порожнин серця робочої групи з функціональної діагностики Асоціації кардіологів України та Всеукраїнської громадської організації «Асоціація фахівців з ехокардіографії».

Датчик розташовували ліворуч на передній поверхні грудної клітки в другому – третьому міжребер'ї в межах 2–3 см від нього – в ділянці акустичного вікна – парастернальна позиція. Параметри серця реєструвалися в 5-ти стандартних позиціях. Визначалися такі структурні параметри лівого та правого шлуночків: (кінцево-сistolічний розмір (КСРлш та КСРпш), кінцево-сistolічний об'єм (КСОлш та КСОпш), кінцево-діастолічний розмір (КДРлш та КДРпш), кінцево-діастолічний об'єм (КДОлш та КДОпш), виносного тракту правого шлуночка (ВТпш), а також діаметра лівого передсердя (ДЛП) та аорти (ДА), товщина задньої стінки (ТМлш та ТМпш), а також товщина міжшлуночкової перегородки (ТМШП). Також визначалися функціональні показники обох шлуночків: фракція викиду (ФВлш та ФВпш), ударний об'єм (УОлш та УОпш), хвилинний об'єм крові (ХОКлш та ХОКпш) з урахуванням частоти серцевих скорочень (ЧСС). Фракцію викиду правого шлуночка розраховували методом дисків – це умовна назва способу розрахунку об'ємів правого шлуночка (ПШ) на основі ультразвукових зображень, де шлуночок розглядається як набір дисків або циліндрів [12, 13].

Розраховувалася також маса міокарда ЛШ (ММлш) за формулою:
$$\text{ММлш} = 0,8 \times \{1,04 \times ([\text{КДРлш} + \text{ТМлш} + \text{ТМШП}]^3 - \text{КДРлш}^3)\} + 0,6, \text{ г}$$

де КДРлш – кінцевий діастолічний розмір ЛШ, см,

patient age under 10 years, and absence or duration of therapy less than one year.

The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (1948), ethical and legal standards of the Ukrainian Association of Bioethics, and the norms of GCP (1992), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1997), and the Law of Ukraine «On Medicinal Products» (1996, Articles 7, 8, 12), as well as GLP (1998) and ICH GCP (2008) guidelines [8, 9]. The research design and use of human biological material were approved by the Ethics Committee of the State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care, NAMS of Ukraine,» Kharkiv, Ukraine. Written informed consent was obtained in accordance with the Declaration of Helsinki (Protocol No. 2, February 26, 2024).

For clinical assessment of the cardiovascular system (CVS), heart rate (HR) and arterial blood pressure (BP) were measured. HR was recorded at rest in the sitting position for 15 seconds using a stopwatch. Normal HR values were considered to be 60–100 bpm for children aged 10–12 years, 55–95 bpm for ages 13–15 years, and 60–89 bpm for ages 16–18 years [10]. BP was measured in the sitting position using an appropriately sized cuff placed on the middle third of the upper arm (Korotkov method, Microlife AG1-20 device). Normal BP values were defined as $\leq 120/80$ mmHg for children ≤ 12 years and $\leq 130/85$ mmHg for those > 12 years [11].

Morphofunctional cardiac parameters were assessed by echocardiography in M-mode, B-mode, in continuous-wave and color Doppler modes using a broadband sector phased array transducer GE 3Sc-RS with a frequency of 3.5–5.0 MHz and a scanning angle of 80° (LOGIQ V2 system, USA), following the recommendations of the Working Group on Functional Diagnostics of the Ukrainian Association of Cardiologists and the All-Ukrainian Society of Echocardiography Specialists.

The transducer was positioned parasternal on the left anterior chest wall (second to third intercostal space, 2–3 cm from the sternum). Cardiac parameters were recorded in five standard positions. The following structural parameters were measured for both ventricles: end-systolic dimension (LVESD, RVESD), end-systolic volume (LVESV, RVESV), end-diastolic dimension (LVEDD, RVEDD), end-diastolic volume (LVEDV, RVEDV), right ventricular outflow tract (RVOT) diameter, left atrial diameter (LAD), aorta diameter (AoD), posterior wall thickness of the left and right ventricles (LVPWT and RVPWT), and the thickness of the interventricular septum (IVST). Functional indices included ejection fraction (LVEF, RVEF), stroke volume (SV), and cardiac output (CO), adjusted for HR.

The right ventricular ejection fraction was calculated using the disc-summation (Simpson's) method, which estimates ventricular volume based on ultrasound imaging by modeling the ventricle as a stack of discs [12, 13].

Left ventricular mass (LVM) was calculated using the following formula:

$$\text{LVM} = 0,8 \times \{1,04 \times [(\text{LVEDD} + \text{PWT} + \text{IVST})^3 - (\text{LVEDD})^3]\} + 0,6 \text{ g,}$$

where LVEDD – left ventricular end-diastolic dimension (cm), LVPWT – posterior wall thickness of left ventricle (cm), IVST – interventricular septal thickness (cm).

ТМлш – товщина міокарда, см,
ТМШП – товщина міжшлуночкової перегородки, см.
Перед дослідженням вимірювався артеріальний тиск для розрахунку загального периферичного судинного опору за формулою [11, 14]:

$ЗПСО = (My \times 79,98) : ХОКлш, \text{дин.с.см}^{-5};$

де ЗПСО – загальний периферичний судинний опір;

My – середній АТ, мм рт. ст.;

ХОКлш – хвилинний об'єм крові ЛШ, л/хв.

Середній артеріальний тиск розраховували за формулою:

$My = (CAT - DAT) : 3 + DAT, \text{мм рт.ст.},$

де CAT – систолічний артеріальний тиск, мм рт.ст.,

DAT – діастолічний артеріальний тиск, мм рт.ст.

Статистична обробка отриманих даних проводилась за допомогою пакета прикладних програм SPSS17 (ліцензія 4a180844250981ae3dae-s/nSPSS17). Перед статистичною обробкою всі дані були перевірені на нормальність розподілу. Для визначення вірогідності відмінностей показників використовували параметричні (t-критерій Ст'юдента (p), кутового перетворення Фішера (φ)) і непараметричний критерій (u-критерій Вілкоксона–Манна–Уїтні (VMW)). Дані представлені як середнє арифметичне ± стандартна похибка (M ± m). Для оцінки зв'язку між рядами показників було застосовано кореляційний аналіз, для чого використовували кореляцію Пірсона. Силу кореляційного зв'язку оцінювали за шкалою Чеддока, де значення 0,10–0,29 свідчило про слабкий зв'язок, 0,30–0,49 – помірний, 0,50–0,69 – середній, 0,70–0,89 – сильний, 0,90–0,99 – дуже сильний, 1,00 – функціональний зв'язок. Відмінності вважали вірогідними в разі $p < 0,05$ [15, 16].

Arterial pressure was measured before echocardiography to calculate total peripheral vascular resistance (TPR) using the formula [11, 14]:

$TPR = (MAP \times 79,98) / CO, \text{dyn} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5},$

where TPR – total peripheral resistance,

MAP – mean arterial pressure (mmHg),

CO – cardiac output (L/min).

Mean arterial pressure was calculated as:

$MAP = (SBP - DBP) / 3 + DBP \text{ (mmHg)},$

where SBP – systolic BP, DBP – diastolic BP.

Statistical analysis was performed using SPSS 17 (license No. 4a180844250981ae3dae-s/nSPSS17). All data were tested for normality prior to analysis. Parametric (Student's t-test, Fisher's angular transformation [φ]) and non-parametric tests (Wilcoxon–Mann–Whitney U-test) were applied as appropriate. Data are presented as mean ± standard error (M ± m). Correlations were analyzed using Pearson's correlation coefficient. The strength of association was interpreted according to Chaddock's scale: 0.10–0.29 (weak), 0.30–0.49 (moderate), 0.50–0.69 (average), 0.70–0.89 (strong), 0.90–0.99 (very strong), and 1.00 (functional). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ [15, 16].

РЕЗУЛЬТАТИ

Тривалість хвороби пацієнтів склала $3,63 \pm 0,41$ роки, вік дебюту – $10,87 \pm 0,54$ року. У фізичному розвитку підлітків з СЧВ відзначались такі відмінності від їх здорових однолітків: вони були меншого зросту ($1,55 \pm 0,02$ м проти $1,67 \pm 0,02$ м, $p_t < 0,001$), але маса тіла не відрізнялась від показників дітей групи контролю ($51,44 \pm 2,24$ кг проти $54,38 \pm 2,14$ кг, $p_t < 0,1$), при цьому індекс маси тіла (ІМТ) у хворих дітей був більшим ($21,01 \pm 0,59$ кг/м² проти $19,21 \pm 0,45$ кг/м², $p_t < 0,01$).

При обстеженні пацієнтів під час надходження в стаціонар найбільш частими скаргами були головний біль (39,13%), артралгії (36,96%) та наявність висипки на обличчі (34,78%). Без скарг було лише 8 (17,39%) пацієнтів. З боку серцево-судинної системи скарг не було. При фізикальному обстеженні змін з боку серця та судин не виявлено за виключенням ЧСС, яка була істотно вищою у пацієнтів з СЧВ ($82,08 \pm 1,99$ уд/хв проти $73,56 \pm 1,71$ уд/хв, $p_t < 0,001$). Систолічний артеріальний тиск вірогідно не відрізнявся по групах обстежених дітей і знаходився в межах вікових норм ($110,07 \pm 2,08$ мм рт.ст. у дітей з СЧВ проти $106,88$ мм рт.ст. групи контролю, $p_t < 0,1$), діастолічний був значно вищим у підлітків з СЧВ, але також відповідав нормальним значенням ($69,07 \pm 1,46$ мм рт.ст. проти $65,07 \pm 1,06$ мм рт.ст., $p_t < 0,01$).

За індексом активності SLEDAI на момент обстеження середній бал по групі склав $13,55 \pm 0,98$,

RESULTS

The mean disease duration among patients was 3.63 ± 0.41 years, with a mean age at onset of 10.87 ± 0.54 years. In terms of physical development, adolescents with SLE demonstrated the following differences compared with their healthy peers: they were shorter in height (1.55 ± 0.02 m vs. 1.67 ± 0.02 m, $p_t < 0.001$), while body weight did not significantly differ from that of the control group (51.44 ± 2.24 kg vs. 54.38 ± 2.14 kg, $p_t < 0.1$). However, the body mass index (BMI) in SLE patients was significantly higher (21.01 ± 0.59 kg/m² vs. 19.21 ± 0.45 kg/m², $p_t < 0.01$).

At the time of hospital admission, the most common complaints were headache (39.13%), arthralgia (36.96%), and facial rash (34.78%). Only 8 (17.39%) patients reported no complaints. No cardiovascular symptoms were observed. Physical examination revealed no cardiac or vascular abnormalities except for a significantly higher heart rate in SLE patients (82.08 ± 1.99 bpm vs. 73.56 ± 1.71 bpm, $p_t < 0.001$). The systolic blood pressure did not differ significantly between groups and remained within the age-appropriate range (110.07 ± 2.08 mmHg in SLE patients vs. 106.88 mmHg in the control group, $p_t < 0.1$), whereas diastolic pressure was significantly higher in SLE adolescents, though still within normal limits (69.07 ± 1.46 mmHg vs. 65.07 ± 1.06 mmHg, $p_t < 0.01$).

According to the SLEDAI activity index at the time of examination, the mean score was 13.55 ± 0.98 ,

що відповідає високому ступеню активності СЧВ. За активністю процесу за SLICC найбільшу кількість (43,48%) склали хворі з високим рівнем, з дуже високим ступенем було 21,74%, з середнім – 19,57%. У неактивному періоді захворювання було лише у 3 (6,52%) пацієнтів.

При дослідженні морфофункціональних показників серця встановлено більш високі значення ЧСС ($p_t < 0,01$) та товщини міокарда лівого шлуночка ($p_t < 0,05$), при менших значеннях кінцево-діастолічного розміру ($p_t < 0,05$) та ударного об'єму ($p_t < 0,01$) цієї порожнини. Ці зміни супроводжувались підвищенням загального периферичного опору судин ($p_t < 0,001$), що призводило до зменшення градієнтів тиску на аортальному ($p_t < 0,001$) та легенево-муні ($p_t < 0,01$) клапанах серця (табл. 1, 2).

corresponding to a high level of disease activity. Based on the SLICC activity classification, the largest proportion of patients (43.48%) had high activity, 21.74% had very high activity, and 19.57% had moderate activity. Only 3 (6.52%) patients were in the inactive disease phase.

Assessment of the morphological and functional cardiac parameters revealed higher values of heart rate ($p_t < 0.01$) and left ventricular myocardial wall thickness ($p_t < 0.05$), along with smaller end-diastolic diameter ($p_t < 0.05$) and stroke volume ($p_t < 0.01$). These alterations were accompanied by an increase in total peripheral vascular resistance ($p_t < 0.001$), resulting in reduced pressure gradients across the aortic ($p_t < 0.001$) and pulmonary ($p_t < 0.01$) valves (Tables 1, 2).

Таблиця 1. Морфофункціональні показники лівого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком, ($M \pm m$)
Table 1. Morphological and functional parameters of the left ventricle in children with systemic lupus erythematosus, ($M \pm m$)

Показник / Indicator	Пацієнти з СЧВ / Patients with SLE	Група контролю / Control group
	n = 46	n = 30
ЧСС, уд/хв / HR, bpm	80,10 $\pm$ 1,74 **	72,87 $\pm$ 2,44
ДА, см / AoD, cm	2,45 $\pm$ 0,04	2,49 $\pm$ 0,03
ДЛП, см / LAD, cm	2,41 $\pm$ 0,04	2,42 $\pm$ 0,04
КДРлш, см / LVEDD, cm	3,99 $\pm$ 0,07 *	4,24 $\pm$ 0,08
КДОлш, мл / LVEDV, ml	74,34 $\pm$ 3,41	82,08 $\pm$ 3,83
КСРлш, см / LVESD, cm	2,60 $\pm$ 0,06	2,65 $\pm$ 0,05
КСОлш, мл / LVESV, ml	27,30 $\pm$ 1,88	25,89 $\pm$ 1,38
ТМзс, см / LVPWT, cm	0,70 $\pm$ 0,02 *	0,66 $\pm$ 0,01
ТМШП, см / IVST, cm	0,73 $\pm$ 0,02	0,69 $\pm$ 0,02
ММлш, г / LVMM, g	87,81 $\pm$ 4,33	87,27 $\pm$ 4,28
ФВлш, % / LVEF, %	66,42 $\pm$ 0,82	68,24 $\pm$ 1,00
УОлш, мл / LVSV, ml	48,69 $\pm$ 1,83 **	56,10 $\pm$ 2,89
ХОлш, л/хв / LVCO, l/min	3,89 $\pm$ 0,17	4,07 $\pm$ 0,26
ЗПСО, дин.с.см ⁻⁵ / TPVR, dyn.s.cm ⁻⁵	1833,89 $\pm$ 75,28 ***	1170,72 $\pm$ 136,00

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів з СЧВ в порівнянні з групою контролю.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ – statistical significance of differences in morphological and functional cardiac parameters in SLE patients compared with the control group.

З боку правого шлуночка серця зареєстровано такі зміни: вірогідне збільшення кінцево-систолического розміру ($p_t < 0,001$), кінцево-систолического об'єму ($p_t < 0,001$), кінцево-діастолічного об'єму ($p_t < 0,001$), товщини міокарда ($p_t < 0,01$), ударного ($p_t < 0,05$) та хвилинного ($p_t < 0,05$) об'ємів, що супроводжувалось значним зниженням фракції викиду ($p_t < 0,001$) (табл. 2).

Regarding the right ventricle, the following alterations were observed: a significant increase in end-systolic diameter ($p_t < 0.001$), end-systolic volume ($p_t < 0.001$), end-diastolic volume ($p_t < 0.001$), and myocardial wall thickness ($p_t < 0.01$), as well as higher stroke volume ($p_t < 0.05$) and cardiac output ($p_t < 0.05$). These changes were accompanied by a marked reduction in ejection fraction ($p_t < 0.001$) (Table 2).

Таблиця 2. Морфофункціональні показники правого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком, ($M \pm m$)
Table 2. Morphological and functional parameters of the right ventricle in children with systemic lupus erythematosus, ($M \pm m$)

Показник / Indicator	Пацієнти з СЧВ / Patients with SLE	Група контролю / Control group
	n = 46	n = 30
ВТпш, см / RVOT, cm	2,33 $\pm$ 0,04 *	2,42 $\pm$ 0,04
КДРпш, см / RVEDD, cm	2,01 $\pm$ 0,06	2,04 $\pm$ 0,05
КДОпш, мл / RVEDV, ml	34,98 $\pm$ 1,85 ***	21,74 $\pm$ 2,44

Продовження таблиці 2

КСРпш, см / RVESD, cm	1,96 ± 0,08 ***	1,55 ± 0,06
КСОпш, мл / RVESV, ml	19,53 ± 1,23 ***	9,74 ± 1,28
ТМпш, см / RVPWT, cm	0,47 ± 0,01 **	0,42 ± 0,02
ФВпш, % / RVEF, %	45,28 ± 2,45 ***	56,82 ± 1,89
УОпш, мл / RVSV, ml	15,46 ± 1,03 *	12,03 ± 1,24
ХОпш, л/хв / RVCO, l/min	1,19 ± 0,19 *	0,89 ± 0,10
Глк, мм.рт.ст / PGPV, mmHg	2,45 ± 0,10 **	3,55 ± 0,40
Гак, мм.рт.ст / PGAV, mmHg	2,56 ± 0,11 ***	4,53 ± 0,64

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів з СЧВ в порівнянні з групою контролю.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ – statistical significance of differences in morphological and functional cardiac parameters in SLE patients compared with the control group.

Аналіз показників з урахуванням статі показав, що у юнаків були меншими кінцево-діастолічний розмір ($p_t < 0,05$) та об'єм ($p_t < 0,05$) лівого шлуночка, у дівчат – тенденція до зниження КДО та збільшення КСО, гіпертрофії ЗСЛШ (табл. 3). Рівень загального периферичного опору судин в осіб жіночої статі був значно вищим ($p_t < 0,001$). При цьому градієнти тиску на аортальному та легеневому клапанах суттєво знижувались як у дівчат ($p_t < 0,01$), так і у хлопців ($p_t < 0,001$) (див. табл. 3).

Analysis of cardiac parameters by sex demonstrated that male adolescents had smaller left ventricular end-diastolic diameter ($p_t < 0,05$) and volume ($p_t < 0,05$), whereas females showed a tendency toward decreased end-diastolic volume (EDV), increased end-systolic volume (ESV), and hypertrophy of the posterior left ventricular wall (Table 3). The level of total peripheral vascular resistance was significantly higher in females ($p_t < 0,001$). At the same time, pressure gradients across both the aortic and pulmonary valves were markedly reduced in females ($p_t < 0,01$) and males ($p_t < 0,001$) (Table 3).

Таблиця 3. Морфофункціональні показники лівого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням статі, (M ± m)

Table 3. Morphofunctional parameters of the left ventricle

in children with systemic lupus erythematosus, stratified by sex, (M ± m)

Показник / Indicator	Хлопці із СЧВ / Boys with SLE	Хлопці групи контролю / Boys in the Control group	Дівчата із СЧВ / Girls with SLE	Дівчата групи контролю / Girls in the Control group
	n = 5	n = 7	n = 41	n = 23
Вік, роки / Age, years	12,33 ± 1,20	13,57 ± 0,88	13,89 ± 0,38	13,65 ± 0,41
ЧСС, уд/хв/ HR, bpm	79,67 ± 6,66	65,14 ± 6,21	80,16 ± 1,80 [£]	75,22 ± 2,44
ДА, см / AoD, cm	2,43 ± 0,15	2,53 ± 0,08	2,46 ± 0,04	2,47 ± 0,04
ДЛП, см / LAD, cm	2,36 ± 0,16	2,46 ± 0,06	2,41 ± 0,03	2,39 ± 0,04
КДРлш, см / LVEDD, cm	3,97 ± 0,21 *	4,53 ± 0,21	4,00 ± 0,08	4,16 ± 0,08
КДОлш, мл / LVEDV, ml	68,04 ± 8,55 *	95,65 ± 10,14	75,64 ± 3,62	77,95 ± 3,65
КСРлш, см / LVESD, cm	2,45 ± 0,21	2,76 ± 0,09	2,62 ± 0,06	2,61 ± 0,06
КСОлш, мл / LVESV, ml	23,90 ± 5,04	28,83 ± 2,41	27,75 ± 2,04	25,00 ± 1,63
ТМзс, см / LVPWT, cm	0,69 ± 0,04	0,67 ± 0,03	0,71 ± 0,02 [£]	0,66 ± 0,02
ТМШП, см / IVST, cm	0,70 ± 0,04	0,70 ± 0,01	0,73 ± 0,02	0,69 ± 0,02
ММлш, г / LVMM, g	80,96 ± 11,17	98,15 ± 8,98	88,74 ± 4,71	83,96 ± 4,77
ФВлш, % / LVEF, %	68,37 ± 1,86	69,09 ± 1,53	66,16 ± 0,89	67,98 ± 1,24
УОлш, мл / LVSV, ml	51,25 ± 6,62	66,95 ± 8,10	48,34 ± 1,90	52,80 ± 2,61
ХОлш, л/хв / LVCO, l/min	3,91 ± 0,35	4,50 ± 0,87	3,89 ± 0,19	3,94 ± 0,21
ЗПСО, дин.с.см ⁵ / TPVR, dyn.s.cm ⁵	1698,43 ± 139,52	1428,48 ± 368,37	1852,79 ± 89,59 ^{£££}	1092,27 ± 139,03

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця хлопців із ЮІА в порівнянні з хлопцями групи контролю; [£] $p_t < 0,05$, ^{££} $p_t < 0,01$, ^{£££} $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця дівчат із СЧВ у порівнянні з дівчатами групи контролю.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ – statistical significance of differences in morphofunctional cardiac parameters of boys with juvenile idiopathic arthritis (JIA) compared with boys from the control group;

[£] $p_t < 0,05$, ^{££} $p_t < 0,01$, ^{£££} $p_t < 0,001$ – statistical significance of differences in morphofunctional cardiac parameters of girls with systemic lupus erythematosus (SLE) compared with girls from the control group.

Показники правого шлуночка змінювались у представників обох статей майже однаково, а саме: вірогідно збільшувались кінцево-сistolічний розмір ($p_t < 0,001$), кінцево-сistolічний об'єм ($p_t < 0,001$), кінцево-діастолічний об'єм ($p_t < 0,001$), товщина міокарда ($p_t < 0,05$), що супроводжувалось значним зниженням фракції викиду ПШ ($p_t < 0,001$). Рівень ударного об'єму ($p_t < 0,01$) значно збільшувався у дівчат, а хвилинного – зростав у представників обох статей ($p_t < 0,05$) (табл. 4).

The parameters of the right ventricle changed almost equally in both sexes, namely: there was a significant increase in end-systolic dimension ($p_t < 0.001$), end-systolic volume ($p_t < 0.001$), end-diastolic volume ($p_t < 0.001$), and myocardial thickness ($p_t < 0.05$), which was accompanied by a marked decrease in right ventricular ejection fraction ($p_t < 0.001$). The stroke volume level ($p_t < 0.01$) increased significantly in girls, while the cardiac output increased in both sexes ($p_t < 0.05$) (Table 4).

Таблиця 4. Морфофункціональні показники правого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком, (M ± m)
Table 4. Morphofunctional parameters of the right ventricle in children with systemic lupus erythematosus, (M ± m)

Показник / Indicator	Хлопці із СЧВ / Boys with SLE	Хлопці групи контролю / Boys in the Control group	Дівчата із СЧВ / Girls with SLE	Дівчата групи контролю / Girls in the Control group
	n = 5	n = 7	n = 41	n = 23
Вік, роки / Age, years	12,33 ± 1,20	13,57 ± 0,88	13,89 ± 0,38	13,65 ± 0,41
ВТпш, см / RVOT, cm	2,43 ± 0,04	2,49 ± 0,04	2,34 ± 0,04	2,39 ± 0,04
КДРпш, см / RVEDD, cm	2,19 ± 0,06	2,25 ± 0,10	2,03 ± 0,06	2,01 ± 0,06
КДОпш, мл / RVEDV, ml	36,84 ± 2,31***	24,51 ± 3,19	35,43 ± 1,99 ^{eee}	21,11 ± 2,81
КСРпш, см / RVESD, cm	1,95 ± 0,07***	1,65 ± 0,06	1,99 ± 0,09 ^{eee}	1,51 ± 0,08
КСОпш, мл / RVESV, ml	20,54 ± 1,39 ***	10,89 ± 1,69	19,71 ± 1,35 ^{eee}	9,72 ± 1,55
ТМпш, см / RVPWT, cm	0,45 ± 0,01*	0,40 ± 0,03	0,46 ± 0,01 ^e	0,43 ± 0,02
ФВпш, % / RVEF, %	43,95 ± 2,44***	56,15 ± 1,61	44,94 ± 2,02 ^{eee}	56,01 ± 2,43
УОпш, мл / RVSV, ml	16,30 ± 1,51	13,46 ± 1,66	15,71 ± 1,12 ^{ee}	11,39 ± 1,35
ХОпш, л/хв / RVCO, l/min	1,23 ± 0,13*	0,88 ± 0,15	1,22 ± 0,13 ^e	0,88 ± 0,12
Глк, мм.рт.ст / PGPV, mmHg	2,32 ± 0,14***	4,85 ± 0,93	2,42 ± 0,11 ^{ee}	3,34 ± 0,38
Гак, мм.рт.ст / PGAV, mmHg	2,74 ± 0,20***	5,55 ± 1,41	2,51 ± 0,12 ^{ee}	4,23 ± 0,67

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця хлопців із СЧВ у порівнянні з хлопцями групи контролю; ^e $p_t < 0,05$, ^{ee} $p_t < 0,01$, ^{eee} $p_t < 0,001$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця дівчат із СЧВ у порівнянні з дівчатами групи контролю.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$ *** $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in boys with SLE compared with boys from the control group; ^e $p_t < 0,05$, ^{ee} $p_t < 0,01$, ^{eee} $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in girls with SLE compared with girls from the control group.

Встановлено, що у дітей молодшого віку суттєво зростав загальний периферичний опір судин ($p_t < 0,01$), що призводило до вірогідного зниження градієнта тиску на аортальному ($p_t < 0,05$) та легенево-м ($p_t < 0,05$) клапанах. Одночасно збільшувались кінцево-діастолічний ($p_t < 0,01$) та кінцево-сistolічний об'єми ($p_t < 0,001$) правого шлуночка, його кінцево-сistolічний розмір ($p_t < 0,01$), товщина міокарда ($p_t < 0,05$), вірогідно підвищувався хвилинний об'єм ($p_t < 0,05$) на тлі значного зниження фракції викиду ПШ ($p_t < 0,001$) (табл. 5, 6).

У дітей старшого віку виявлено вірогідно більші розміри порожнин як правого ($p_t < 0,05$), так і лівого шлуночків ($p_t < 0,05$), а також зниження сили скорочення міокарда ЛШ – його ударного об'єму ($p_t < 0,01$). Загальний периферичний опір був значно вищим, ніж у здорових однолітків ($p_t < 0,001$), що супроводжувалось зниженням градієнта тиску на аортальному ($p_t < 0,05$) та легенево-м ($p_t < 0,01$) клапанах. З боку правого шлуночка серця вірогідно збільшувались кінцево-діастолічний ($p_t < 0,01$) та кінцево-сistolічний об'єми ($p_t < 0,001$), його кінцево-сistolічний розмір ($p_t < 0,01$), вірогідно підвищувався ударний ($p_t < 0,05$) об'єм на тлі значного зниження фракції викиду ПШ ($p_t < 0,05$) (табл. 5, 6).

It was established that in younger children, the total peripheral vascular resistance increased significantly ($p_t < 0.01$), leading to a marked decrease in pressure gradients across the aortic ($p_t < 0.05$) and pulmonary ($p_t < 0.05$) valves. At the same time, end-diastolic ($p_t < 0.01$) and end-systolic volumes ($p_t < 0.001$) of the right ventricle, its end-systolic dimension ($p_t < 0.01$), and myocardial thickness ($p_t < 0.05$) all increased. Cardiac output ($p_t < 0.05$) also rose significantly, while the right ventricular ejection fraction showed a substantial decline ($p_t < 0.001$) (Tables 5 and 6).

In older children, significantly larger chamber dimensions were observed in both the right ($p_t < 0.05$) and left ventricles ($p_t < 0.05$), along with a decrease in left ventricular contractile strength, reflected by a reduction in stroke volume ($p_t < 0.01$). Total peripheral vascular resistance was markedly higher than in healthy peers ($p_t < 0.001$), accompanied by a decrease in pressure gradients across the aortic ($p_t < 0.05$) and pulmonary ($p_t < 0.01$) valves.

In the right ventricle, significant increases were noted in end-diastolic ($p_t < 0.01$) and end-systolic volumes ($p_t < 0.001$), as well as end-systolic dimension ($p_t < 0.01$), along with a notable rise in stroke volume ($p_t < 0.05$) and a considerable reduction in right ventricular ejection fraction ($p_t < 0.05$) (Tables 5 and 6).

Таблиця 5. Морфофункціональні показники лівого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням віку, (M ± m)

Table 6. Morphofunctional parameters of the left ventricle in children with systemic lupus erythematosus, considering age, (M ± m)

Показник / Indicator	Пацієнти віком 10–13 років / Patients aged 10–13 years	Діти групи контролю віком 10–13 років / Control group children aged 10–13 years	Пацієнти віком 14–18 років / Patients aged 14–18 years	Діти групи контролю віком 14–18 років / Control group children aged 14–18 years
	n = 18	n = 12	n = 28	n = 18
Вік, роки / Age, years	11,00 ± 0,35	11,50 ± 0,31	15,52 ± 0,21	15,06 ± 0,19
ЧСС, уд/хв / HR, bpm	82,90 ± 2,96 *	72,25 ± 3,66	78,13 ± 2,09	73,28 ± 3,33
ДА, см / AoD, cm	2,30 ± 0,05	2,41 ± 0,05	2,58 ± 0,05	2,55 ± 0,04
ДЛП, см / LAD, cm	2,27 ± 0,04	2,32 ± 0,06	2,51 ± 0,04	2,48 ± 0,04
КДРлш, см / LVEDD, cm	3,82 ± 0,11	3,99 ± 0,10	4,20 ± 0,09	4,42 ± 0,11
КДОлш, мл / LVEDV, ml	66,94 ± 4,88	70,49 ± 4,06	86,11 ± 3,72	89,81 ± 5,08
КСРлш, см / LVESD, cm	2,39 ± 0,08	2,49 ± 0,06	2,77 ± 0,06	2,76 ± 0,07
КСОлш, мл / LVEDV, ml	22,11 ± 2,06	23,42 ± 1,32	31,40 ± 2,63	28,21 ± 1,97
ТМзс, см / LVPWT, cm	0,67 ± 0,02	0,64 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,68 ± 0,02
ТМШП, см / IVST, cm	0,67 ± 0,02	0,68 ± 0,02	0,78 ± 0,02 ^ε	0,70 ± 0,02
ММлш, г / LVMM, g	73,13 ± 5,81	75,33 ± 5,11	98,44 ± 5,43	95,24 ± 5,62
ФВлш, % / LVEF, %	68,32 ± 1,03	68,16 ± 0,74	65,09 ± 1,13	68,29 ± 1,62
УОлш, мл / LVSV, ml	45,05 ± 3,11	48,12 ± 2,88	51,42 ± 2,10 ^{εε}	61,42 ± 4,00
ХОлш, л/хв / LVCO, l/min	3,73 ± 0,31	3,40 ± 0,18	4,01 ± 0,18	4,51 ± 0,38
ЗПСО, дин.с.см ⁻⁵ / TPVR, dyn.s.cm ⁻⁵	1894,05 ± 124,33 **	1391,69 ± 183,94	1788,77 ± 94,17 ^{εεε}	1023,40 ± 186,54

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$, *** $p_t < 0,001$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ віком 10–13 років в порівнянні з дітьми групи контролю аналогічного віку; ^ε $p_t < 0,05$, ^{εε} $p_t < 0,01$, ^{εεε} $p_t < 0,001$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ віком 14–18 років в порівнянні з дітьми групи контролю того ж віку.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$, *** $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients aged 10–13 years compared with age-matched controls; ^ε $p_t < 0,05$, ^{εε} $p_t < 0,01$, ^{εεε} $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients aged 14–18 years compared with age-matched controls.

Таблиця 6. Морфофункціональні показники правого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням віку, (M ± m)

Table 6. Morphofunctional parameters of the right ventricle in children with systemic lupus erythematosus, considering age, (M ± m)

Показник / Indicator	Пацієнти віком 10–13 років / Patients aged 10–13 years	Діти групи контролю віком 10–13 років / Control group children aged 10–13 years	Пацієнти віком 14–18 років / Patients aged 14–18 years	Діти групи контролю віком 14–18 років / Control group children aged 14–18 years
	n = 18	n = 12	n = 28	n = 18
Вік, роки / Age, years	11,00 ± 0,35	11,50 ± 0,31	15,52 ± 0,21	15,06 ± 0,19
ВТпш, см / RVOT, cm	2,23 ± 0,06	2,33 ± 0,06	2,41 ± 0,40	2,49 ± 0,03
КДРпш, см / RVEDD, cm	2,00 ± 0,08	1,91 ± 0,08	2,04 ± 0,08	2,13 ± 0,06
КДОпш, мл / RVEDV, ml	36,23 ± 3,36 **	19,58 ± 3,99	35,84 ± 2,64 ^{εε}	23,18 ± 3,11
КСРпш, см / RVESD, cm	1,97 ± 0,14 **	1,48 ± 0,09	1,99 ± 0,09 ^{εε}	1,61 ± 0,09
КСОпш, мл / RVESV, ml	20,51 ± 2,17 ***	8,47 ± 1,99	19,99 ± 1,82 ^{εεε}	10,58 ± 1,67
ТМпш, см / RVPWT, cm	0,44 ± 0,03 *	0,36 ± 0,03	0,49 ± 0,01 ^{εε}	0,45 ± 0,01
ФВпш, % / RVEF, %	42,68 ± 3,41 ***	58,24 ± 2,74	46,83 ± 3,27 ^ε	55,87 ± 2,61
УОпш, мл / RVSV, ml	15,72 ± 1,77	11,12 ± 2,06	15,84 ± 1,31 ^ε	12,63 ± 1,56
ХОпш, л/хв / RVCO, l/min	1,29 ± 0,18 *	0,84 ± 0,19	1,13 ± 0,15	0,93 ± 0,12
Глк, мм.рт.ст / PGPV, mmHg	2,54 ± 0,15 *	3,54 ± 0,59	2,39 ± 0,15 ^{εε}	3,92 ± 0,62
Гак, мм.рт.ст / PGAV, mmHg	2,59 ± 0,18 *	4,68 ± 1,01	2,53 ± 0,15 ^ε	4,44 ± 0,85

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$, *** $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ віком 10–13 років в порівнянні з дітьми групи контролю аналогічного віку; ^ε $p_t < 0,05$, ^{εε} $p_t < 0,01$, ^{εεε} $p_t < 0,001$ вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ віком 14–18 років в порівнянні з дітьми групи контролю того ж віку.

* $p_t < 0,05$, ** $p_t < 0,01$, *** $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients aged 10–13 years compared with age-matched controls; ^ε $p_t < 0,05$, ^{εε} $p_t < 0,01$, ^{εεε} $p_t < 0,001$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients aged 14–18 years compared with age-matched controls.

У групу пацієнтів з тривалістю СЧВ менше 3-х років увійшло 23 (88,46%) дівчини та 3 (11,54%) хлопці. За ступенем активності діти розподілились таким чином: активність 0–1 ст. у 3 (11,54%), 2 ст. – у 7 (26,92%); 3 ст. – у 10 (38,46%); 4 ст. – у 6 (23,08%). У групу пацієнтів з тривалістю хвороби більше 3-х років включено 18 (90,00%) дівчат та 2 (10,00%) хлопці. Активність 0–1 ст. була у 4 (20,00%), 2 ст. – у 2 (10,00%), 3 ст. – у 10 (50,00%), 4 ст. – у 4 (20,00%) дітей.

The group of patients with a disease duration of less than 3 years included 23 (88.46%) girls and 3 (11.54%) boys. According to the degree of disease activity, the children were distributed as follows: activity grade 0–1 in 3 (11.54%), grade 2 in 7 (26.92%), grade 3 in 10 (38.46%), and grade 4 in 6 (23.08%) patients.

The group of patients with a disease duration of more than 3 years consisted of 18 (90.00%) girls and 2 (10.00%) boys. Disease activity of grade 0–1 was observed in 4 (20.00%), grade 2 in 2 (10.00%), grade 3 in 10 (50.00%), and grade 4 in 4 (20.00%) children.

Таблиця 7. Морфофункціональні показники лівого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням тривалості захворювання, (М ± m)
Table 7. Morphofunctional parameters of the left ventricle in children with systemic lupus erythematosus, considering disease duration, (M ± m)

Показники / Indicator	Група контролю / Control group	Пацієнти з тривалістю СЧВ до 3-х років / Patients with SLE duration of up to 3 years	Пацієнти з тривалістю СЧВ більше 3-х років / Patients with SLE duration of more than 3 years
	n = 30	n = 26	n = 20
Вік, роки / Age, years	14,53 ± 0,38	13,88 ± 0,52	13,56 ± 0,52
ЧСС, уд/хв / HR, bpm	72,87 ± 2,44	81,65 ± 2,32	78,48 ± 2,62
ДА, см / AoD, cm	2,49 ± 0,03	2,48 ± 0,06	2,43 ± 0,05
ДЛП, см / LAD, cm	2,42 ± 0,04	2,44 ± 0,04	2,37 ± 0,06
КДРлш, см / LVEDD, cm	4,24 ± 0,08	4,20 ± 0,09	3,88 ± 0,10*, [£]
КДОлш, мл / LVEDV, ml	82,08 ± 3,83	83,95 ± 4,28	70,11 ± 4,82*, [£]
КСРлш, см / LVESD, cm	2,65 ± 0,05	2,63 ± 0,07	2,57 ± 0,09
КСОлш, мл / LVEDV, ml	25,89 ± 1,38	30,27 ± 2,96	24,66 ± 2,29
ТМзс, см / LVPWT, cm	0,66 ± 0,01	0,71 ± 0,02	0,70 ± 0,03
ТМШП, см / IVST, cm	0,69 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,72 ± 0,02
ММлш, г / LVMM, g	87,27 ± 4,28	93,49 ± 5,41	82,12 ± 6,68
ФВлш, % / LVEF, %	68,24 ± 1,00	67,60 ± 1,00	65,19 ± 1,27
УОлш, мл / LVSV, ml	56,10 ± 2,89	52,27 ± 2,69	45,26 ± 2,34*, [£]
ХОлш, л/хв / LVCO, l/min	4,07 ± 0,26	4,32 ± 0,27	3,49 ± 0,17*, ^{££}
ЗПСО, дин.с.см ⁻⁵ / TPVR, dyn.s.cm ⁻⁵	1170,72 ± 136,00	1665,16 ± 114,02	1995,87 ± 89,57*, [£]

Примітки / Notes:

* $p_t < 0,05$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ з тривалістю більше 3-х років захворювання в порівнянні з дітьми групи контролю; [£] $p_t < 0,05$, ^{££} $p_t < 0,01$ – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із СЧВ з тривалістю більше 3-х років захворювання в порівнянні з групою дітей, які хворіють менше.
* $p_t < 0,05$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients with a disease duration of more than 3 years compared to control group children; [£] $p_t < 0,05$, ^{££} $p_t < 0,01$ – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients with a disease duration of more than 3 years compared to children with a shorter disease duration.

Таблиця 8. Морфофункціональні показники правого шлуночка серця у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням тривалості захворювання, (М ± m)
Table 8. Morphofunctional parameters of the right ventricle in children with systemic lupus erythematosus, considering disease duration, (M ± m)

Показники / Indicator	Група контролю / Control group	Пацієнти з тривалістю СЧВ до 3-х років / Patients with SLE duration of up to 3 years	Пацієнти з тривалістю СЧВ більше 3-х років / Patients with SLE duration of more than 3 years
	n = 30	n = 26	n = 20
Вік, роки / Age, years	14,53 ± 0,38	13,88 ± 0,52	13,56 ± 0,52
ВТпш, см / RVOT, cm	2,42 ± 0,04	2,37 ± 0,05	2,30 ± 0,06
КДРпш, см / RVEDD, cm	2,04 ± 0,05	2,07 ± 0,07	1,98 ± 0,09
КДОпш, мл / RVEDV, ml	21,74 ± 2,44	36,94 ± 3,06	35,29 ± 2,83п
КСРпш, см / RVESD, cm	1,55 ± 0,06	2,07 ± 0,15	1,91 ± 0,09
КСОпш, мл / RVESV, ml	9,74 ± 1,28	20,65 ± 2,09	19,88 ± 1,87
ТМпш, см / RVPWT, cm	0,42 ± 0,02	0,48 ± 0,01	0,46 ± 0,01
ФВпш, % / RVEF, %	56,82 ± 1,89	47,05 ± 4,33	43,46 ± 2,59
УОпш, мл / RVSV, ml	12,03 ± 1,24	16,29 ± 1,73	15,41 ± 1,33
ХОпш, л/хв / RVCO, l/min	0,89 ± 0,10	1,16 ± 0,19	1,24 ± 0,14
Глк, мм.рт.ст / PGPV, mmHg	3,55 ± 0,40	2,58 ± 0,16	2,36 ± 0,14
Гак, мм.рт.ст / PGAV, mmHg	4,53 ± 0,64	2,43 ± 0,16	2,64 ± 0,15

Таблиця 9. Морфофункціональні показники лівого шлуночка серця
у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням активності захворювання, (M ± m)
Table 9. Morphofunctional parameters of the left ventricle
in children with systemic lupus erythematosus, considering disease activity, (M ± m)

Показники / Indicator	Група контролю / Control group	Розподіл пацієнтів з СЧВ за ступенем активності / Distribution of patients with SLE according to the degree of disease activity			
		ступінь / 0-1 degree	2 ступінь / 2 degree	3 ступінь / 3 degree	4 ступінь / 4 degree
	n = 30	n = 7	n = 9	n = 20	n = 10
Вік, роки / Age, years	14,53 ± 0,38	13,63 ± 0,63	13,36 ± 0,85	13,79 ± 0,60	14,00 ± 0,89
ЧСС, уд/хв / HR, bpm	72,87 ± 2,44	80,71 ± 5,41	76,45 ± 2,84	79,74 ± 2,46	84,50 ± 4,97
ДА, см / AoD, cm	2,49 ± 0,03	2,40 ± 0,05	2,46 ± 0,12	2,43 ± 0,05	2,54 ± 0,10
ДЛП, см / LAD, cm	2,42 ± 0,04	2,39 ± 0,11	2,42 ± 0,09	2,40 ± 0,05	2,42 ± 0,09
КДРлш, см / LVEDD, cm	4,24 ± 0,08	4,17 ± 0,27	4,06 ± 0,11	4,04 ± 0,09	3,93 ± 0,22
КДОлш, мл / LVEDV, ml	82,08 ± 3,83	87,02 ± 14,81	75,77 ± 4,54	72,44 ± 5,09	80,96 ± 7,78
КСРлш, см / LVESD, cm	2,65 ± 0,05	2,77 ± 0,27	2,58 ± 0,11	2,52 ± 0,06	2,68 ± 0,14
КСОлш, мл / LVESV, ml	25,89 ± 1,38	30,86 ± 6,21	27,66 ± 2,70	25,62 ± 3,21	28,05 ± 4,18
ТМзс, см / LVPWT, cm	0,66 ± 0,01	0,73 ± 0,04	0,73 ± 0,05	0,68 ± 0,02	0,71 ± 0,03
ТМШП, см / IVST, cm	0,69 ± 0,02	0,73 ± 0,02	0,77 ± 0,05	0,72 ± 0,02	0,70 ± 0,02
ММлш, г / LVMM, g	87,27 ± 4,28	96,79 ± 16,59	93,56 ± 10,71	84,20 ± 4,76	83,14 ± 10,49
ФВлш, % / LVEF, %	68,24 ± 1,00	64,28 ± 1,85	65,40 ± 1,68	67,65 ± 1,29	66,20 ± 1,93
УОлш, мл / LVSV, ml	56,10 ± 2,89	53,50 ± 6,46	48,42 ± 3,65	46,33 ± 2,40	50,60 ± 4,62
ХОлш, л/хв / LVCO, l/min	4,07 ± 0,26	4,18 ± 0,40	3,66 ± 0,24	3,72 ± 0,23	4,33 ± 0,55
ЗПСО, дин.с.см ⁵ / TPVR, dyn.s.cm ⁵	1170,72 ± 136,00	1738,29 ± 156,57	1801,61 ± 165,35	1905,08 ± 115,23	1786,82 ± 197,55

Таблиця 10. Морфофункціональні показники правого шлуночка серця
у дітей із системним червоним вовчаком з урахуванням активності захворювання, (M ± m)
Table 10. Morphofunctional parameters of the right ventricle
in children with systemic lupus erythematosus, considering disease activity, (M ± m)

Показники / Indicator	Група контролю / Control group	Розподіл пацієнтів з СЧВ за ступенем активності / Distribution of patients with SLE according to the degree of disease activity			
		0–1 ступінь / 0–1 degree	2 ступінь / 2 degree	3 ступінь / 3 degree	4 ступінь / 4 degree
	n = 30	n = 7	n = 9	n = 20	n = 7
Вік, роки / Age, years	14,53 ± 0,38	13,63 ± 0,63	13,63 ± 0,63	13,63 ± 0,63	13,63 ± 0,63
ВТпш, см / RVOT, cm	2,42 ± 0,04	2,37 ± 0,04	2,24 ± 0,08	2,42 ± 0,06**	2,20 ± 0,06
КДРпш, см / RVEDD, cm	2,04 ± 0,05	1,99 ± 0,12	2,02 ± 0,11	2,08 ± 0,10	1,90 ± 0,09
КДОпш, мл / RVEDV, ml	21,74 ± 2,44	35,31 ± 3,55	36,33 ± 5,74	38,32 ± 3,08	30,51 ± 4,68
КСРпш, см / RVESD, cm	1,55 ± 0,06	1,90 ± 0,10	1,90 ± 0,15	2,14 ± 0,15	1,75 ± 0,10
КСОпш, мл / RVESV, ml	9,74 ± 1,28	20,53 ± 2,87	20,54 ± 3,93	21,68 ± 2,07	15,86 ± 2,08
ТМпш, см / RVPWT, cm	0,42 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,45 ± 0,05
ФВпш, % / RVEF, %	56,82 ± 1,89	49,86 ± 8,99	40,84 ± 4,59	44,42 ± 3,46	46,93 ± 3,37
УОпш, мл / RVSV, ml	12,03 ± 1,24	14,78 ± 2,01	15,79 ± 1,85	16,65 ± 1,87	14,65 ± 2,89
ХОпш, л/хв / RVCO, l/min	0,89 ± 0,10	1,15 ± 0,15	1,11 ± 0,12	1,42 ± 0,20	0,82 ± 0,34
Глк, мм.рт.ст / PGPV, mmHg	3,55 ± 0,40	2,14 ± 0,30	2,82 ± 0,16 [‡] *	2,36 ± 0,18	2,41 ± 0,23
Гак, мм.рт.ст / PGAV, mmHg	4,53 ± 0,64	2,64 ± 0,23	2,83 ± 0,22	2,45 ± 0,19	2,41 ± 0,24

Примітки / Notes:

[‡]p_t < 0,05 – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із 0-1 ступенем активності СЧВ в порівнянні з 2 ступенем активності;

*p_t < 0,05 – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із 3 ступенем активності СЧВ в порівнянні з 2 ступенем активності;

**p_t < 0,01 – вірогідність відмінностей морфофункціональних показників серця пацієнтів із 3 ступенем активності СЧВ в порівнянні з 4 ступенем активності.

[‡]p_t < 0,05 – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients with activity grade 0–1 compared to grade 2;

*p_t < 0,05 – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients with activity grade 3 compared to grade 2;

**p_t < 0,01 – significance of differences in morphofunctional cardiac parameters in SLE patients with activity grade 3 compared to grade 4.

У пацієнтів із СЧВ зі збільшенням тривалості хвороби (більше 3-х років), відбуваються зміни морфофункціональних показників серця, які свідчать про розвиток діастолічної дисфункції міокарда лівого шлуночка серця: вірогідне збільшення кінцево-діастолічного розміру ($p_t < 0,05$) та об'єму ($p_t < 0,05$) з паралельним збільшенням ударного ($p_t < 0,05$) та хвилинного ($p_t < 0,01$) об'ємів цієї порожнини. Це відбувалось на тлі підвищення загального периферичного опору судин ($p_t < 0,05$). Зміни з боку показників правого шлуночка серця характеризуються збільшенням КДО і КСО та значним зниженням ФВ. Ці явища поступово зростають в процесі подовження терміну захворювання (табл. 7, 8).

При аналізі показників серця залежно від ступеня активності СЧВ вірогідних відмінностей між групами пацієнтів не виявлено (табл. 9, 10).

Кореляційний аналіз виявив вірогідні зв'язки між ступенем активності СЧВ за шкалою SLEDAI та окремими показниками серця, а саме: частотою серцевих скорочень ($r = 0,49$, $p < 0,05$), масою міокарда лівого шлуночка ($r = -0,55$, $p < 0,02$), кінцево-сistolічним розміром ($r = -0,48$, $p < 0,05$) та кінцево-сistolічним об'ємом лівого шлуночка ($r = -0,51$, $p < 0,04$), а також кінцево-діастолічним розміром лівого шлуночка ($r = -0,52$, $p < 0,03$). Ці дані свідчать про залежність між активністю захворювання і процесами ремоделювання міокарда та його функціональними можливостями.

ОБГОВОРЕННЯ

У багатьох епідеміологічних дослідженнях показано, що смертність від кардіоваскулярних катастроф у пацієнтів із СЧВ займає провідну позицію та вища ніж у загальній популяції в 2–3 рази [1, 18, 19]. Серед таких причин найчастіше зустрічаються інфаркт міокарда, гострий коронарний синдром, серцева недостатність, інсульт [2, 19].

Згідно з кардіоваскулярним континуумом, який був запропонований в 1991 році групою американських вчених під керівництвом V. Dzau та E. Braunwald, в основі смерті від кардіоваскулярної події лежить низка модифікованих та не модифікованих факторів ризику [20]. Тривале збереження активності аутоімунного процесу у хворих на СЧВ сприяє апоптозу кардіоміоцитів, розвитку фіброзу, ремоделюванню міокарда та клінічним проявам серцевої недостатності [21]. Необхідно враховувати також побічні ефекти тривалої імуносупресивної терапії, які створюють умови для розвитку дисліпопропротеїдемії з подальшим формуванням атеросклерозу та атеротромбозу судин, ішемії міокарда [21, 22].

В дослідженнях у дорослих, хворих на ревматичні захворювання, показано, що при тривалості хвороби більш ніж чотири з половиною роки з'являються ознаки формування дисфункції міокарда [23, 24]. Перш за все про це свідчить поступове збільшення кінцево-діастолічного, кінцево-сistolічного розмірів та об'ємів лівого шлуночка. Фракція викиду при цьому залишається збереженою тривалий період [23, 25]. В цих дослідженнях акцент зроблено на морфофункціональний стан міокарда лише лівого шлуночка серця, правий шлуночок не досліджувався.

In patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and longer disease duration (more than 3 years), alterations in cardiac morphofunctional parameters indicate the development of left ventricular diastolic dysfunction. This is evidenced by a significant increase in the left ventricular end-diastolic diameter ($p_t < 0.05$) and end-diastolic volume ($p_t < 0.05$), accompanied by a parallel rise in stroke volume ($p_t < 0.05$) and cardiac output ($p_t < 0.01$), occurring alongside an increase in total peripheral vascular resistance ($p_t < 0.05$).

Changes in the right ventricular parameters were characterized by an increase in end-diastolic and end-systolic volumes, as well as a marked reduction in ejection fraction. These alterations tended to progress with the increasing duration of the disease (Tables 7, 8).

Analysis of cardiac parameters according to the degree of SLE activity revealed no statistically significant differences between the groups of patients (Tables 9, 10).

Correlation analysis demonstrated significant relationships between the SLEDAI activity score and several cardiac parameters, namely: heart rate ($r = 0.49$, $p < 0.05$), left ventricular myocardial mass ($r = -0.55$, $p < 0.02$), end-systolic diameter ($r = -0.48$, $p < 0.05$), end-systolic volume ($r = -0.51$, $p < 0.04$), and end-diastolic diameter ($r = -0.52$, $p < 0.03$). These findings indicate a relationship between disease activity and myocardial remodeling processes, as well as its functional capacity.

DISCUSSION

Numerous epidemiological studies have demonstrated that cardiovascular mortality occupies a leading position among patients with systemic lupus erythematosus (SLE), being two to three times higher than in the general population [1, 18, 19]. The most frequent causes include myocardial infarction, acute coronary syndrome, heart failure, and stroke [2, 19].

According to the concept of the cardiovascular continuum proposed in 1991 by V. Dzau and E. Braunwald, death from a cardiovascular event results from the combined impact of modifiable and non-modifiable risk factors [20]. Persistent activity of the autoimmune process in patients with SLE promotes cardiomyocyte apoptosis, fibrosis development, myocardial remodeling, and clinical manifestations of heart failure [21]. The adverse effects of long-term immunosuppressive therapy should also be considered, as they contribute to the development of dyslipoproteinemia, followed by atherosclerosis, atherothrombosis, and myocardial ischemia [21, 22].

Studies in adults with rheumatic diseases have shown that myocardial dysfunction develops after approximately four and a half years of disease duration [23, 24]. This is primarily evidenced by a gradual increase in left ventricular end-diastolic and end-systolic dimensions and volumes, while the ejection fraction remains preserved for a prolonged period [23, 25]. These investigations, however, focused only on the morphofunctional state of the left ventricle, without evaluation of the right ventricular function.

In the present study, among children with SLE, early signs of left ventricular diastolic dysfunction were identified (a decrease in LVEDd and LVEDV; $p_t < 0.05$),

В проведеному дослідженні у дітей із СЧВ з боку лівого шлуночка серця виявлено, перш за все, ознаки формування його діастолічної дисфункції (зменшення КДР, КДО; $p_t < 0,05$), що призводить до зменшення ударного об'єму, яке значно наростає при збільшенні терміну захворювання (більше 3-х років).

Разом із тим, більш вагомі зміни морфофункціонального стану серця виявлено з боку правого шлуночка, а саме: розвиток діастолічної дисфункції (збільшення КДО; ($p_t < 0,001$)), зниження систолічної функції зі збільшенням кінцево-систолічного розміру та об'єму ($p_t < 0,001$), що супроводжується вірогідним збільшенням ударного та хвилинного об'ємів ($p_t < 0,05$), істотним зниженням фракції викиду ($p_t < 0,001$). Ці явища також поступово зростають у дітей зі збільшенням тривалості захворювання (понад 3 роки).

Закон Франка-Старлінга говорить, що сила скорочення міокарда відповідає довжині кардіоміоцитів. Ця фаза компенсаторної реакції є короткочасною та відбувається на доклінічній стадії розвитку хронічної серцевої недостатності [26–30]. Враховуючи ці дані, можна припустити, що у дітей із СЧВ мають місце ранні ознаки формування дисфункції міокарда з розвитком дилатації порожнин як лівого, так і правого шлуночків серця.

Зміни з боку лівого шлуночка серця більш характерними були для юнаків і свідчили про ранні ознаки формування діастолічної дисфункції (збільшення КДРлш $p_t < 0,05$, та КДОлш $p_t < 0,05$). Зміни з боку правого шлуночка не залежали від статі пацієнтів, ($p_t < 0,001$). Аналіз показників з урахуванням віку показав, що найбільш вагомими зміни були з боку правого шлуночка в обох групах пацієнтів, а саме виявлено ознаки як систолічної (КСРпш $p_t < 0,01$, КСОпш $p_t < 0,001$, ФВпш $p_t < 0,001$), так і діастолічної (КДОпш $p_t < 0,01$) дисфункції цієї порожнини.

В останніх рекомендаціях американських та європейських спеціалістів показано, що функціональна здатність лівого та правого шлуночків серця майже однакова, хоча правий має тоншу стінку та вдвічі менший за розміром [12, 17, 18]. Про систолічну дисфункцію відповідної порожнини тяжкого ступеня говорять при ФВлш менше 30% та ФВпш менше 45% [17].

У нашому дослідженні функціональна здатність міокарда лівого шлуночка в обох категоріях пацієнтів залишалась у межах вікової норми, а правого знижувалась ($p_t < 0,001$) як у хлопців, так і у дівчат в обох вікових категоріях та, особливо, при більш тривалому терміні захворювання. У 19,56% (9) пацієнтів із СЧВ ФВпш була нижче 45%. В цю групу увійшли особи переважно жіночої статі (7 пацієнтів) з тривалістю хвороби більше п'яти років.

При аналізі показників, з урахуванням тривалості хвороби, встановлено, що систолічна функція ЛШ залишалась збереженою (ФВ) не залежно від тривалості процесу, але УО поступово знижувався і зростали показники ЗПСО, особливо у дітей із тривалим стажем хвороби, що свідчить про перебування гемодинаміки в цілому (табл. 7).

З боку правого шлуночка серця відбувалось суттєве поступове підвищення КДО і КСО та зниження

which led to a reduction in stroke volume, becoming more pronounced with longer disease duration (over three years).

At the same time, more pronounced changes in the morphofunctional state of the heart were detected on the part of the right ventricle, namely: the development of diastolic dysfunction (an increase in end-diastolic volume; $p < 0.001$), a decrease in systolic function with an increase in end-systolic dimension and volume ($p < 0.001$), which is accompanied by a significant increase in stroke volume and cardiac output ($p < 0.05$), as well as a marked reduction in ejection fraction ($p < 0.001$). These changes also progressively increase in children with longer disease duration (more than 3 years).

According to the Frank–Starling mechanism, the force of myocardial contraction corresponds to the length of cardiomyocytes. This compensatory phase is transient and occurs at the preclinical stage of chronic heart failure development [26–30]. Considering these data, it can be assumed that children with SLE exhibit early manifestations of myocardial dysfunction accompanied by dilation of both left and right ventricular chambers.

Alterations in the left ventricle were more pronounced in male patients, indicating early signs of diastolic dysfunction (increased LVEDd $p_t < 0.05$ and LVEDV $p_t < 0.05$). Changes in the right ventricle were independent of sex ($p_t < 0.001$). Age-related analysis demonstrated that the most significant changes occurred in the right ventricle in both patient groups, showing signs of both systolic (RVESd $p_t < 0.01$, RVESV $p_t < 0.001$, RVEF $p_t < 0.001$) and diastolic (RVEDV $p_t < 0.01$) dysfunction.

Recent recommendations from American and European experts indicate that the functional capacities of the left and right ventricles are nearly equivalent, although the right ventricle has a thinner wall and approximately half the size of the left [12, 17, 18]. Severe systolic dysfunction is defined as LVEF $< 30\%$ and RVEF $< 45\%$ [17].

In our study, left ventricular function remained within age-appropriate limits in both patient groups, while right ventricular function was significantly reduced ($pt < 0.001$) in both boys and girls, especially in patients with a longer disease duration. In 19.56% (9) of SLE patients, RVEF was below 45%, predominantly in females (7 patients) with disease duration exceeding five years.

Analysis of cardiac indices with respect to disease duration showed that left ventricular systolic function (EF) remained preserved regardless of disease length; however, stroke volume gradually decreased while total peripheral vascular resistance (TPVR) increased, particularly in patients with longer disease duration, indicating global hemodynamic remodeling (Table 7).

Regarding the right ventricle, a progressive increase in RVEDV and RVESV and a decline in RVEF to $43.46 \pm 2.59\%$ were observed in children with disease duration longer than three years.

No significant differences in morphofunctional indices were found depending on the degree of disease activity. Alongside systolic and diastolic dysfunction, systemic hemodynamic disturbances were also detected, characterized by a significant increase in total peripheral vascular resistance accompanied by reduced pressure gradients across the aortic and pulmonary valves.

ФВ до $43,46 \pm 2,59\%$ у дітей із тривалим, більше 3-х років, захворюванням.

При аналізі морфофункціональних показників в залежності від ступеня активності процесу істотних відмінностей не отримано.

На тлі порушень систолічної та діастолічної функції серця встановлено також системні гемодинамічні порушення у вигляді істотного підвищення загального периферичного судинного опору з паралельним зменшенням градієнтів тиску на аортальному та легенево-му клапанах.

Таким чином, у дітей з системним червоним вовчаком встановлено ранні ознаки формування систолічної і діастолічної дисфункції міокарда та перебудови загальної гемодинаміки. Ці зміни найбільш виражені в міокарді правого шлуночка серця і потребують динамічного спостереження і заходів попередження їх прогресування.

ВИСНОВКИ

У дітей із системним червоним вовчаком виявлено ранні ознаки формування систолічної та діастолічної дисфункції міокарда, з більш вираженими проявами з боку правого шлуночка серця.

Встановлено прогресування систолічної дисфункції міокарда лівого та особливо правого шлуночків серця на тлі збільшення тривалості захворювання.

Процеси ремоделювання міокарда та його функціональні можливості не залежали від ступеня активності системного червоного вовчака.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Alghareeb R., Hussain A., Maheshwari M. V., et al. Cardiovascular Complications in Systemic Lupus Erythematosus. *Cureus*. 2022. №14 (7). P. e26671. DOI: <http://doi.org/10.7759/cureus.26671>
2. McMahon M., Seto R., Skaggs B. J. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology and Immunology Research*. 2021. №2 (3). P. 157–172. DOI: <http://doi.org/10.2478/rir-2021-0022>
3. Urowitz M. B., Bookman A. A., Koehler B. E., et al. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *American Journal of Medicine*. 1976. № 60 (2). P. 221–225. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(76\)90431-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(76)90431-9)
4. Wong C. Y., Ma B. M. Y., Zhang D., et al. Cardiovascular risk factors and complications in patients with systemic lupus erythematosus with and without nephritis: a systematic review and meta-analysis: *Lupus Science & Medicine*. 2024. №11 (1). P. 11:e001152. DOI: <https://doi.org/10.1136/lupus-2024-001152>
5. Ciurtin C., Robinson G., Butt M., et al. Cardiovascular risk in young people with childhood onset systemic lupus erythematosus. *The Lancet Rheumatology*. 2024. №6 (5). P. e258–e263. DOI: [http://doi.org/10.1016/S2665-9913\(24\)00085-7](http://doi.org/10.1016/S2665-9913(24)00085-7)
6. Aringer M., Costenbader K., Daikh D., et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*. 2019. №71 (9). P. 1400–1412. DOI: <http://doi.org/10.1002/art.40930>
7. Julkunen H. Настанова 00446. Системний червоний вовчак (СЧВ). Міністерство охорони здоров'я України. 2017. URL: <https://guidelines.moz.gov.ua/documents/3299>
8. Sheikh-Hosseini M., Goodarzi P., Aghayan H. R., et al. Principles of Good Laboratory Practice (GLP). *Biomedical Product Development: Bench to Bedside*. 2020. P. 17–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-35626-2_3
9. Laboratory biosafety manual, 3rd edition. *World Health Organization*. 2004. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9241546506>
10. Про затвердження Критеріїв оцінювання фізичного розвитку дітей віком до 18 років. Міністерство охорони здоров'я України. Наказ №1590. 13.09.2024. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1459-24#n1>

Thus, in children with systemic lupus erythematosus, early signs of systolic and diastolic myocardial dysfunction and general hemodynamic remodeling were identified. These changes were most pronounced in the right ventricular myocardium, necessitating dynamic observation and preventive interventions to limit their progression.

CONCLUSIONS

In children with systemic lupus erythematosus, early manifestations of systolic and diastolic myocardial dysfunction were identified, with more pronounced involvement of the right ventricle.

Progressive systolic dysfunction of both the left and, particularly, the right ventricular myocardium was established in association with longer disease duration.

Myocardial remodeling processes and functional performance were not dependent on the degree of systemic lupus erythematosus activity.

REFERENCES

1. Alghareeb R., Hussain A., Maheshwari MV., Khalid N., Patel PD. Cardiovascular Complications in Systemic Lupus Erythematosus. *Cureus*. 2022;14(7):e26671. DOI: <http://doi.org/10.7759/cureus.26671>
2. McMahon M., Seto R., Skaggs BJ. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology and Immunology Research*. 2021;2(3):157–72. DOI: <http://doi.org/10.2478/rir-2021-0022>
3. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA, et al. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *American Journal of Medicine*. 1976;60(2):221–5. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(76\)90431-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(76)90431-9)
4. Wong CY, Ma BMY, Zhang D, Cheung W, Chan TM, Yap DYH. Cardiovascular risk factors and complications in patients with systemic lupus erythematosus with and without nephritis: a systematic review and meta-analysis: *Lupus Science & Medicine*. 2024;11(1):11:e001152. DOI: <https://doi.org/10.1136/lupus-2024-001152>
5. Ciurtin C, Robinson G, Butt M, Peng J, Ardoin S, Schanberg L, et al. Cardiovascular risk in young people with childhood onset systemic lupus erythematosus. *The Lancet Rheumatology*. 2024;6(5):e258–e63. DOI: [http://doi.org/10.1016/S2665-9913\(24\)00085-7](http://doi.org/10.1016/S2665-9913(24)00085-7)
6. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*. 2019;71(9):1400–12. DOI: <http://doi.org/10.1002/art.40930>
7. Julkunen N. Guideline 00446. Systemic Lupus Erythematosus (SLE). Ministry of Health of Ukraine. 2017. (In Ukrainian). URL: <https://guidelines.moz.gov.ua/documents/3299>
8. Sheikh-Hosseini M, Goodarzi P, Aghayan HR, Gilany K, Ghaderi F, Gholami M, et al. Principles of Good Laboratory Practice (GLP). *Biomedical Product Development: Bench to Bedside*. 2020:17–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-35626-2_3
9. Laboratory biosafety manual, 3rd edition. *World Health Organization*. 2004. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9241546506>
10. On the Approval of the Criteria for Assessing the Physical Development of Children up to 18 Years Old. Ministry of Health of Ukraine. Order № 1590. 13.09.2024. (In Ukrainian). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1459-24#n1>

11. Rak L. I., Eshchenko A. V., Kashina-Yarmak V. L., et al. Функціональна діагностика у дітей підліткового віку. Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків національної академії медичних наук України». 2023. URL: https://drive.google.com/file/d/1K52bMsE2AM067FzT7RT_4RlZCalvJjyE/view
12. Mukherjee M., Rudski L. G., Addetia K., et al. Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults and Special Considerations in Pulmonary Hypertension: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2025. №38 (3). P. 141–186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.echo.2025.01.006>
13. Del Castillo S., Shaddy R. E., Kantor P. F. Update on pediatric heart failure. *Current Opinion in Pediatrics*. 2019. №31 (5). P. 598–603. DOI: <https://doi.org/10.1097/mop.0000000000000807>
14. Lang R. M., Badano L. P., Mor-Avi V., et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2015. №28 (1). P. 1–39.e14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
15. Walters S. J., Campbell M. J., Machin D. Medical Statistics: A Textbook for the Health Sciences. 5th ed. Wiley-Blackwell. 2021. ISBN: 978-1-119-42364-5
16. Мулик О. В., Пригалинська Т. Г., Свистун-Золотаренко Л. О. Біостатистика засобами MS Excel. 2023. Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». 2023. №1. URL: <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/57312>
17. Otto C. M., Nishimura R. A., Bonow R. O., et al. 2020 ACC/AHA Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2021. №143 (5). P. e72–e227. DOI: <http://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000923>
18. Chen M., Lee W. H., Lu C. H., et al. 2025 Expert Consensus Recommendations for the Diagnostic Requirements in Routine Practices of Transthoracic Echocardiography. *Acta Cardiologica Sinica*. 2025. №41 (1). P. 1–49. DOI: [http://doi.org/10.6515/ACS.202501_41\(1\).20240722C](http://doi.org/10.6515/ACS.202501_41(1).20240722C)
19. Roth G. A., Mensah G. A., Johnson C. O., et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study. *JACC Journal*. 2020. №76 (25). P. 2982–3021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.010>
20. Mesquita E. T., Demarchi A. V., Bitencourt D. S., et al. Cardiovascular Continuum 25 years – The Evolution of an Etiopathophysiology Model. *International Journal of Cardiovascular Sciences*. 2016. №29 (1). P. 56–64. DOI: <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20160002>
21. Semalulu T., Tago A., Zhao K., et al. Managing Cardiovascular Risk in Systemic Lupus Erythematosus: Considerations for the Clinician. *ImmunoTargets and Therapy*. 2023. №8 (12). P. 175–186. DOI: <http://doi.org/10.2147/ITT.S377076>
22. Svenungsson E., Jensen-Ustad K., Heimbürger M., et al. Risk Factors for Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus. *Circulation*. 2001. №104 (16). P. 1887–1893. DOI: <http://doi.org/10.1161/hc4101.097518>
23. Løgstrup B. B., Ellingsen T., Pedersen A. B., et al. Development of heart failure in patients with rheumatoid arthritis: A Danish population-based study. *The European Journal of Clinical Investigation*. 2018. №48 (5) P. e12915. DOI: <https://doi.org/10.1111/eci.12915>
24. Kawano Y., Weber B. N., Weisenfeld D., et al. Risk of Incident Heart Failure and Heart Failure Subtypes in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care & Research*. 2025. №77 (5). P. 631–639. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.25481>
25. MacDonald B., Tarca A., Causer L., et al. Left ventricular remodelling in rheumatic heart disease – trends over time and implications for follow-up in childhood. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2023. №23 (462). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12872-023-03497-0>
26. Zhou Z., Huang Y., Han L., et al. Right ventricular dilatation score: a new assessment to right ventricular dilatation in adult patients with repaired tetralogy of Fallot. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2023. №23 (458). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12872-023-03487-2>
27. Starling E. H., Visscher M. B. The regulation of the energy output of the heart. *The Journal of Physiology*. 1927. №62 (3). P. 243–261. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1927.sp002355>
28. Головкин Т. О., Шевченко Н. С., Богмат Л. Ф., та ін. Морфофункціональні особливості серця у підлітків з ювенільним ідіопатичним артритом на тлі тривалого лікування. *Сучасна педіатрія*. 2022. №7 (127). P. 6–14. DOI: <https://doi.org/10.15574/SP.2022.127.6>
11. Rak LI, Yeshchenko AV, Kashina-Yarmak VL, Muzhanovsky VYu. Functional Diagnostics in Adolescents. *State Institution «Institute of Child and Adolescent Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»*. 2023. (In Ukrainian). URL: https://drive.google.com/file/d/1K52bMsE2AM067FzT7RT_4RlZCalvJjyE/view
12. Mukherjee M, Rudski LG, Addetia K, Afilalo J, D'Alto M, Addetia K, et al. Guidelines for the Echocardiographic Assessment of the Right Heart in Adults and Special Considerations in Pulmonary Hypertension: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2025;38(3):141–86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.echo.2025.01.006>
13. Del Castillo S, Shaddy RE, Kantor PF. Update on pediatric heart failure. *Current Opinion in Pediatrics*. 2019;31(5):598–603. DOI: <https://doi.org/10.1097/mop.0000000000000807>
14. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2015;28(1):1–39.e14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
15. Walters SJ, Campbell MJ, Machin D. Medical Statistics: A Textbook for the Health Sciences. 5th ed. Wiley-Blackwell. 2021. ISBN: 978-1-119-42364-5
16. Mulik OV, Prigalinska TH, Svyistun-Zolotareno LO. Biostatistics Using MS Excel. *National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»*. 2023;1. (In Ukrainian). URL: <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/57312>
17. Otto CM, Nishimura RA, Bonow RO, Carabello BA, Erwin III JP, Gentile F, et al. 2020 ACC/AHA Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2021;143(5):e72–e227. DOI: <http://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000923>
18. Chen M, Lee WH, Lu CH, Chang HC, Tung CC, Siow YY, et al. 2025 Expert Consensus Recommendations for the Diagnostic Requirements in Routine Practices of Transthoracic Echocardiography. *Acta Cardiologica Sinica*. 2025;41(1):1–49. DOI: [http://doi.org/10.6515/ACS.202501_41\(1\).20240722C](http://doi.org/10.6515/ACS.202501_41(1).20240722C)
19. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study. *JACC Journal*. 2020;76(25):2982–3021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.010>
20. Mesquita ET, Demarchi AV, Bitencourt DS, de Azevedo Machado PE, Badran PM, de Almeida PRG, et al. Cardiovascular Continuum 25 years – The Evolution of an Etiopathophysiology Model. *International Journal of Cardiovascular Sciences*. 2016;29(1):56–64. DOI: <https://doi.org/10.5935/2359-4802.20160002>
21. Semalulu T, Tago A, Zhao K, Tselios K. Managing Cardiovascular Risk in Systemic Lupus Erythematosus: Considerations for the Clinician. *ImmunoTargets and Therapy*. 2023;8(12):175–86. DOI: <http://doi.org/10.2147/ITT.S377076>
22. Svenungsson E, Jensen-Ustad K, Heimbürger M, Silveira A, Hamsten A, de Faire U, et al. Risk Factors for Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus. *Circulation*. 2001;104(16):1887–93. DOI: <https://doi.org/10.1161/hc4101.097518>
23. Løgstrup BB, Ellingsen T, Pedersen AB, Kjærsgaard A, Bøtker HE, Maeng M. Development of heart failure in patients with rheumatoid arthritis: A Danish population-based study. *The European Journal of Clinical Investigation*. 2018;48(5):e12915. DOI: <https://doi.org/10.1111/eci.12915>
24. Kawano Y, Weber BN, Weisenfeld D, Jeffway MI, Cai T, McDermott GC, et al. Risk of Incident Heart Failure and Heart Failure Subtypes in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care & Research*. 2025;77(5):631–9. DOI: <https://doi.org/10.1002/acr.25481>
25. MacDonald B, Tarca A, Causer L, Maslin K, Bruce D, Schreiber-Wood R, et al. Left ventricular remodelling in rheumatic heart disease – trends over time and implications for follow-up in childhood. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2023;23(462). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12872-023-03497-0>
26. Zhou Z, Huang Y, Han L, Zhang Y, Zhao J, Wen S, et al. Right ventricular dilatation score: a new assessment to right ventricular dilatation in adult patients with repaired tetralogy of Fallot. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2023;23(458). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12872-023-03487-2>
27. Starling EH, Visscher MB. The regulation of the energy output of the heart. *The Journal of Physiology*. 1927;62(3):243–61. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1927.sp002355>
28. Holovko TO, Shevchenko NS, Bogmat LF, Nikonova VV, Shtrach KV, Yevdokymova TV. Morphofunctional features of the heart in adolescents with juvenile idiopathic arthritis during long-term treatment. *Modern Pediatrics*. 2022;7(127):6–14. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.15574/SP.2022.127.6>

29. Марушко Є. Ю., Маньковський Г. Б., Кучерява М. В. Роль ішемії міокарда в розвитку серцевої недостатності зі збереженою фракцією викиду в пацієнтів з кардіоренально-метаболічним синдромом. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. 2024. №32 (3). Р. 38–44. DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32\(03\)/MM047-3844](https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32(03)/MM047-3844)
30. Маньковський Г. Б., Марушко Є. Ю., Саєнко Я. А., та ін. Вплив лікування хронічної серцевої недостатності на варіабельність глікемії в пацієнтів без цукрового діабету. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. 2023. №31 (3). Р. 71–77. DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31\(03\)/MM030-7177](https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31(03)/MM030-7177)
29. Marushko YY, Mankovskyi GB, Kucheriava MV. The Role of Myocardial Ischemia in the Course of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction in Patients with Cardiorenal Metabolic Syndrome. *Ukrainian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2024;32(3):38–44. (In Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32\(03\)/MM047-3844](https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32(03)/MM047-3844)
30. Mankovsky GB, Marushko YY, Saienko YA, Zubovych IV, Dzhun YY, Monashenko OO, et al. The Impact of Chronic Heart Failure Treatment on Glycemic Variability in Patients without Diabetes Mellitus. *Ukrainian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2023;31(3):71–7. (In Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31\(03\)/MM030-7177](https://doi.org/10.30702/ujcvs/23.31(03)/MM030-7177)

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Одноцентровий характер не дає підстав для причинних висновків і зберігає ризик селекційного зміщення та залишкової змішувальної дії, попри використання багатфакторних моделей, підбору за схильністю та інших підходів до контролю змішувальних чинників. Розмір і склад вибірки [N = 46; діти 10–18 років хворі на найбільш тяжке ревматичне захворювання – системний червоний вовчак] обмежують точність оцінок і переносимість результатів з огляду на особливості маршрутизації пацієнтів і практик надання допомоги в Україні. Для мінімізації впливів стандартизовано вимірювання, проведено навчання оцінювачів, за можливості застосовано засліплення, виконано аналізи чутливості. Узагальнюваність висновків обмежена контекстом; підтвердження потребує проспективних мультицентрових досліджень, обґрунтованим розрахунком потужності, зовнішньою валідацією та дотриманням Належної клінічної практики (Good Clinical Practice – GCP).

Limitations of the study

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the presented study has limitations обумовлені its design and implementation. The single-center nature does not allow causal inferences and preserves the risk of selection bias and residual confounding, despite the use of multivariable models, propensity score matching, and other approaches to control confounding factors. The size and composition of the sample [N = 46; children aged 10–18 years with the most severe rheumatic disease – systemic lupus erythematosus] limit the precision of estimates and the transferability of the results, given the specifics of patient referral pathways and healthcare delivery practices in Ukraine. To minimize these effects, measurements were standardized, assessors were trained, blinding was applied where feasible, and sensitivity analyses were performed. The generalizability of the conclusions is limited by the context; confirmation requires prospective multicenter studies with a justified power calculation, external validation, and adherence to Good Clinical Practice (GCP).

Перспективи подальших досліджень

Дослідження функції нирок у пацієнтів з системним червоним вовчаком для аналізу кардіоренальних взаємозв'язків та встановлення ймовірної причини формування дисфункції міокарда.

Prospects for further research

Future research should focus on assessing renal function in patients with systemic lupus erythematosus to analyze cardiorenal interrelations and identify potential mechanisms underlying the development of myocardial dysfunction.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Conflicts of interest

Authors have no conflict of interest to declare.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження було проведено згідно з принципами Гельсінської декларації прав людини (1948 р.), відповідно етичним та морально-правовим вимогам Статусу Української асоціації з біоетики та нормам GCP (1992 р.), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини (1997 р.), з урахуванням вимог закону України «Про лікарські засоби» (1996, ст. 7; 8; 12), положень GLP (1998 р.), ICH GCP (2008). Макет дослідження та використання біологічного матеріалу людини було затверджено Етичною комісією Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» (м. Харків), а письмова інформована згода була отримана відповідно до Декларації Гельсінкі (Протокол № 2 від 26.02.2024 р.).

Compliance with Ethical Standards

The authors of this manuscript hereby explicitly certify that the study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki on Human Rights (1948), the ethical and legal requirements of the Statute of the Ukrainian Association of Bioethics, and the standards of GCP (1992), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1997), taking into account the provisions of the Law of Ukraine «On Medicinal Products» (1996, Articles 7, 8, 12), as well as the GLP (1998) and ICH GCP (2008) guidelines. The study design and the use of human biological material were approved by the Ethics Committee of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», (Kharkiv), and written informed consent was obtained in accordance with the Declaration of Helsinki (Protocol No. 2, 26.02.2024).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного

Use of Artificial Intelligence

The authors of this manuscript explicitly certify that no tools or services of generative artificial intelligence (AI) were used during the conduct of the study or in the preparation of this

інтелекту (ШІ) для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами дослідження.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, результати ультразвукового дослідження камер серця, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Головко Тетяна Олексіївна – кандидат медичних наук, завідувачка відділення ревматології та коморбідних станів Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»; 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: golovko@karazin.ua

моб.: +38 (066) 294-37-72

Внесок автора: статистична обробка інформації, написання статті.

Богмат Людмила Феодосіївна – доктор медичних наук, професор, головний науковий співробітник відділення ревматології та коморбідних станів Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»; просп. Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61158;

e-mail: bogmatLF@gmail.com

моб.: +38 (067) 978-26-43

Внесок автора: написання та редагування статті, остаточне затвердження.

Шевченко Наталя Станіславівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедрою педіатрії Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; ведучий науковий співробітник відділення ревматології та коморбідних станів Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України, просп. Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61158.

e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua

моб.: +38 (050) 902-59-71

Внесок автора: обробка та аналіз інформації, написання та редагування статті.

Ніконова Вікторія Вадимівна – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник відділення ревматології та коморбідних станів Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»; просп. Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61158;

e-mail: viktoriaavn@gmail.com

моб.: +38 (050) 982-64-96

manuscript for any of the tasks listed in the Generative AI Task Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed exclusively by the study authors without the involvement of generative AI.

Primary Data and Materials

The authors of this manuscript explicitly certify that the work is based on the results of their own clinical studies, which were systematically collected and analyzed by the authors. Primary data include aggregated patient indicators, echocardiographic results of heart chambers, protocols, and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the research group archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, subject to confidentiality and ethical standards.

Funding Information

The study was funded by the State Budget of Ukraine.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Holovko Tetiana Oleksiivna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Rheumatology and Comorbid Conditions of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Associate Professor at 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: golovko@karazin.ua

tel.: +38 (066) 294-37-72

Author contribution: statistical data processing, manuscript writing.

Bohmat Liudmyla Feodosiivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Department of Rheumatology and Comorbid Conditions of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 52a Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61158;

e-mail: bogmatLF@gmail.com

tel.: +38 (067) 978-26-43

Author contribution: manuscript writing and editing, final approval of the article.

Shevchenko Natalia Stanislavivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pediatrics, V.N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; Leading Researcher of the Department of Rheumatology and Comorbid Conditions, State Institution «Institute for the Protection of Children's and Adolescents' Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 52a Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61158;

e-mail: natalia.shevchenko@karazin.ua

tel.: +38 (050) 902-59-71

Author contribution: data processing and analysis, manuscript writing and editing.

Nikonova Viktoriia Vadymivna – Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Department of Rheumatology and Comorbid Conditions of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 52a Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61158;

e-mail: viktoriaavn@gmail.com

tel.: +38 (050) 982-64-96

Внесок автора: проведення обстеження пацієнтів, підбір літературних джерел за темою роботи.

Author contribution: patient examination, literature review on the research topic.

Бессонова Ірина Миколаївна – кандидат медичних наук, лікар-кардіоревматолог дитячого відділення кардіоревматології Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»; проспект Ювілейний, буд. 52а, м. Харків, Україна, 61158;

e-mail: irina_bessonova@yahoo.com

моб.: +38 (050) 254-76-01

Внесок автора: відбір пацієнтів в рамках досліджуваної проблеми, обстеження та лікування хворих, обробка та аналіз інформації.

Iryna Mykolaivna Bessonova – Candidate of Medical Sciences, Pediatric Cardiorheumatologist, Department of Cardiorheumatology of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 52a Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61158;

e-mail: irina_bessonova@yahoo.com

tel.: +38 (050) 254-76-01

Author contribution: patient selection within the study, examination and treatment of patients, data processing and analysis.

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 28.08.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 02.10.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-07>
УДК: 618.36-008.6:618.38-021.3]-073-085.835.3



Використання гіпербаричної оксигенації в лікуванні плацентарної недостатності

Щербина М.О.,  <https://orcid.org/0000-0003-3605-7204>, e-mail: hnmu_akusherstvo1@ukr.net
Діхтяренко В.О.,  <https://orcid.org/0000-0003-4842-6716>, e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

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

The use of hyperbaric oxygenation in the treatment of placental insufficiency

Shcherbina M.O.,  <https://orcid.org/0000-0003-3605-7204>, e-mail: hnmu_akusherstvo1@ukr.net
Dikhtiarenko V.O.,  <https://orcid.org/0000-0003-4842-6716>, e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

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

Ключові слова:

плацентарна недостатність, лікування, гіпербарична оксигенація, загрозовий аборт.

Для кореспонденції:

Діхтяренко Вікторія Олегівна
Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра акушерства та гінекології №1;
просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

© Щербина М.О.,
Діхтяренко В.О., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Плацентарна недостатність – клінічний синдром, що проявляється порушенням стану плода та його розвитку, зумовлений морфофункціональними порушеннями в плаценті. За різними статистичними даними 17–35% вагітних мають дане ускладнення, у 14–17% згодом розвивається синдром затримки розвитку плода.

Мета роботи – визначення доцільності використання гіпербаричної оксигенації в лікуванні плацентарної недостатності.

Матеріали та методи. В рамках даного дослідження було обстежено 105 жінок, які були розподілені на три групи. До контрольної I групи увійшли 40 жінок з фізіологічним перебігом вагітності. 35 жінок з проявами ранньої плацентарної недостатності у вигляді загрозового абортів віднесли до IIa групи, вони отримували традиційне лікування плацентарної недостатності. До групи IIb увійшли 30 жінок з ознаками плацентарної недостатності, яким проводили комплексну терапію з курсами гіпербаричної оксигенації. Всім жінкам проводилась ультразвукова біометрія, доплерометрія в маткових артеріях з визначенням основних показників кровоплину (індекс резистентності, пульсаційний індекс та систоло-діастолічне відношення, вимірювалась товщина плаценти, проводилась еластографія плаценти перед проведенням терапії та через 7–10 днів після лікування).

Результати. Індекс резистентності, пульсаційний індекс та систоло-діастолічне відношення були вищими у жінок з основних груп обстеження, ніж у вагітних із неускладненим перебігом вагітності. Після проведення терапії показники доплерометрії нормалізувались в основних групах дослідження, при чому сильніше зниження пульсаційного індексу, індексу резистентності та систоло-діастолічного відношення відбулось у групі IIb, де застосовувались курси гіпербаричної оксигенації, ніж в групі IIa, де використовувалась тільки стандартна терапія. Показники товщини плаценти були вищими в групах вагітних з ознаками загрозового абортів, ніж в контрольній групі дослідження, при чому після проведення лікування ці показники знизились в групі IIb сильніше, ніж в групі IIa. Щільність плаценти була вищою в групах досліджуваних жінок з ознаками плацентарної недостатності, ніж в контрольній групі. В той же час після проведення лікування показники щільності плаценти знизились як у групі IIa, так і в групі IIb, але у жінок, яким проводились курси гіпербаричної оксигенації зниження було більш значимим. Біпаріетальний розмір голівки плода в контрольній групі був в межах 5–95% у 95% жінок і по 2,5% показники біпаріетальний розмір знаходились відповідно нижче 5% та вище 95%. У групі IIa перед проведенням лікування у двох жінок показники фетометрії були нижчими за 5%, та у однієї – більшими за 95%, що складало 5,7% та 2,85% відповідно, тоді як у IIb групі у 6,7% обстежуваних показники біпаріетального розміру, окружності живота та довжини стегна знаходились в межах менше 5% для даного терміну, а у 3,3% більше 95% для даного терміну вагітності. В той же час через 7–10 днів після проведення терапії в групі IIb з курсами гіпербаричної оксигенації відсоток жінок, у яких показники фетометрії знаходились поза межами 5%, зменшились до 2,85% в IIa групі обстежених жінок, та до 3,3% у групі IIb. Зміни не є дуже

показовими через те, що біометричні показники плода відхиляються від нормативних значень вже тоді, коли плацентарна недостатність є хронічною і тривалою.
Висновки. В ході даного дослідження було виявлено покращення трофічної функції плаценти після лікування. Покращення було більш значимим у групі жінок із плацентарною недостатністю, які крім тривіального звичного лікування даної патології також отримували курси гіпербаричної оксигенації, це можна пояснити тим, що баротерапія є патогенетично обумовленою.

Для цитування:

Щербина М.О., Діхтяренко В.О. Використання гіпербаричної оксигенації в лікуванні плацентарної недостатності. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2025. Т. 33. № 5(56). С. 766–780. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-07>

Keywords:

placental insufficiency, treatment, hyperbaric oxygenation, threatened abortion.

For correspondence:

Dikhtiarenko Viktoriya Olehivna
Kharkiv National Medical University of the
Ministry of Health of Ukraine, Department
of Obstetrics and Gynecology No. 1;
4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

© Shcherbina M.O.,
Dikhtiarenko V.O., 2025

ABSTRACT

Background. Placental insufficiency is a clinical syndrome that causes fetal conditions and developmental disorders, caused by morphological and functional changes in the placenta. According to different statistical data, from 17% to 35% of pregnant women have this complication, and 14–17% patients with placental disorders later manifest in fetal growth restriction.

Purpose – to identify the impact of placental insufficiency complex therapy with the inclusion of hyperbaric oxygenation courses on the trophic function of the placenta.

Materials and methods. Within the framework of this study, 105 women were examined and divided into three groups. The main group consisted of 65 women with signs of threatened abortion, who were divided into group IIa, which received traditional treatment for placental insufficiency (35 women), and 30 women were assigned to group IIb, who underwent complex therapy for placental insufficiency with the addition of hyperbaric oxygenation courses. The control group included 40 women with a physiological course of the disease. All women underwent ultrasound biometry and Dopplerometry in uterine arteries with determination of the main blood flow indicators (Resistance Index, Pulsation Index, and Systolic-Diastolic Ratio, also placental thickness was measured, placental elastography was performed before treatment and 7–10 days after treatment.

Results. Dopplerometry indicators in women from the main examination group were higher than in pregnant women with uncomplicated course of pregnancy. After therapy, Resistance Index, Pulsation Index, and Systolic-Diastolic Ratio normalized in the main study groups, so a stronger decrease occurred in group IIb than in group IIa. Placental thickness indicators were higher in groups of pregnant women with signs of threatened abortion than in control study group. Therefore after treatment Resistance Index, Pulsation Index, and Systolic-Diastolic Ratio decreased in group IIb more than in group IIa. Placenta density was higher in the groups of women with signs of placental insufficiency than in the control group. At the same time, after treatment, placental density indicators decreased in both group IIa and group IIb, but in women who underwent hyperbaric oxygenation courses, the decrease was more significant. The fetal head biparietal diameter in the control group was within 5–95% in 95% of women and in 2.5% the biparietal diameter measurements were within 5% and above 95%, respectively. In group IIa, before treatment, fetometry indicators in 2 women were lower by 5%, and in 1 they were higher by 95%, which amounted to 5.7% and 2.85%, respectively, while in group IIb, in 6.7% of the examined indicators of biparietal diameter, abdominal circumference and FL were within less than 5% for this term, and 3.3% more than 95% for this term. At the same time, 7–10 days after the therapy, the group of patients who underwent courses of hyperbaric oxygenation amounts of fetometry indicators were outside the limits by 5% decreased to 2.85% in the IIa group of examined women, and to 3.3% in the IIb group. The changes are not very indicative due to the fact that the biometric indicators of the fetus respond when placental insufficiency is chronic and longlasting.

Conclusions. In the course of this study, improvements in the trophic function of the placenta after treatment were carried out, they were more significant in the groups of women with placental insufficiency, who, in addition to the trivial usual treatment of this pathology, also received courses of hyperbaric oxygenation, this can be explained by the fact that barotherapy is pathogenetically determined.

For citation:

Shcherbina MO, Dikhtiarenko VO. The use of hyperbaric oxygenation in the treatment of placental insufficiency. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):766–780. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-07>

ВСТУП

Плацентарна недостатність – клінічний синдром, що може виникати під час вагітності, він спричинений морфологічними і функціональними змінами в плаценті, що проявляються затримкою росту плода та можуть призводити до передчасних пологів, народження дітей з малою масою тіла для даного гестаційного віку [1, 2].

Плацентарна недостатність зустрічається в 17–35% випадків вагітностей за даними різних авторів, при цьому у 14–17% жінок з ознаками цього синдрому розвивається затримка росту плода [3].

Патогенез розвитку даного симптомокомплексу широко досліджується, але ще не достатньо визначений. Ініціальними ланками в розвитку плацентарної недостатності є недостатність інвазії трофобласту, патологічні зміни матково-плацентарного кровообігу, порушення фето-плацентарного кровообігу, незрілість ворсинчастого дерева, зниження компенсаторно-приспосувальних механізмів у фетоплацентарному комплексі, ураження плацентарного бар'єру з порушенням його проникності, ендотеліальна дисфункція [4, 5].

Плацентарна дисфункція визначалась у жінок із загрозованим абортom, а також у вагітних зі звичним невиношуванням [6]. Порівняно з нормальною вагітністю, спіральні артерії в міометрії при абортax у більш пізньому терміні (після 14 тижнів) показали значно зменшений ендovasкулярний та інтрамуральний трофобласт, а також менш виражені зміни фібриноїду. Натомість, ендovasкулярний трофобласт у децидуальних спіральних артеріях був значно збільшений [7, 8]. Дані морфологічні зміни трофобласту відзначались також при плацентарній недостатності.

Деякими дослідженнями виявлено зв'язок порушення кровоплину в маткових артеріях вагітних, зміни в щільності тканини плаценти із недостатністю її функцій [9–11]. Особливого значення набули показники ультразвукової фетометрії, як прямі ознаки затримки росту плода та опосередковані для оцінки недостатності трофічної функції плаценти [12].

Вплинути на першопричину розвитку плацентарної недостатності, яка виникає в момент імплантації та інвазії трофобласту, не можливо. Доступна тільки терапія, направлена на компенсацію порушених функцій – транспортної, трофічної, ендокринної, тощо. Існують дослідження, які вивчають вплив фізіотерапії, а саме гіпербаричної оксигенації, на функції плаценти [13, 14]. Під впливом гіпербаричного кисню в організмі нормалізується енергетичний баланс і регулюється функціональна та метаболічна активність клітини, що сприяє підвищенню стійкості організму у відповідь на екстремальний вплив, покращує функції плаценти та полегшує порушення в стані вагітної та плода [15]. Отже, можна зробити висновок, що доцільно включити застосування гіпербаричної оксигенації в комплексне лікування плацентарної недостатності.

Мета роботи – визначення доцільності використання гіпербаричної оксигенації в лікуванні плацентарної недостатності.

INTRODUCTION

Placental insufficiency is a clinical syndrome that can occur during pregnancy, be caused by morphological and functional changes in the placenta, which manifests itself, including, fetal growth restriction and can lead to premature birth, the birth of children with a low weight for a given gestational age, etc. [1, 2].

Placental insufficiency occurs in 17–35% of pregnancies according to various authors, while 14–17% of women with signs of this syndrome develop in fetal growth retardation [3].

The pathogenesis of the development of this symptom complex is widely studied, but has not yet been definitively determined. The initial links in the development of placental insufficiency are the insufficiency of trophoblast invasion, pathological changes in uteroplacental circulation, impaired fetoplacental circulation, immaturity of the villous tree, decreased compensatory and adaptive mechanisms in the fetoplacental complex, damage to the placental barrier with impaired permeability, and endothelial dysfunction [4, 5].

Placental dysfunction has been reported in women with threatened abortion and in those with recurrent miscarriage [6]. Compared with normal pregnancies, spiral arteries in the myometrium of late-term abortions (after 14 weeks) showed significantly reduced endovascular and intramural trophoblast and less fibrinoid changes. In contrast, endovascular trophoblast in decidual spiral arteries was significantly increased [7, 8]. These morphological changes in trophoblast have also been observed in placental insufficiency.

Some studies have revealed a connection between impaired blood flow in the uterine arteries of pregnant women, changes in the density of placental tissue and insufficiency of its functions [9–11]. Ultrasound fetometry indicators have become particularly important as direct signs of fetal growth retardation and indirect indicators for assessing placental trophic function insufficiency [12].

Since the root cause of placental insufficiency that occurs at the time of implantation and trophoblast invasion can not be affected, the condition can only be corrected by compensating for impaired functions – transport, trophic, endocrine, etc. There are studies that discover the effect of physiotherapy, namely hyperbaric oxygenation, on placental functions [13, 14]. Under the influence of hyperbaric oxygen, the energy balance in the body is normalized and the functional and metabolic activity of the cell is regulated, which helps to increase the body's resistance in response to extreme influences, improve placental functions and alleviate disorders in the condition of the pregnant woman and the fetus provoked by them [15]. In this regard, it can be suspected that it is advisable to include the use of hyperbaric oxygenation in the complex treatment of placental insufficiency.

Objective – to identify the impact of placental insufficiency complex therapy with the inclusion of hyperbaric oxygenation courses on the trophic function of the placenta.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Це проспективне когортне дослідження «випадок-контроль», у якому брали участь 105 вагітних жінок в терміні вагітності 16–22 тижні, які знаходились на обліку в жіночій консультації Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласний клінічний перинатальний центр», або проходили стаціонарне лікування у гінекологічному відділенні Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласному клінічному перинатальному центрі». Всі учасниці дослідження були розподілені на три групи. Контрольну групу склали 40 жінок з фізіологічним перебігом вагітності. До групи IIa та IIb увійшли 35 та 30 вагітних відповідно, які мали ознаки ранньої плацентарної недостатності (тягнучий біль внизу живота, мажучі кров'яні виділення зі статевих шляхів) та отримували традиційну терапію, в комплекс лікування IIb групи ще додавались курси гіпербаричної оксигенації (ГБО).

Учасниці дослідження відповідали таким критеріям включення:

- термін вагітності 16–18 тижнів під час першого огляду;
- наявність ознак загрозового аборт (за даними досліджень однією з найбільш частих причин невиношування вагітності є недостатність гормонів, які в цей період починають синтезуватись плацентарною тканиною, що проявляються симптомами загрозового аборт [8];
- розташування плаценти по передній стінці.

Критеріями виключення були: підвищений ризик хромосомних аномалій за результатами першого пренатального скринінгу, наявність хронічної артеріальної гіпертензії (показники доплерометрії маткових артерій будуть не інформативними в даному випадку), діагностована істміко-цервікальна недостатність, наявність лейоміоми матки або аномалій.

Всім обстежуваним жінкам в рамках даного дослідження проводилось ультразвукове дослідження, крім стандартних показників біометрії: біпаріетальний діаметр (БПД), окружність живота (ОЖ), довжина стегнової кістки (ДС) для розрахунку маси плода, проводилась також доплерометрія в маткових артеріях з визначенням основних показників кровоплину (індекс резистентності (ІР), пульсаційний індекс (ПІ) та систоло-діастолічне відношення (СДВ), вимірювалась товщина плаценти, проводилась еластографія плаценти перед проведенням терапії – перший огляд у 16–18 тижнів вагітності, та через 7–10 днів після лікування, в середньому через 3 тижні у 20–22 тижні гестації – повторний огляд. Відповідність показників терміну вагітності проводилась за допомогою стандартних перцентильних таблиць згідно з Fetal Medicine Foundation (табл. 1).

MATERIALS AND METHODS OF THE STUDY

This is a prospective cohort case-control study in which 105 pregnant women participated in the 16th–22nd week of pregnancy, who were registered in the prenatal clinic of the Municipal Non-Profit Enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Clinical Perinatal Center» or underwent inpatient treatment in the gynecological department of the Municipal Non-Profit Enterprise of the Kharkiv Regional Council «Regional Clinical Perinatal Center». All study participants were divided into three groups. The control group consisted of 40 women with a physiological course of pregnancy. 35 and 30 pregnant women with signs of early placental insufficiency (pulling pain in the lower abdomen, spotting blood discharge from the genital tract) were assigned to IIa and IIb, respectively, and received traditional therapy. HBO courses were added to the treatment complex of group IIb.

All participants met the inclusion criteria:

- gestational age 16–18 weeks at the time of the first examination;
- presence of signs of threatened abortion (according to research, one of the most common causes of miscarriage is the lack of hormones that begin to be synthesized by placental tissue during this period, which manifest as symptoms of threatened abortion [8];
- location of the placenta along the anterior wall.

Exclusion criteria were: increased risk of chromosomal abnormalities according to the results of the first prenatal screening, presence of chronic arterial hypertension (Doppler indicators of uterine arteries will not be informative in this case), diagnosed isthmic-cervical insufficiency, presence of uterine leiomyoma or anomalies.

All women examined by us in this study underwent transabdominal ultrasound examination, in addition to standard biometric indicators: biparietal diameter (BPD), abdominal circumference (AC), femoral length (FL), Dopplerometry was also performed in the uterine arteries with determination of the main blood flow indicators (resistance index (RI), pulsatility index (PI) and systolic-diastolic ratio (SDR), placental thickness was measured by placental elastography – the first examination at 16–18 weeks of pregnancy, and 7–10 days after treatment, on average after 3 weeks at 20–22 weeks of gestation – a repeat examination. The correspondence of gestational age indicators was carried out using standard percentile tables of Fetal Medicine Foundation (Table 1).

Таблиця 1. Нормальні показники маси тіла плода за термінами вагітності
Table 1. Normal fetal weight indicators by gestational age

Термін вагітності (тижні) Gestation age (weeks)	Перцентили (r) / Percentiles (g)				
	3-й, 3th	10-й, 10th	50-й, 50th	90-й, 90th	97-й, 97th
12	43	48	58	68	73
13	55	61	73	85	91
14	70	77	93	109	116

Продовження таблиці 1

15	88	97	117	137	146
16	110	121	146	171	183
17	136	150	181	212	226
18	167	185	223	261	279
19	205	227	273	319	341
20	248	275	331	387	414
21	299	331	399	467	499
22	359	398	478	559	598

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакетів програм Statistica7.

Нормальність розподілу перевірялась за допомогою критерію Шапіро–Уїлка. Порівняння середніх здійснювали за допомогою двобічного t-критерію Стюдента для незалежних змінних, порівняння залежних груп відбувалось за допомогою T-критерію для пов'язаних сукупностей. Достовірність відмінностей вважалася за $p < 0,05$.

Першим етапом проводилась терапія основного захворювання згідно з наказом МОЗ України № 624 від 03.11.2008 «Невиношування вагітності»:

1. фізичний та статевий спокій;
2. спазмолітична терапія (дротаверин 2% 2,0 мл 2 рази на день внутрішньом'язово);
3. терапія гестагенами (мікронізований прогестерон 200 мг 3 рази на день).

Комплексне патогенетичне лікування плацентарної недостатності було обрано на основі існуючих наукових публікацій, оскільки єдиних клінічних рекомендацій щодо терапії даного захворювання ще немає:

1. аспірин 100–150 мг на добу внутрішньо починаючи з 12 тижня вагітності (Наказ МОЗ №1437 від 09.08.2022 року «Нормальна вагітність»), як профілактика прееклампсії у вагітних з підвищеним ризиком;
2. інфузійна терапія з використанням препаратів, що покращують мікроциркуляцію (дипіридамол 75 мг 3 рази на добу внутрішньо протягом 2-х тижнів) [16];
3. вітамін Е 100 мг 3 рази на добу внутрішньо протягом 2-х тижнів [17];
4. вітамін С по 250 мг на добу внутрішньо [18];
5. донатори оксиду азоту по 2 мірні ложки 3 рази на добу внутрішньо протягом 2 тижнів [19].

Оксигенотерапія включала 5 курсів гіпербаричної оксигенації у вагітних в терміні гестації 16–22 тижні через декілька днів після зникнення симптомів загрозливого аборту та підтвердженої відсутності ретрохоріальної гематоми на УЗД у гіпербаричній O_2 -камері MACY-PAN ST801 на базі Регіонального центру клінічної медицини «Консультативна поліклініка» протягом 30 хвилин щоденно під тиском 1,3–1,4 атм в умовах барокамери. Перед початком процедури враховувалась наявність або відсутність протипоказань до її проведення таких як клаустрофобія, порушення прохідності ротової порожнини, евстахієвих труб та каналів, що поєднують додаткові пазухи носа з навколишнім середовищем, як анатомічні, так і зумовлені запаленням (синусити, гайморити), гострі захворювання респіраторні захворювання, що супроводжуються утрудненим диханням, лихоманка вище 38° , артеріальна гіпертензія, епілепсія, наявність порожнин у грудній клітці

Statistical processing of the obtained data was carried out using the Statistica7 software packages.

Normality of distribution was checked using the Shapiro-Wilk test. Comparison of means was carried out using the two-tailed Student's t-test for independent variables, comparison of dependent groups was carried out using the T-test for related populations. The significance of differences was considered at $p < 0.05$.

The first stage was the treatment of the underlying disease according to the order of the Ministry of Health of Ukraine No. 624 dated 03.11.2008 «Miscarriage»:

1. physical and sexual rest;
2. antispasmodic therapy (drotaverine 2% 2.0 ml 2 times a day intramuscularly);
3. therapy with gestagens (micronized progesterone 200 mg 3 times a day).

The complex pathogenetic treatment of placental insufficiency was chosen based on existing scientific publications, since there are still no unified clinical recommendations for the treatment of this disease:

1. aspirin 100–150 mg per day orally starting from the 16th week of pregnancy (Order of the Ministry of Health «Normal Pregnancy» as a prevention of preeclampsia in pregnant women with increased risk);
2. infusion therapy using drugs that improve microcirculation (dipyridamole 75 mg 3 times a day orally for 2 weeks) [16];
3. vitamin E 100 mg 3 times a day orally for 2 weeks [17];
4. vitamin C 250 mg per day orally [18];
5. nitric oxide donors 2 measuring spoons 3 times a day orally for 2 weeks [19].

Oxygen therapy included in pregnant women at 16–22 weeks of gestation, a few days after the disappearance of symptoms of threatened abortion and the confirmed absence of retrochorial hematoma on ultrasound in a MACY-PAN ST801 hyperbaric O_2 chamber on the basis of the Regional Center of Clinical Medicine «Consultative Polyclinic» for 30 minutes daily under a pressure of 1.3–1.4 atm in the conditions of a pressure chamber and were performed after the elimination of signs of threatened abortion. Before the procedure, the presence or absence of contraindications to its implementation was taken into account, such as claustrophobia, impaired patency of the oral cavity, Eustachian tubes and channels connecting the additional sinuses with the environment, both anatomical and caused by inflammation (sinusitis, sinusitis), acute respiratory diseases accompanied by difficulty breathing, fever above 38° , arterial hypertension, epilepsy, the presence of cavities in the chest (pneumothorax, emphysema, lung abscesses, caverns). All study participants signed an informed voluntary consent to participate after they were

(пневмоторакс, емфізема, абсцеси легень, каверни). Всі вагітні підписали інформовану добровільну згоду на участь у дослідженні, після того як їм було надано вичерпні дані про протипоказання та можливі побічні реакції процедури. Тема дослідження пройшла затвердження на Комісії з біоетики та біобезпеки Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

provided with comprehensive data on contraindications and possible adverse reactions to the procedure. The research topic was approved by the Bioethics and Biosafety Commission of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv.

РЕЗУЛЬТАТИ

Дані ультразвукового дослідження вагітних надані в таблицях 2, 3, 4.

RESULTS

The data of ultrasound examination of pregnant women are collected in tables 2, 3, 4.

Таблиця 2. Показники доплерометрії маткових артерій по групах дослідження
Table 2. Doppler indicators of uterine arteries by study groups

		IP в МА, RI in UA	> 95-й П, %	ПІ в МА, PI in UA	> 95-й П, %	СДВ в МА, SDR in UA	> 95-й П, %
КГ, CG	до лікування, before treatment	0,51 ± 0,05	2,5 (n = 1)	1,57 ± 0,09	2,5 (n = 1)	1,81 ± 0,29	2,5 (n = 1)
	Через 3 тижні, after 3 weeks	0,50 ± 0,04	2,5 (n = 1)	1,49 ± 0,07	2,5 (n = 1)	1,79 ± 0,18	2,5 (n = 1)
IIa	до лікування, before treatment	0,75 ± 0,06*	14,2 (n = 5)	2,01 ± 0,12*	14,2 (n = 5)	3,11 ± 0,35*	14,2 (n = 5)
	після лікування, after treatment	0,69 ± 0,01**	5,7 (n = 2)	1,65 ± 0,01**	5,7 (n = 2)	2,12 ± 0,06**	5,7 (n = 2)
IIb	до лікування, before treatment	0,77 ± 0,03*	13,3 (n = 4)	1,98 ± 0,11*	13,3 (n = 4)	3,20 ± 0,28*	13,3 (n = 4)
	після лікування, after treatment	0,56 ± 0,05**	3,3 (n = 1)	1,58 ± 0,02**	3,3 (n = 1)	1,80 ± 0,09**	3,3 (n = 1)

Примітки / Notes:

КГ – контрольна група, П – перцентиль; МА – маткові артерії; * – $p < 0,05$ при порівнянні показників доплерометрії при першому візиті в контрольній та досліджуваній групах (16–17 тижнів), ** – $p < 0,05$ при порівнянні зміни показників IIa та IIb груп після лікування (20–21 тиждень).

P – percentile; UA – uterine arteries; * – $p < 0.05$ when comparing Doppler indices at 1 visit in the control and study groups (16–17 weeks), ** – $p < 0.05$ when comparing changes in indices of groups IIa and IIb after treatment (20–21 weeks).

За даними доплерометрії в маткових артеріях IP до проведеного лікування у групах жінок із плацентарною недостатністю склав в середньому $0,75 \pm 0,06$ та $0,77 \pm 0,03$ відповідно, і був вищим, ніж у жінок із контрольної групи, відмінності були статистично значущими ($p < 0,05$) (табл. 1).

В той же час індекс резистентності був більше 95 перцентилі для даного терміну тільки в одній жінки з контрольної групи (2,5%), на відміну від жінок з плацентарною недостатністю, де цей показник був на рівні 14,2% та 13,3% відповідно в групі IIa та IIb перед проведенням лікування.

Показник ПІ в маткових артеріях у жінок з фізіологічним перебігом вагітності був в межах $1,57 \pm 0,09$, що значно менше, ніж у групі жінок з плацентарною недостатністю, де цей середній показник складав $2,01 \pm 0,12$ у групі IIa та $1,98 \pm 0,11$ при ($p < 0,05$) в групі IIb відповідно (табл. 2). В той же час цей показник перевищував 95 перцентиль у одній вагітній з контрольної групи, у 5 жінок з групи IIa перед проведенням лікування та у 4 пацієнток в групі IIb до терапії.

Значення СДВ в середньому складало $1,81 \pm 0,29$ у жінок з фізіологічним перебігом вагітності. У жінок із плацентарною недостатністю цей показник був вищим і коливався на рівні $3,11 \pm 0,35$ у групі IIa та $3,20 \pm 0,28$ у групі IIb відповідно ($p < 0,05$) (табл. 3).

According to Doppler data in uterine arteries, RI before treatment in groups of women with placental insufficiency was on average 0.75 ± 0.06 and 0.77 ± 0.03 , respectively, and was higher than in women from the control group, the differences were statistically significant ($p < 0.05$) (Table 1).

At the same time, the resistance index was more than the 95th percentile for this period in only one of the women from the control group (2.5%), in contrast to women with placental insufficiency, where this indicator was at the level of 14.2% and 13.3%, respectively, in groups IIa and IIb before treatment.

The PI indicator in the uterine arteries in women with a physiological course of pregnancy was within 1.57 ± 0.09 , which was significantly less than in the group of women with placental insufficiency, where this average indicator was 2.01 ± 0.12 in group IIa and 1.98 ± 0.11 at ($p < 0.05$) in group IIb, respectively (Table 2). At the same time, this indicator exceeded the 95th percentile in one woman from the control group, in 5 women from group IIa before treatment and in 4 women in group IIb before treatment.

The value of the SDR on average was 1.81 ± 0.29 in women with a physiological course of pregnancy, while in women with placental insufficiency this indicator was higher and ranged at 3.11 ± 0.35 in group IIa and 3.20 ± 0.28 in group IIb, respectively ($p < 0.05$) (Table 3).

Досліджуючи безпосередньо тканину плаценти ми визначали показники товщини плаценти та її щільність за допомогою еластографії. В контрольній групі товщина плаценти склала $18,71 \pm 1,21$ мм, в той час як в групі жінок із ознаками плацентарної недостатності це значення було на рівні $25,12 \pm 0,43$ мм в групі IIa та $26,31 \pm 0,97$ мм при ($p < 0,05$) у групі IIb відповідно, що було більше, ніж у жінок з фізіологічним перебігом вагітності (рис. 4).

Отримані дані про товщину та щільність тканини плаценти до та після лікування надано в таблиці 3.

By directly examining the placental tissue, we determined the indicators of the thickness of the placenta and its density using elastography. In the control group, the thickness of the placenta was 18.71 ± 1.21 mm, while in the group of women with signs of placental insufficiency this value was at the level of 25.12 ± 0.43 mm in group IIa and 26.31 ± 0.97 mm at ($p < 0.05$) in group IIb, respectively, which was greater than in women with a physiological course of pregnancy (fig. 4). The obtained data on the thickness and density of the placental tissue before and after treatment are collected in Table 3.

Таблиця 3. Показники товщини та щільності тканини плаценти в групах дослідження

Table 3. Indicators of placental tissue thickness and density in the study groups

		Товщина плаценти (мм), Placental tissue thickness (mm)	Щільність тканини плаценти (кПа), Placental tissue density (kPa)
КГ (n = 40), CG	1-й візит 1 st visit	$18,71 \pm 1,21$	$2,18 \pm 0,82$
	2-й візит 2 nd visit	$19,82 \pm 1,13$	$2,24 \pm 0,85$
IIa (n = 35)	до лікування before treatment	$25,12 \pm 0,43^*$	$6,54 \pm 1,25^*$
	після лікування, after treatment	$23,23 \pm 0,35^{**}$	$4,54 \pm 0,23$
IIb (n = 30)	до лікування, before treatment	$26,31 \pm 0,97^*$	$6,32 \pm 1,09^*$
	після лікування, after treatment	$20,42 \pm 1,01^{**}$	$2,92 \pm 0,51^{**}$

Примітки / Notes:

* – $p < 0,05$ при порівнянні показників доплерометрії при 1 візиті в контрольній та досліджуваній групах (16–17 тижнів),

** – $p < 0,05$ при порівнянні зміни показників IIa та IIb груп після лікування (20–21 тижнів).

* – $p < 0,05$ when comparing Doppler indices at 1 visit in the control and study groups (16–17 weeks),

** – $p < 0,05$ when comparing changes in indices of groups IIa and IIb after treatment (20–21 weeks).

Показники щільності плаценти в групі жінок з фізіологічним перебігом вагітності були нижчими, ніж в основних групах, і склали $2,18 \pm 0,82$ кПа. В IIa досліджуваній групі середнє значення щільності плаценти становило $6,54 \pm 1,25$ кПа, а в групі IIb – $6,32 \pm 1,09$ кПа. ($p < 0,05$) (рис. 5).

Під час другого візиту, через 7–10 днів після проведення лікування, у терміні вагітності 20–21 тижні показники доплерометрії змінились. ІР в маткових артеріях після лікування зменшився в групі IIa до рівня $0,69 \pm 0,01$, а у групі IIb цей показник ще зменшився і склав $0,56 \pm 0,05$ ($p < 0,05$) (рис. 1). Як видно із графіків, ІР більш значно знизився майже до показників фізіологічного перебігу вагітності після проведення комплексної терапії з включенням курсів гіпербаричної оксигенації.

Після проведеного комплексного лікування плацентарної недостатності з включенням курсів баротерапії ПІ знизився з рівня $1,98 \pm 0,11$ до значення $1,58 \pm 0,02$ в IIb групі, що було більш значним зниженням, ніж у групі IIa, де ПІ індекс змінився з $2,01 \pm 0,12$ до $1,65 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) після загальноприйнятого лікування плацентарної недостатності (рис. 2).

Значення СДВ у досліджуваних групах значно знизились після проведеного лікування, і склали $2,12 \pm 0,06$ в IIa групі порівняно з $3,11 \pm 0,35$ до початку лікування, в той же час у групі IIb після проведення терапії плацентарної недостатності з включенням курсів баротерапії показник СДВ у маткових артеріях став на рівні $1,80 \pm 0,09$ від початкових $3,20 \pm 0,28$ ($p < 0,05$) до лікування (рис. 3).

Placental density indicators in the group of pregnant women with a physiological course of pregnancy were lower than in the main groups and amounted to 2.18 ± 0.82 kPa. In the IIa study group, the average value of placental density was 6.54 ± 1.25 kPa, and in group IIb – 6.32 ± 1.09 kPa. ($p < 0.05$) (Fig. 5).

7–10 days later after treatment, at 20–21 weeks of gestation, Doppler indicators changed in the groups. RI in the uterine arteries after treatment decreased in group IIa to the level of 0.69 ± 0.01 , while in group IIb this indicator decreased and amounted to 0.56 ± 0.05 ($p < 0.05$) (fig. 1). As can be seen from the graphs, RI decreased more significantly almost to the indicators of the physiological course of pregnancy after complex therapy with the inclusion of hyperbaric oxygenation courses.

PI after the comprehensive treatment of placental insufficiency with the inclusion of barotherapy courses decreased from 1.98 ± 0.11 to 1.58 ± 0.02 in group IIb, which was a more significant decrease than in group IIa, where the PI index changed from 2.01 ± 0.12 to 1.65 ± 0.01 ($p < 0.05$) after treatment of placental insufficiency. (Fig. 2)

The values of SDR in the study groups significantly decreased after the treatment and amounted to 2.12 ± 0.06 in group IIa compared to 3.11 ± 0.35 before the start of treatment, at the same time in group IIb after the treatment of placental insufficiency with the inclusion of barotherapy courses, the SDR index in uterine arteries became 1.80 ± 0.09 from the initial 3.2 ± 0.28 ($p < 0.05$) before treatment (Fig. 3).

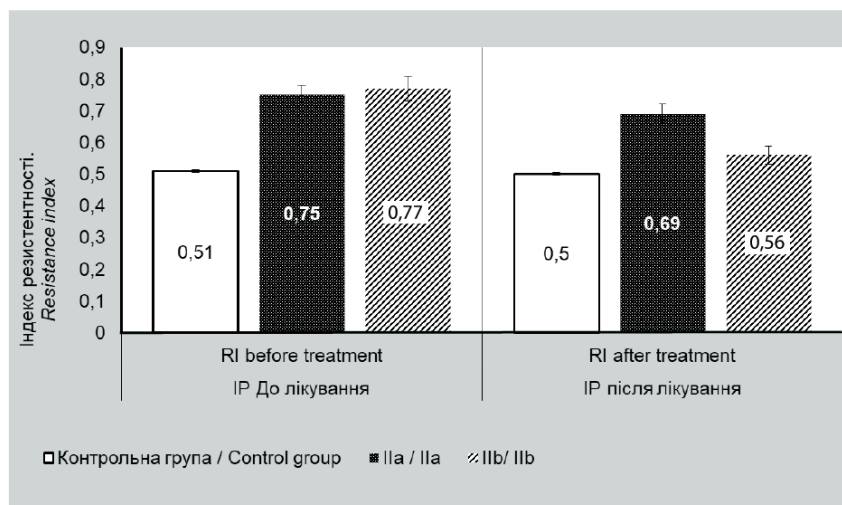


Рис. 1. IP маткових артерій в групах дослідження
Fig. 1. Uterine artery RI in the study groups

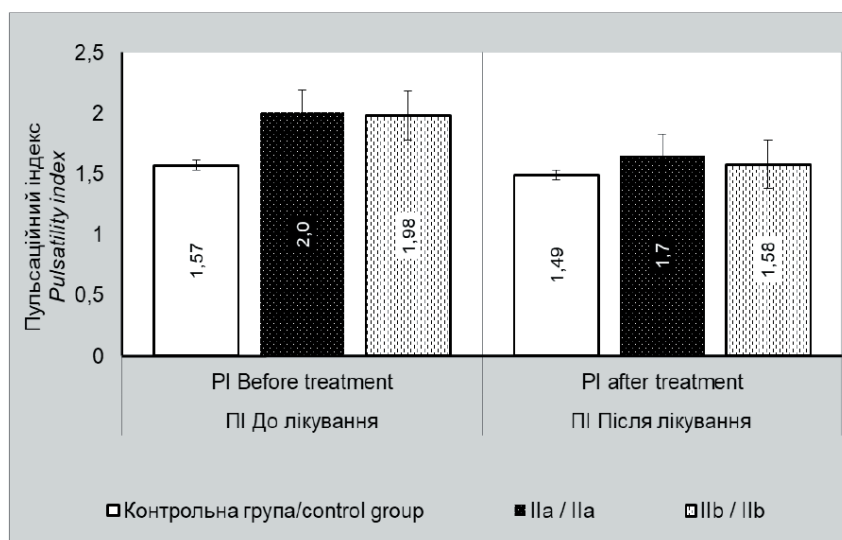


Рис. 2. Показники ПІ в маткових артеріях у групах дослідження
Fig. 2. PI indices in uterine arteries in the study groups

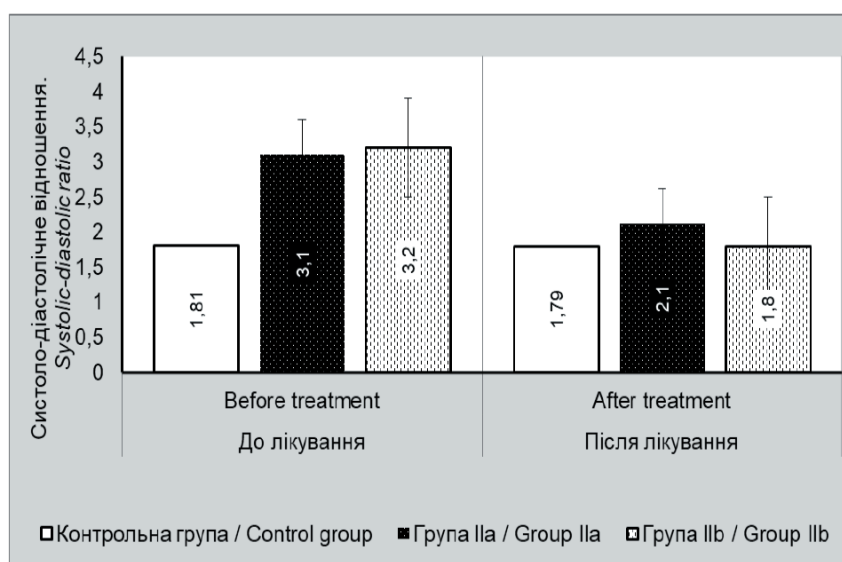


Рис. 3. Показники СДВ в групах дослідження
Fig. 3. Indicators of SDR in the study groups

Товщина плаценти у разі плацентарної недостатності в досліджуваних групах IIa та IIb була більшою до лікування і після проведення курсу терапії зменшилась з рівня $25,12 \pm 0,43$ мм до $23,23 \pm 0,35$ мм та з $26,31 \pm 0,97$ мм до $20,42 \pm 1,01$ мм ($p < 0,05$) відповідно в обох групах, при чому в групі жінок, яким проводились також курси гіпербаричної оксигенації, це зниження було більш значущим (рис. 4).

The thickness of the placenta before treatment of placental insufficiency in the studied groups IIa and IIb was greater before treatment and after the course of therapy decreased from 25.12 ± 0.43 mm to 23.23 ± 0.35 mm and from 26.31 ± 0.97 mm to 20.42 ± 1.01 mm ($p < 0.05$) respectively in both groups, and in the group of women who also underwent hyperbaric oxygenation courses this decrease was more significant (Fig. 4).

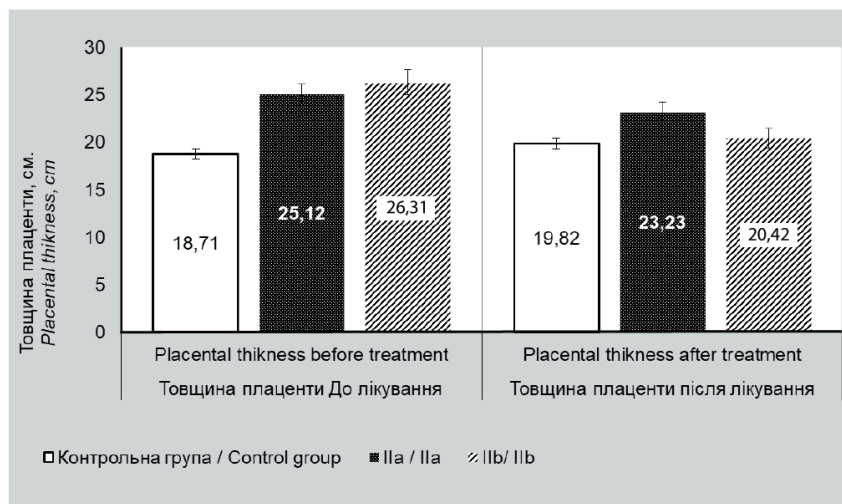


Рис. 4. Показник товщини плаценти в групах дослідження
Fig. 4. Placental thickness index in the study groups

Щільність тканини плаценти після проведення курсу терапії плацентарної недостатності зменшилась у групах дослідження IIa та IIb, при чому знизилась сильніше в групі, в якій проводились також курси гіпербаричної оксигенації, з $6,32 \pm 1,09$ кПа до лікування до $2,92 \pm 0,51$ кПа після ($p < 0,05$), а в IIa групі з $6,54 \pm 1,25$ кПа до $4,54 \pm 0,23$ кПа після курсу загальноприйнятої терапії (рис. 5).

The density of placental tissue after a course of placental insufficiency therapy decreased in study groups IIa and IIb, and decreased more strongly in the group that also underwent hyperbaric oxygenation courses from 6.32 ± 1.09 kPa before treatment to 2.92 ± 0.51 kPa after ($p < 0.05$), and in group IIa from 6.54 ± 1.25 kPa to 4.54 ± 0.23 kPa after a course of conventional therapy (Fig. 5).

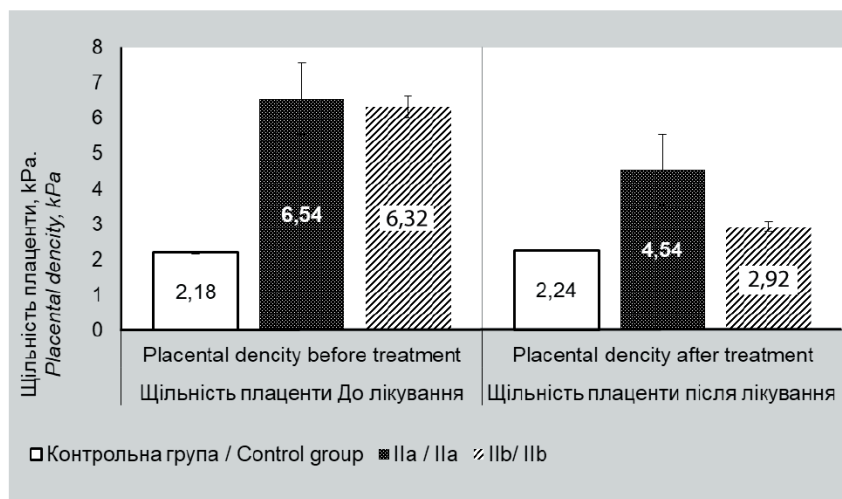


Рис. 5. Показники щільності плаценти в групах дослідження
Fig. 5. Placental density indicators in the study groups

Дані показників ультразвукової оцінки середньої маси плодів у групах дослідження надані в таблиці 4. Для оцінки відповідності маси тіла плода терміну вагітності використовувались перцентильні таблиці Fetal Medicine Foundation (див. табл. 1).

Data on ultrasound assessment of the average fetal weight in the study groups are shown in table 4. Percentile tables of fetal Medicine Foundation were used to assess the correspondence of fetal weight to gestational age (Table 1).

Таблиця 4. Маса плода в групах дослідження
Table 4. Fetal weight the study groups

		Маса плода, г, Fetal weight, g
КГ, CG (n = 40)	1-й візит/1 st visit	225,0 ± 7,8
	2-й візит/2 nd visit	342 ± 7,4
IIa (n = 35)	до лікування, before treatment	172,3 ± 9,5**
	після лікування, after treatment	301,5 ± 7,7*
IIb (n = 30)	до лікування, before treatment	171 ± 6,3**
	після лікування, after treatment	338,6 ± 6,8*

Примітки / Notes:

КГ – контрольна група;

* – $p < 0,05$ при порівнянні показників до та після лікування в межах однієї групи,

** – $p < 0,05$ при порівнянні показників IIa та IIb груп з групою жінок з фізіологічним перебігом вагітності.

CG – control group;

* – $p < 0.05$ when comparing the indicators before and after treatment within the same group,

** – $p < 0.05$ when comparing the indicators of groups IIa and IIb with the group of women with a physiological course of pregnancy.

За результатами фетометрії було визначено, що маса плода у вагітних з фізіологічним перебігом в середньому під час першого огляду складала ($225,0 \pm 7,8$ г), що було більше ніж в групах IIa та IIb, де цей показник знаходився на рівні ($172,3 \pm 9,5$ г) та ($171 \pm 6,3$ г) відповідно ($p < 0,05$). При цьому найбільше пацієнток (57,5%) за цим показником знаходились в межах 50–90 перцентилу в контрольній групі, а у жінок з ознаками плацентарної недостатності маса плода здебільшого (62,8% та 66,6%) була між 10 та 50 перцентиліями.

Після проведеного лікування маса плода збільшилась більш значно в IIb групі після курсів ГБО та склала ($338,6 \pm 6,8$ г), порівняно з IIa групою, де цей показник визначався на рівні ($301,5 \pm 7,7$ г) ($p < 0,05$) після традиційної терапії плацентарної недостатності. Відмічалось збільшення відсотка жінок, які потрапляли в 50–90 перцентиль за масою плода, оскільки після лікування цей показник був 43,3% та 37,1% у IIb та IIa групах відповідно.

According to the results of fetometry, it was determined that the fetal weight in pregnant women with a physiological course on average during the initial examination was 225.0 ± 7.8 g, which was more than in groups IIa and IIb, where this indicator was at the level of 172.3 ± 9.5 g and 171 ± 6.3 g, respectively ($p < 0.05$). At the same time, most patients (57.5%) were within the 50–90th centile in the control group for this indicator, and in women with signs of placental insufficiency, the fetal weight was mostly (62.8% and 66.6%) between the 10th and 50th centiles.

After treatment, fetal weight increased more significantly in group IIb after HBO courses and amounted to 338.6 ± 6.8 g, compared to group IIa, where this indicator was determined at the level of 301.5 ± 7.7 g ($p < 0.05$) after traditional therapy of placental insufficiency. There was an increase in the percentage of women who fell into the 50–90th percentile for fetal weight and after treatment this indicator was 43.3% and 37.1% in groups IIb and IIa, respectively.

ОБГОВОРЕННЯ

Під час першого візиту визначено статистично достовірні зміни в показниках доплерометрії маткових артерій порівняно з фізіологічним перебігом вагітності. ІР, ПІ та СДВ були достовірно більшими при плацентарній недостатності, що співпадає також з результатами інших авторів [6, 26]. Більшу ультразвукову товщину плаценти в IIa та IIb групах порівняно з контрольною можна пояснити підвищенням проникності ендотелію та виникненням набряку тканини на тлі дисфункції. Дані відповідають результатам досліджень інших авторів [20].

Збільшення щільності тканини плаценти при плацентарній недостатності пояснюється тим, що через гіпоксію відбувається пошкодження клітин у ній, з'являються ділянки сполучної тканини та дрібні кальцинати, зменшується васкуляризація. Дані співпадають із даними досліджень інших авторів [21–23].

DISCUSSION

During the first visit, statistically significant changes in uterine artery Doppler parameters were determined, compared with the physiological course of pregnancy. IR, PI and SDV were significantly higher in placental insufficiency, which also coincides with the results of other authors [6, 26]. The greater ultrasound thickness of the placenta in groups IIa and IIb, compared with the control, can be explained by the edema of the tissue due to placental dysfunction. The data correspond studies results of other authors [20].

The increase in the density of the placental tissue in placental insufficiency is explained by the fact that small calcifications and areas of connective tissue appear in the tissue, vascularization decreases, and studies also indicate that due to tissue hypoxia, cell damage occurs, endothelial permeability increases and placental tissue edema occurs. The data coincide with the data of studies by other authors [21–23].

Після проведеної терапії відмічалось наближення параметрів у групах IIa та IIb до таких при фізіологічному перебігу вагітності відповідно терміну вагітності. Більш значущими ці зміни були після застосування курсів оксигенотерапії. Покращення показників кровообігу в маткових артеріях після проведення курсів ГБО імовірно відбувалось через зменшення гіпоксії в клітинах ендотелію та корекції ендотеліальної дисфункції. Також на фоні зменшення гіпоксії зменшувалась продукція вазоконстрикторів і відбувалась вазодилатація, що сприяло покращенню кровоплину в мікросудинах фетоплацентарного комплексу [24].

Зменшення товщини плаценти після проведеної комплексної терапії можна пояснити корекцією гіпоксії в тканині плаценти, внаслідок якої відбулось відновлення функцій ендотелію та зменшення набряку. Після курсів ГБО також відмічалось зменшення щільності тканини плаценти, що пояснюється відновленням кровообігу у фетоплацентарному комплексі, збагаченню киснем самої тканини плаценти, зменшенням кількості ділянок з гіпоксією та ішемією, зменшенням набряку завдяки таким ефектам оксигенотерапії як антигіпоксичний, біоенергетичний, антиоксидантний [15].

Власні дослідження узгоджуються з дослідженнями Meler E. et al. та Гошовською А.В., які описують сильну кореляцію між змінами в гемодинаміці судин фето-плацентарного комплексу, та проявами плацентарної недостатності [6, 26]. У своїх наукових публікаціях Sun C. et al. та Jahan F. також описували етіопатогенез порушень у процесі плацентації, які визначались у вагітних із затримкою внутрішньоутробного росту плода, та довели роль плацентарної дисфункції для даного ускладнення вагітності, а також для розвитку преєклампсії [9, 25]. Schiffer V. et al. у своїх дослідженнях також вказували на зміни в товщині плаценти (а саме, її збільшення) у вагітних з плацентарними порушеннями, що відповідає результатам власних досліджень [18]. Еластографію для оцінки функції плацент також досліджували Hu J. et al., де синхронно з нашим дослідженням відмітили збільшення її щільності на фоні виникнення порушень у фето-плацентарному комплексі. Tchirikov M. et al., Sen S., Singh B. et al вказували у своїх дослідженнях на позитивний вплив ГБО на мікроциркуляцію, зменшення проявів гіпоксії в тканинах, функцію плаценти при вагітності, що відповідає результатам власних досліджень [8, 10, 12, 22].

ВИСНОВКИ

Під час нашого дослідження було підтверджено, що плацентарна недостатність є наслідком порушення кровоплину в маткових артеріях, а саме збільшення резистентності в цих судинах. Визначено, що одним із маркерів даної патології є збільшення товщини плаценти та її щільності, а також доведено, що наслідком хронічної плацентарної недостатності є зменшення маси тіла плода відносно даного терміну вагітності. Це може свідчити про недостатність саме трофічної функції. Після проведеного лікування відзначено покращення показників матково-плацентарного кровоплину, нормалізація щільності та товщини плаценти, збільшення кількості

After the therapy, the parameters in groups IIa and IIb were closer to those in the physiological course of pregnancy according to the gestational age. These changes were more significant after the use of oxygen therapy courses. The improvement of blood circulation in the uterine arteries after HBO courses was presumably due to the reduction of hypoxia in endothelial cells and the correction of endothelial dysfunction. Also, against the background of the reduction of hypoxia, the production of vasoconstrictors decreased and vasodilation occurred, which contributed to the improvement of blood flow in the microvessels of the feto-placental complex [24].

The decrease in the thickness of the placenta after the complex therapy can be explained by the correction of hypoxia in the placental tissue, as a result of which the functions of the endothelium were restored and edema was reduced. After HBO cruciate ligaments, a decrease in placental tissue density was also noted, which is explained by the restoration of blood circulation in the feto-placental complex, oxygen enrichment of the placental tissue itself, a decrease in the number of areas with hypoxia and ischemia, and a decrease in edema due to such effects of oxygen therapy as antihypoxic, bioenergetic, and antioxidant [15].

Our own studies are consistent with those of Meler E et al., and Hoshovska A. who describe a strong correlation between changes in the hemodynamics of the vessels of the feto-placental complex and manifestations of placental insufficiency [6, 26]. In their scientific publications, Sun C et al. and Jahan, F. also described the etiopathogenesis of disorders in the placentation process, which were determined in pregnant women with intrauterine growth retardation, and proved the role of placental dysfunction for this complication of pregnancy, as well as preeclampsia development [9, 25]. Schiffer V et al. in their studies also indicated changes in the thickness of the placenta (namely, its increase) in pregnant women with placental disorders [18], which corresponds to the results of their own studies. Elastography for assessing placental function was also studied by Hu J et al., where, synchronously with our study, an increase in its density was noted against the background of disorders in the feto-placental complex. Tchirikov M et al., Sen S, Singh B et al indicated in their studies the positive effect of HBO on microcirculation, reduction of manifestations of hypoxia in tissues, and placental function during pregnancy, which is consistent with the results of their own studies [8, 10, 12, 22].

CONCLUSIONS

During our study, it was confirmed that placental insufficiency is a consequence of impaired blood flow in the uterine arteries, namely an increase in resistance in these vessels. It was also determined that one of the markers of this pathology is an increase in the thickness of the placenta and its density. It was proven that the consequence of chronic placental insufficiency is a decrease in fetal weight relative to the given gestational age, which may indicate an insufficiency of the trophic function. After the treatment, improvements in uteroplacental blood flow indicators, normalization of the density and thickness of the placenta, and an increase in the number of pregnant women who fell

вагітних, які за фетометрією потрапили в діапазон 5–95 перцентиль. Зміни були більш значущими в групі жінок із плацентарною недостатністю, які крім традиційного лікування даної патології отримували також курси гіпербаричної оксигенації. Враховуючи зазначене вище можна рекомендувати проведення плацентометрії, еластографії та фетометрії як діагностичних та прогностичних факторів розвитку плацентарної недостатності, а також розглянути використання оксигенотерапії в комплексному лікуванні даної патології.

into the 5–95 percentile range according to fetometry were found. The changes were more significant in the group of women with placental insufficiency, who, in addition to the trivial usual treatment of this pathology, also received courses of hyperbaric oxygenation. Taking into account the above, we can recommend conducting uterine artery Dopplerometry, placentometry, elastography and fetometry as diagnostic and prognostic factors for the development of placental insufficiency, as well as considering the use of oxygen therapy in the complex treatment of this pathology.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Борзенко І. Б. Прогнозування та рання діагностика плацентарної дисфункції (огляд літератури). *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. № 2 (24) С. 7–17.
2. van Kammen C. M., van Woudenberg S. J., Schiffelers R., et al. Nanomedicines: An approach to treat placental insufficiency and the current challenges. *Journal of Controlled Release*. 2023. №360 P. 57–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.06.003>
3. Preston M., Hall M., Shennan A., et al. The role of placental insufficiency in spontaneous preterm birth: A literature review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2024. №295. P. 136–142. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.02.020>
4. Dall'Asta A., Melito C., Morganelli G., et al. Determinants of placental insufficiency in fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2022. №61 (2). P. 152–157. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26111>
5. Hirsch A., Rotem R., Ternovsky N., et al. Pravastatin and placental insufficiency associated disorders: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2022 №13. P. 1021548. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1021548>
6. Лісова К. М., Каліновська І. В., Токар П. Ю. Етіопатогенетичні аспекти розвитку плацентарної дисфункції у жінок з невиношуванням вагітності (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2020. №4 (96). С. 150–156. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIV.4.96.2020.118>
7. Odendaal H. J. Strong Association Between Placental Pathology and Second-trimester Miscarriage. *Archives of obstetrics and gynaecology*. 2021. №2 (3). P. 51–56. PMID: 34557867; PMCID: PMC8457358.
8. Грищенко В. І., Щербина М. О., Венцківський Б. М., та ін. *Акушерство і гінекологія: у 2 книгах. Книга 1. Акушерство: підручник. Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина»*. 2020. С. 404.
9. Meler E., Martinez J., Boada D., et al. Doppler studies of placental function. *Placenta*. 2021. №108. P. 91–96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.03.014>
10. Radswiki T., Knipe H., Iqbal S. Placental insufficiency. *Radiopaedia*. 2024. DOI: <https://doi.org/10.53347/rID-14525>
11. Hu J., Lv Z., Dong Y., et al. Review of shear wave elastography in placental function evaluations. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2023. №36 (1). P. 2203792. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2203792>
12. Sun C., Groom K. M., Oyston C., et al. The placenta in fetal growth restriction: What is going wrong? *Placenta*. 2020. №96. P. 10–18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.05.003>
13. Tchirikov M., Saling E., Bapayeva G., et al. Hyperbaric oxygenation and glucose/amino acids substitution in human severe placental insufficiency. *Physiological Reports*. 2018. №6 (5). P. e13589. DOI: <https://doi.org/10.14814/phy2.13589>
14. Сафонов Р. А. Зміни у фетоплацентарному комплексі і системі гемостазу у вагітних з аліментарно-конституціональним ожирінням та їх корекція. *Акушерство та гінекологія*. 2007. С. 126–150.
15. Sen S., Sen S. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen: integrated review. *Medical Gas Research*. 2021. №11 (1). P. 30–33. DOI: <https://doi.org/10.4103/2045-9912.310057>
16. Moura N. S., Gomes M. L. S., Rodrigues I. R., et al. Clinical Procedures for the Prevention of Preeclampsia in Pregnant Women: A Systematic Review. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2020. №42 (10). P. 659–668. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0040-1714135>
17. Скрипник В. В., Цисар Ю. В. Плацентарна недостатність (огляд сучасних джерел літератури). *Global science: prospects and innovations*. 2023. С. 172. URL: <https://surl.it/zqit0j>
18. Wardinger J. E., Ambati S. Placental Insufficiency. *StatPearls* 2025. PMID: 33085318.
19. Рудюк О. Г., Ясніковська, С. М. Застосування донаторів оксиду азоту в лікуванні плацентарної дисфункції. *Modern*

REFERENCES

1. Borzenko IB. Prediction and early diagnosis of placental dysfunction (literature review). *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. 2020;2(24):7–17. (In Ukrainian).
2. van Kammen CM, van Woudenberg SJ, Schiffelers R, Terstappen F, Lely AT. Nanomedicines: An approach to treat placental insufficiency and the current challenges. *Journal of Controlled Release*. 2023;360:57–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.06.003>
3. Preston M, Hall M, Shennan A, Story L. The role of placental insufficiency in spontaneous preterm birth: A literature review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2024;295:136–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.02.020>
4. Dall'Asta A, Melito C, Morganelli G, Lees C, Ghi T. Determinants of placental insufficiency in fetal growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2022;61(2):152–7. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.26111>
5. Hirsch A, Rotem R, Ternovsky N, Hirsh Raccach B. Pravastatin and placental insufficiency associated disorders: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2022 №13. P. 1021548. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1021548>
6. Lisova KM, Kalinowska IV, Tokar PYU. Etiopathogenetic aspects of the development of placental dysfunction in women with miscarriage (literature review) *Bukovinian Medical Herald*. 2020;4(96):150–6. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIV.4.96.2020.118>
7. Odendaal HJ. Strong Association Between Placental Pathology and Second-trimester Miscarriage. *Archives of obstetrics and gynaecology*. 2021. №2 (3). P. 51–56. PMID: 34557867; PMCID: PMC8457358.
8. Grishchenko VI, Shcherbyna MO, Ventskivskiy BM, et al. Obstetrics and gynecology: in 2 books. Book 1. Obstetrics: Textbook. *All-Ukrainian Specialized Publishing House «Medicine»*. 2020;404. (In Ukrainian).
9. Meler E, Martinez J, Boada D, Mazarico E, Figueras F. Doppler studies of placental function. *Placenta*. 2021;108:91–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.03.014>
10. Radswiki T, Knipe H, Iqbal S. Placental insufficiency. *Radiopaedia*. 2024. DOI: <https://doi.org/10.53347/rID-14525>
11. Hu J, Lv Z, Dong Y, Liu W. Review of shear wave elastography in placental function evaluations. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2023;36(1):2203792. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2203792>
12. Sun C, Groom KM, Oyston C, Chamley LW, Clark AR, James JL. The placenta in fetal growth restriction: What is going wrong? *Placenta*. 2020;96:10–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.05.003>
13. Tchirikov M, Saling E, Bapayeva G, Bucher M, Thews O, Seliger G. Hyperbaric oxygenation and glucose/amino acids substitution in human severe placental insufficiency. *Physiological Reports*. 2018;6(5):e13589. DOI: <https://doi.org/10.14814/phy2.13589>
14. Safonov RA. Changes in the fetoplacental complex and hemostasis system in pregnant women with alimentary-constitutional obesity and their correction: *Obstetrics and Gynecology*. 2007;126–50. (In Ukrainian).
15. Sen S, Sen S. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen: integrated review. *Medical Gas Research*. 2021;11(1):30–3. DOI: <https://doi.org/10.4103/2045-9912.310057>
16. Moura NS, Gomes MLS, Rodrigues IR, Rolnik DL, Costa FS, Oriá MOB. Clinical Procedures for the Prevention of Preeclampsia in Pregnant Women: A Systematic Review. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2020;42(10):659–68. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0040-1714135>
17. Skrypnik VV, Tsisar YV. Placental insufficiency (review of modern sources of literature). *Global science: prospects and innovations*. 2023;172. (In Ukrainian). URL: <https://surl.it/zqit0j>
18. Wardinger JE, Ambati S. Placental Insufficiency. *StatPearls* 2025. PMID: 33085318.
19. Rudyuk OG, Yasniovskaya SM. The use of nitric oxide donors in the treatment of placental dysfunction. *Modern problems*

- problems of science, education and society. 2023. С. 144. URL: <https://surl.li/ogexcr>
20. Mydtskov N. D., Sinding M., Aarøe K. K., et al. Placental volume, thickness and transverse relaxation time (T2*) estimated by magnetic resonance imaging in relation to small for gestational age at birth. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2023. №282. P. 72–76. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2023.01.013>
21. Schiffer V., van Haren A., De Cubber L., et al. Ultrasound evaluation of the placenta in healthy and placental syndrome pregnancies: A systematic review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2021. №262 P. 45–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.04.042>
22. Jacobsen D. P., Fjeldstad H. E., Olsen M. B., et al. Microchimerism and pregnancy complications with placental dysfunction. *Seminars in Immunopathology*. 2025. №47 (21). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-025-01045-w>
23. Doshani A., Konje J. C. Placental dysfunction in obese women and antenatal surveillance. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2023. №91. P. 102407. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2023.102407>
24. Singh B., Bhyan P., Cooper J. S. Hyperbaric Cardiovascular Effects. *Treasure Island*. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482231/>
25. Jahan F., Vasam G., Green A. E., et al. Placental Mitochondrial Function and Dysfunction in Preeclampsia. *International journal of molecular sciences*. 2023. №24 (4). P. 4177. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24044177>
26. Гошовська А. В., Дікал М. В. Диференційна характеристика засобів профілактики первинної плацентарної дисфункції у жінок на тлі запальних захворювань жіночих статевих органів. *Одеський медичний журнал*. 2025. №1 (192). P. 41–47. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-1-8>
20. Mydtskov ND, Sinding M, Aarøe KK, Thaarup LV, Madsen SBB, Hansen DN, et al. Ultrasound evaluation of the placenta in healthy and placental syndrome pregnancies: A systematic review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2023;282:72–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2023.01.013>
21. Schiffer V, van Haren A, De Cubber L, Bons J, Coumans A, van Kuijk SM, et al. Ultrasound evaluation of the placenta in healthy and placental syndrome pregnancies: A systematic review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2021;262:45–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.04.042>
22. Jacobsen DP, Fjeldstad HE, Olsen MB, Sugulle M, Staff AC. (2025). Microchimerism and pregnancy complications with placental dysfunction. *Seminars in immunopathology*. 2025;47(21). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-025-01045-w>
23. Doshani A, Konje JC. Placental dysfunction in obese women and antenatal surveillance. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2023;91:102407. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2023.102407>
24. Singh B, Bhyan P, Cooper JS. Hyperbaric Cardiovascular Effects. *Treasure Island*. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482231/>
25. Jahan F, Vasam G, Green AE, Bainbridge SA, Menzies KJ. Placental Mitochondrial Function and Dysfunction in Preeclampsia. *International journal of molecular sciences*. 2023;24(4):4177. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24044177>
26. Hoshovska A, Dikal M. Differential characteristics of the means of prevention of primary placental dysfunction in women with inflammatory diseases of the female genital organs. *Odessa Journal of Medicine*. 2025;1(192):41–7. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-1-8>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри акушерства та гінекології №1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України «Інноваційні підходи до діагностики та корекції патології вагітності, пологів та захворювань репродуктивної системи у жінок», номер державної реєстрації: 0125U003253, прикладна, термін виконання: 2025–2029 рр., керівник – завідувач кафедри акушерства та гінекології №1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, доктор медичних наук, професор М.О. Щербина.

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Обсерваційний та одноцентровий характер не дає підстав для причинних висновків і зберігає ризик селекційного зміщення та залишкової змішувальності дії, попри використання багатфакторних моделей, підбору за схильністю та інших підходів до контролю змішувальних чинників. Розмір і склад вибірки [n = 105; ключові характеристики: вагітні жінки віком 18–40 років в терміні вагітності 16–18 тижнів, що стояли на обліку в жіночій консультації або проходили стаціонарне лікування в Комунальному некомерційному підприємстві Харківської обласної ради «Обласний клінічний перинатальний центр»] обмежують точність оцінок і переносимість результатів з огляду на особливості маршрутизації пацієнтів і практик надання допомоги в Україні. Для мінімізації впливів стандартизовано вимірювання, проведено навчання оцінювачів, за можливості застосовано засліплення, виконано аналізи чутливості. Узагальнюваність висновків обмежена контекстом; підтвердження потребує проспективних мультицентрових досліджень, обґрунтованим розрахунком потужності, зовнішньою валідацією та дотриманням Належної клінічної практики (Good Clinical Practice – GCP).

Connection of the work with scientific programs, plans, and topics

The article is a fragment of the planned research work of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine «Innovative approaches to the diagnosis and correction of pregnancy pathology, childbirth, and diseases of the female reproductive system», state registration number: 0125U003253, applied, implementation period: 2025–2029, supervisor – Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Doctor of Medical Sciences, Professor M.O. Shcherbyna.

Study limitations

The authors of the manuscript acknowledge that the presented study has limitations due to its design and implementation. The observational and single-center nature does not provide grounds for causal conclusions and retains the risk of selection bias and residual confounding, despite the use of multivariate models, propensity-matching, and other approaches to controlling for confounding factors. The sample size and composition [n = 105; key characteristics: pregnant women aged 18–40 years at 16–18 weeks of gestation, registered at an antenatal clinic or receiving inpatient treatment at the MNE KRC Regional Clinical Perinatal Center] limit the accuracy of the estimates and the portability of the results given the peculiarities of patient routing and care practices in Ukraine. To minimize bias, measurements were standardized, raters were trained, blinded where possible, and sensitivity analyses were performed. The generalizability of the findings is limited by context; confirmation requires prospective multicenter studies, reasonable power calculations, external validation, and adherence to good clinical practice (GCP).

Перспективи подальших досліджень

Дане дослідження є частиною дисертаційної роботи на здобуття ступеня доктора філософії з метою вивчення прогностичних та діагностичних маркерів плацентарної недостатності, визначення можливостей оксигенотерапії в терапії даного захворювання. Заплановано подальше дослідження захисної, транспортної та ендокринної функцій плаценти.

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 проведення дослідження.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Інформована згода на участь у дослідженні була отримана від усіх учасників після надання їм зрозумілої, повної та доступної інформації про мету, дизайн і методологію дослідження, його потенційні ризики, очікувані переваги та можливі альтернативи. Усі учасники підтвердили свою добровільну участь шляхом підписання документа про інформовану згоду. Дослідження схвалене Комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (витяг з протоколу від 17 жовтня 2023 р.).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Prospects for further research

This study is part of a Doctor of Philosophy thesis to study prognostic and diagnostic markers of placental insufficiency, to determine the possibilities of oxygen therapy in the treatment of this disease. Further research into the protective, transport and endocrine functions of the placenta is planned.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare 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 materials provided or which sponsored the research.

Ethics statement

The authors of the manuscript consciously certify that the study was conducted using data from primary medical documentation and included clinical observations of patients. The study was conducted in accordance with the ethical standards of the Helsinki Declaration of the World Medical Association on the ethical principles of conducting scientific medical research involving human participants, the European Society Directive 86/609 on the participation of humans in biomedical research, as well as the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 of September 23, 2009. Informed consent to participate in the study was obtained from all participants after providing them with clear, complete and accessible information about the purpose, design and methodology of the study, its potential risks, expected benefits and possible alternatives. All participants confirmed their voluntary participation by signing an informed consent document. The study was approved by the Ethics and Bioethics Commission of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (excerpt from protocol dated October 17, 2023).

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that in the process of conducting the study and preparing this manuscript, they did not use any tools or services of generative artificial intelligence to perform any tasks listed in the Taxonomy of delegation of tasks to generative artificial intelligence «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed without the involvement of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that the results of their own clinical studies were used in the work, which were systematized and analyzed by the authors. Primary data include patient summary data, laboratory results, protocols, and quantitative characteristics obtained. All materials are stored in the research team's archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, taking into account confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Фінансування за власні кошти.

Funding information

Financing at own expense.

Подяка

Висловлюємо подяку співробітникам Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласний клінічний перинатальний центр» за надання клінічної бази для проведення дослідження, сприяння та підтримку в обстеженні вагітних.

Acknowledgments

We would like to express our gratitude to the employees of the Clinical Research Center of the OKPC for providing a clinical base for conducting the study, assistance and support in the examination of pregnant women.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Щербина Микола Олександрович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології №1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

mob.: +38 (057) 712-00-82

Внесок автора: формулювання мети роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, редагування тексту статті.

Діхтяренко Вікторія Олегівна – аспірант кафедри акушерства та гінекології №1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

mob.: +38 (095) 573-13-81

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, написання тексту статті, проведення експериментальних досліджень, аналіз отриманих даних та їх статистична обробка, формулювання висновків.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Shcherbina Mykola Oleksandrovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: hnm_u_akusherstvo1@ukr.net

mob.: +38 (057) 712-00-82

Author's contribution: formulation of the purpose of the work, participation in conducting experimental research, editing the text of the article, formulation of conclusions.

Dikhtiarenko Viktoriya Olehivna – postgraduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: voaralova.po23@knmu.edu.ua

mob.: +38 (095) 573-13-81

Author's contribution: selection of literature sources on the topic of the work, writing the text of the article, conducting experimental studies, analysis of the obtained data and their statistical processing.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
21.05.2025

Отримано після рецензування
Received after review
26.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-08>
УДК: 612.39:572.084:591.5



Морфологічні особливості шлунка щурів за умов інтервального голодування

Гордієнко Г.Р., [ORCID](https://orcid.org/0009-0008-9188-568X) <https://orcid.org/0009-0008-9188-568X>, e-mail: cherry120488@gmail.com
Сікора В.З., [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-6545-8678) <https://orcid.org/0000-0001-6545-8678>, e-mail: vitaliy.sikora@med.sumdu.edu.ua

Сумський державний університет
Міністерства освіти і науки України, Суми, Україна

Morphological features of the stomach of rats under conditions of intermittent fasting

Hordiienko H.R., [ORCID](https://orcid.org/0009-0008-9188-568X) <https://orcid.org/0009-0008-9188-568X>, e-mail: cherry120488@gmail.com
Sikora V.Z., [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-6545-8678) <https://orcid.org/0000-0001-6545-8678>, e-mail: vitaliy.sikora@med.sumdu.edu.ua

Sumy State University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, Ukraine

Ключові слова:

голодування, інтервальне голодування, шлунок, морфологічні зміни, гістологія, гістохімія.

Для кореспонденції:

Гордієнко Ганна Реджепівна
Сумський державний університет Міністерства освіти і науки України, кафедра морфології;
вул. Санаторна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40018;
e-mail: cherry120488@gmail.com

© Гордієнко Г.Р., Сікора В.З., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. За останні десять років інтервальне голодування набуло значної популярності як серед населення, так і серед наукової спільноти. Проте його вплив на організм ще не достатньо вивчений та потребує подальшого дослідження.

Мета роботи – встановлення закономірностей впливу інтервального голодування на морфологічні зміни шлунка лабораторних щурів.

Матеріали та методи. 72 білих лабораторних щурів було розподілено на одну контрольну та три експериментальні серії по 18 тварин кожна. Перша контрольна серія харчувалась в межах фізіологічної норми. Друга експериментальна серія харчувалась в режимі інтервального голодування «доба їжі : доба голодування» протягом тижня; третя – протягом двох тижнів, четверта – протягом чотирьох тижнів.

Результати. У слизовій оболонці шлунка інтактних щурів відсутні ознаки атрофії, відмічається незначна фізіологічна десквамация поверхневого епітелію, присутні PAS-позитивні накопичення у власній пластинці слизової оболонки. Після інтервального голодування протягом тижня збільшились явища десквамации епітелію, з'явився набряк та запальні елементи, помітно збільшилась кількість PAS-позитивного секрету в апікальних частинах залозистого епітелію. Після двох тижнів голодування попередні патологічні зміни посилились, до них додалися крововиливи та неметапластична атрофія, слизова оболонка шлунка містила рожеві депозити у міжклітинних та міжзалозистих просторах. Після чотирьох тижнів голодування спостерігались явища склерозу, дистрофічні зміни епітелію та виразні атрофічні зміни слизової, відбулося просякнення PAS-позитивним секретом сполучної тканини власної пластинки та нижніх відділів слизової оболонки.

Висновки. Інтервальне голодування у режимі «доба голодування: доба доступу до їжі» спричиняє виразні морфологічні зміни слизової оболонки шлунка щурів (дистрофія, атрофія, запалення, дисциркуляторні порушення), причому чим більше термін голодування, тим більш виразними є ці зміни.

Для цитування:

Гордієнко Г.Р., Сікора В.З. Морфологічні особливості шлунка щурів за умов інтервального голодування. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 781–791.
DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-08>

Keywords:

fasting, intermittent fasting, stomach, morphological changes, histology, histochemistry.

ABSTRACT

Background. Over the past ten years, intermittent fasting has gained considerable popularity both among the population and among the scientific community. However, its effect on the body has not yet been sufficiently studied and requires further research.

Purpose – to establish the patterns of the influence of intermittent fasting on morphological changes in the stomach of laboratory rats.

For correspondence:

Hordiienko Hanna Redzhepivna
Sumy State University of the Ministry
of Education and Science of Ukraine,
Department of Morphology;
31 Sanatorna Str., Sumy, Ukraine, 40018;
e-mail: cherry120488@gmail.com

© *Hordiienko H.R., Sikora V.Z., 2025*

Materials and Methods. 72 white laboratory rats were divided into one control and three experimental series of 18 animals each. The first control series was fed within the physiological norm. The second experimental series was fed in the intermittent fasting mode «food day: fasting day» for a week; the third – for two weeks, the fourth – for four weeks.

Results. There are no signs of atrophy in the gastric mucosa of intact rats; slight physiological desquamation of the surface epithelium is noted, and PAS-positive accumulations are present in the lamina propria of the mucous membrane. After intermittent fasting for a week, the phenomena of epithelial desquamation increased, edema and inflammatory elements appeared, and the amount of PAS-positive secretion in the apical parts of the glandular epithelium increased significantly. After two weeks of fasting, the previous pathological changes intensified, hemorrhages and non-metaplastic atrophy were added to them, and the gastric mucosa contained pink deposits in the intercellular and interglandular spaces. After four weeks of fasting, the phenomena of sclerosis, dystrophic changes of the epithelium and pronounced atrophic changes of the mucosa were observed; there was a penetration of PAS-positive secretion of the connective tissue of the lamina propria and the lower parts of the mucous membrane.

Conclusions. Intermittent fasting in the mode of «fasting day: access to food day» causes pronounced morphological changes in the gastric mucosa of rats (dystrophy, atrophy, inflammation, dyscirculatory disorders), and the longer the fasting period, the more pronounced these changes are.

For citation:

Hordiienko HR, Sikora VZ. Morphological features of the stomach of rats under conditions of intermittent fasting. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):781–791. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-08>

ВСТУП

Інтервальне голодування (ІГ) – один із дієтичних підходів, який базується не на традиційному обмеженні калорій, а на обмеженні часу прийому їжі [1]. Виділяють три основні види ІГ: голодування через день (день голодування : день харчування); голодування з обмеженням часу кожен день (12 годин голодування: 12 годин харчування або 16 годин голодування : 8 годин харчування) та дієта 5:2 (5 днів звичайного харчування : 2 дні обмеженого споживання калорій) [2].

За останні десять років інтервальне голодування набуло значної популярності як серед населення, так і серед наукової спільноти. Попередні дослідження показують ефективність даних дієт для зниження маси тіла у порівнянні з постійним обмеженням калорій [3].

Деяким людям психологічно легше голодувати певний проміжок часу, ніж дотримуватись постійних обмежень [4]. Проте харчування під час інтервального голодування повинне бути збалансованим, а не сприятимись як «їж все, що хочеш, та не товстій» [5].

Активно проводяться дослідження впливу ІГ на метаболічні зміни, серцево-судинну систему, циркадні ритми та навіть лікування нейродегенеративних захворювань [6–9]. Проте його вплив на організм, зокрема на шлунково-кишковий тракт, ще не достатньо вивчений та потребує подальшого дослідження.

Мета роботи – встановлення закономірностей впливу інтервального голодування на морфологічні зміни шлунка лабораторних щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Збір зразків

Дизайном дослідження було передбачено вивчення впливу інтервального голодування на шлунок білих лабораторних щурів. Піддослідних тварин утримували у віварії Навчально-наукового медичного інституту

INTRODUCTION

Intermittent fasting (IF) is a dietary approach based not on traditional calorie restriction, but on restricting the eating time [1]. There are three main types of IF: alternate-day fasting (fasting day: eating day); time-restricted fasting every other day (12 hours of fasting: 12 hours of eating or 16 hours of fasting: 8 hours of eating); and the 5:2 diet (5 days of normal eating: 2 days of calorie restriction) [2].

Over the past decade, intermittent fasting has gained considerable popularity among the general public and the scientific community. Preliminary studies show the effectiveness of these diets for weight loss compared to constant calorie restriction [3].

Some people find it psychologically easier to fast for a specific period of time than to adhere to constant restrictions [4]. However, intermittent fasting nutrition should be balanced, and not perceived as «eat whatever you want and not get fat» [5].

Active research is being conducted on the effects of IF on metabolic changes, the cardiovascular system, circadian rhythms and even the treatment of neurodegenerative diseases [6–9]. However, its effects on the body, including the gastrointestinal tract, have not yet been sufficiently studied and require further research.

Objective – to establish the patterns of the effects of intermittent fasting every other day on morphological changes in the stomach of laboratory rats.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Sample collection

The study design included studying the effect of intermittent fasting on the stomach of white laboratory rats. The experimental animals were kept in the vivarium of the Academic and Research Medical Institute of Sumy

Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України. Усі щури (72 тварини) були розподілені на групи – одну контрольну та три експериментальних серії. До першої (контрольної – КС1) серії увійшло 18 інтактних щурів, які годувались в звичайному режимі в межах фізіологічної норми. До другої (експериментальної – ЕС2) серії увійшло 18 щурів, які годувались в режимі інтервального голодування «доба їжі : доба голодування») протягом тижня; до третьої (ЕС3) – протягом двох тижнів, до четвертої (ЕС4) – протягом чотирьох тижнів. Загальна тривалість експерименту – 28 днів.

Гістологічне дослідження (забарвлення гематоксилином-еозином)

Видалені шлунки щурів фіксувались протягом 24 годин в 10% розчині формаліну. Після цього вирізалися слайси тканин, які підлягали зневодненню та заливці парафіном в апараті «АТ 1010» (ЕКА, Україна). Зрізи тканин товщиною 5-7 мікрметрів виготовлялись за допомогою ротаційного мікротома Shandon Finesse 325 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Для виготовлення фото користувались тринокулярним мікроскопом з камерою Zeiss Axiocam ERc 5s (Carl Zeiss, Jena, Germany).

На основі фото гістологічних зображень було проведено морфометричне вимірювання товщини слизової оболонки шлунка щурів за допомогою програми «SEO Scan Lab 3.0». Обчислені дані характеризувались нормальним розподілом (критерій Шапіро-Уїлка) та наведені у вигляді « $M \pm m$ », де M – середнє арифметичне значення, а m – стандартна похибка середнього арифметичного. Для порівняння результатів експериментальних серій з контрольною використовувався критерій Стюдента ($p < 0,05$).

Гістохімічне дослідження методом PAS-реакції

Забарвлення починалось зі стандартного протоколу депарафінізації та дегідратації в розчинах ксилолу та в батареї спиртів зі спадаючою концентрацією етилового спирту з доведенням зразків до дистильованої води.

Зразки тканини шлунка щурів 10 хвилин оброблялись 1% розчином йодної кислоти в темряві, промивались у водопровідній та дистильованій воді. Потім при легкому освітленні на них капали PAS-реагент протягом 10 хвилин, який змивали водопровідною та дистильованою водою. Додатково зразки забарвлювались розчином гематоксиліну Майєра протягом 4-х хвилин та промивались у водопровідній воді. Дегідратація, освітлення та покриття середовищем проводились за стандартним протоколом гістологічного дослідження.

PAS-реагент виготовляли завчасно шляхом кип'ятіння 200 мл 0,5% розчину основного фуксину протягом 5 хвилин, фільтрували розчин при 60–70°C, додавали при 50°C 20 мл 1N соляної кислоти та при 20–25°C 1г бісульфіту натрію.

State University. All rats (72 animals) were divided into one control and three experimental series. The first (control – CS1) series included 18 intact rats that were fed in the usual mode within the physiological norm. The second (experimental – ES2) series included 18 rats that were fed in the intermittent fasting mode «food day : fasting day») for a week; the third (ES3) – for two weeks, the fourth (ES4) – for four weeks. The total duration of the experiment was 28 days.

Histological examination (hematoxylin-eosin staining)

The removed rat stomachs were fixed for 24 hours in 10% formalin solution. After that, tissue slices were cut, which were subjected to dehydration and paraffin embedding in the «AT 1010» apparatus (EKA, Ukraine). Tissue sections 5–7 micrometres thick were made using a Shandon Finesse 325 rotary microtome (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). A tricocular microscope with a Zeiss Axiocam ERc 5s camera (Carl Zeiss, Jena, Germany) was used to make photos.

Based on histological slides, morphometric measurements of gastric mucosa thickness in rats were performed using the program «SEO Scan Lab 3.0». The calculated data were characterised by a normal distribution (Shapiro-Wilk test) and are presented in the form « $M \pm m$ », where M is the arithmetic mean, and m is the standard error of the arithmetic mean. To compare the results of the experimental series with the control series, the Student's t-test was used ($p < 0.05$).

Histochemical examination by the PAS reaction method

Staining began with a standard protocol of deparaffinization and dehydration in xylene solutions and in a battery of alcohols with a decreasing concentration of ethyl alcohol, with the samples being brought to distilled water.

Rat stomach tissue samples were treated with 1% iodic acid solution in the dark for 10 minutes, washed in tap and distilled water. Then, under light illumination, PAS reagent was dripped onto them for 10 minutes, which was washed with tap and distilled water. Additionally, the samples were stained with Mayer's hematoxylin solution for 4 minutes and washed in tap water. Dehydration, clarification and coverage with medium were carried out according to the standard histological examination protocol.

PAS reagent was prepared in advance by boiling 200 ml of 0.5% basic fuchsin solution for 5 minutes, filtering the solution at 60–70°C, adding 20 ml of 1N hydrochloric acid at 50°C and 1 g of sodium bisulfite at 20–25°C.

РЕЗУЛЬТАТИ

Згідно з даними гістологічного дослідження шлунка інтактних тварин (рис. 1) передшлунк мав слизову оболонку, вистелену плоским епітелієм з явищами кератозу. Слизова оболонка утворювала виступи і складки за типом сосочків, що мали

RESULTS

According to the histological study of the stomach of intact animals (Fig. 1), the forestomach had a mucous membrane lined with flat epithelium with signs of keratosis. The mucous membrane formed protrusions and folds in the form of papillae, which had a connective tissue

сполучнотканинну основу. Відмічалися явища набряку (зумовлені прободіготовкою), було наявне лущення кератоподібних мас з поверхні слизової оболонки.

Слизова оболонка тіла шлунка була представлена тубулярними шлунковими залозами, які складалися з головних, парієтальних та гермінативних (базальних) клітин. Ознаки атрофії були відсутні, відмічалася незначна (фізіологічна) десквамація поверхневого епітелію.

Слизова оболонка антрального відділу шлунка була представлена тубулярними залозами без парієтальних клітин, товщина оболонки менше, ніж у тілі шлунка.

Згідно з морфометричними вимірюваннями, товщина слизової оболонки шлунка інтактних тварин складала в середньому 1715 ± 67 мкм.

base. There were signs of edema (caused by sample preparation), and there was peeling of keratoid masses from the surface of the mucous membrane.

The mucous membrane of the body of the stomach was represented by tubular gastric glands, which consisted of chief, parietal and germinative (basal) cells. There were no signs of atrophy; there was a slight (physiological) desquamation of the surface epithelium.

The mucous membrane of the antrum of the stomach was represented by tubular glands without parietal cells; the thickness of the membrane was less than in the body of the stomach.

According to morphometric measurements, the thickness of the gastric mucosa of intact animals was on average 1715 ± 67 μm .

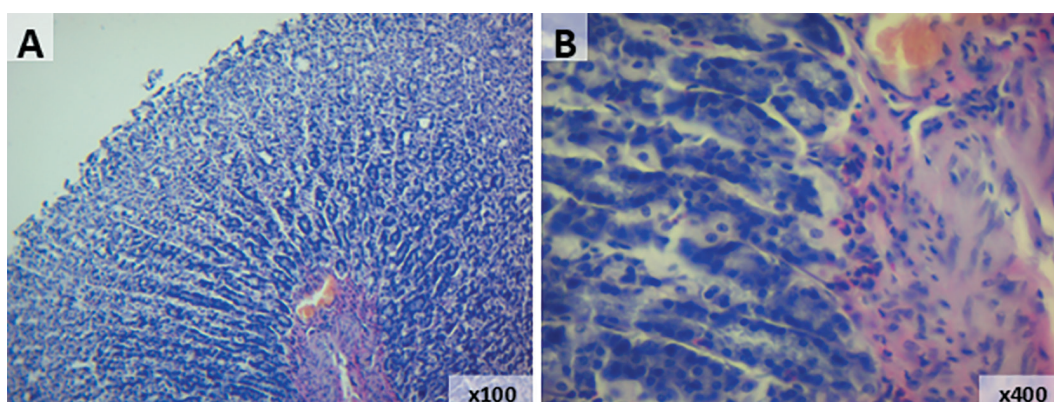


Рис. 1. Гістологічне дослідження шлунка щурів першої контрольної серії KC1 (забарвлення гематоксилином-еозином)
Fig. 1. Histological examination of the stomach of rats of the first control series CS1 (hematoxylin-eosin staining)

Після періоду інтервального голодування тривалістю один тиждень (рис. 2) у слизовій оболонці шлунка щурів у всіх відділах (за винятком передшлунку) виявлялися явища підвищеної десквамації епітелію поверхневого шару, набряк, потовщення власної пластики слизової оболонки. Серед залозистого епітелію було виявлено підвищення кількості лімфоцитів та плазмочитів, невелику кількість еозинофілів. Також було виявлено повнокров'я дрібних судин, застійні явища у дрібних капілярах.

Згідно з морфометричними вимірюваннями, товщина слизової оболонки шлунка тварин після періоду інтервального голодування тривалістю один тиждень складала в середньому 1364 ± 51 мкм.

After a period of intermittent fasting lasting 1 week (Fig. 2), in the gastric mucosa of rats in all departments (with the exception of the forestomach), there were phenomena of increased desquamation of the epithelium of the surface layer, edema, and thickening of the mucosal layer. Among the glandular epithelium, an increase in the number of lymphocytes and plasma cells, and a small number of eosinophils were found. Also, small vessel hyperemia and congestion in small capillaries were found.

According to morphometric measurements, the thickness of the gastric mucosa of animals after a period of intermittent fasting lasting 1 week was on average 1364 ± 51 μm .

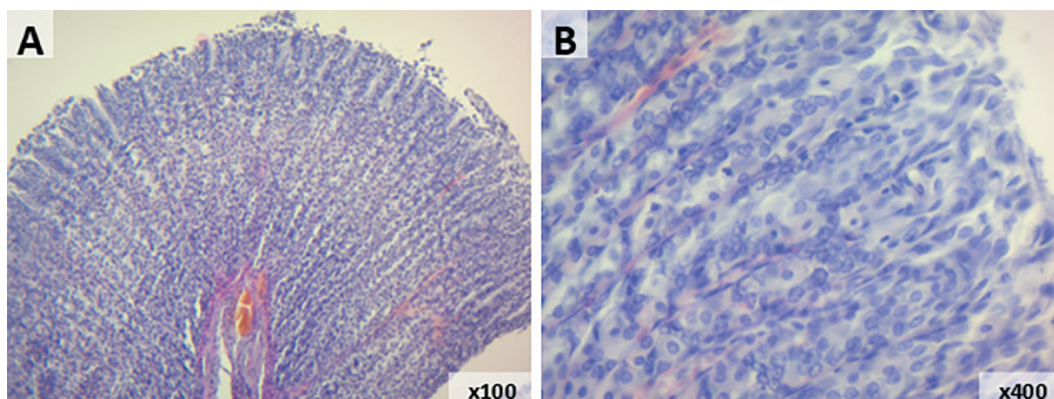


Рис. 2. Гістологічне дослідження шлунка щурів другої експериментальної серії EC2 (забарвлення гематоксилином-еозином)
Fig. 2. Histological examination of the stomach of rats of the second experimental series ES2 (hematoxylin-eosin staining)

Слизова оболонка шлунка щурів піддослідної групи після двох тижнів інтервального голодування (рис. 3) демонструвала помірні зміни. Загальна гістологічна структура слизової оболонки була збережена. Проте спостерігалися поширені явища десквамації поверхневого епітелію, набряк проявлявся збільшенням дистанції між залозами, були наявні крововиливи. Власна пластинка слизової оболонки була потовщена, відмічались склеротичні процеси у нижніх відділах слизової оболонки, явища незначної неметапластичної атрофії. У слизовій оболонці шлунка щурів у всіх відділах зросла кількість запальних клітинних елементів, переважно лімфоцитів, плазмоцитів, зросла частка еозинофілів.

Згідно з морфометричними вимірюваннями, товщина слизової оболонки шлунка тварин після періоду інтервального голодування тривалістю два тижні складала в середньому 1339 ± 15 мкм.

The gastric mucosa of rats in the experimental group after 2 weeks of intermittent fasting (Fig. 3) showed moderate changes. The general histological structure of the mucosa was preserved. However, widespread phenomena of desquamation of the surface epithelium were observed, edema was manifested by an increase in the distance between the glands, and hemorrhages were present. The lamina propria of the mucosa was thickened, sclerotic processes were noted in the lower sections of the mucosa, and phenomena of slight non-metaplastic atrophy were observed. In the gastric mucosa of rats, the number of inflammatory cellular elements increased in all sections, mainly lymphocytes, plasma cells, and the proportion of eosinophils increased.

According to morphometric measurements, the thickness of the gastric mucosa of animals after a period of intermittent fasting lasting 2 weeks was on average 1339 ± 15 μ m.

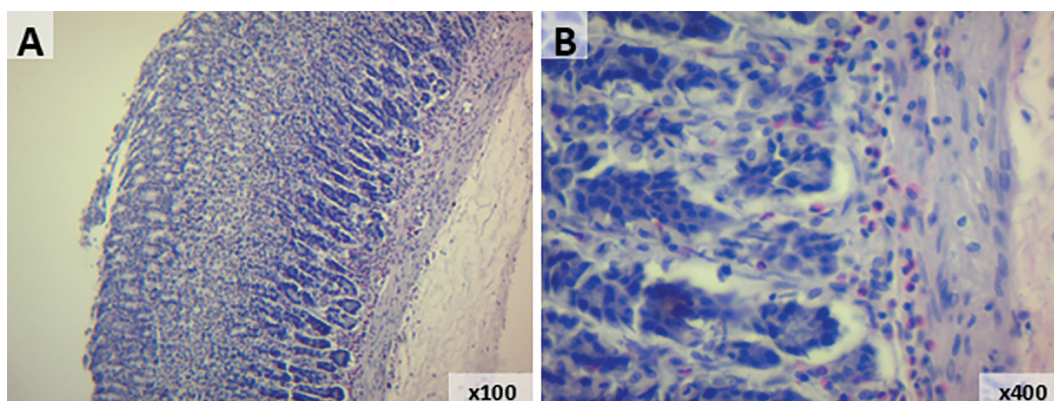


Рис. 3. Гістологічне дослідження шлунка щурів третьої експериментальної серії EC3 (забарвлення гематоксилином-еозином)
Fig. 3. Histological examination of the stomach of rats of the third experimental series ES3 (hematoxylin-eosin staining)

Гістологічне дослідження слизової оболонки шлунків щурів після чотирьох тижнів інтервального голодування (рис. 4) показало такі зміни. У слизовій оболонці всіх відділів відмічався перигландулярний набряк, повнокрів'я судин та крововиливи. У міжзалозистому просторі та нижніх відділах слизової оболонки, власній пластинці спостерігалися явища склерозу, дистрофічні зміни залозистого епітелію, розширення просвіту залоз. Також спостерігалась помірна неметапластична атрофія епітелію. Виявляється підвищена лімфогістіоплазмоцитарна інфільтрація, кількість

Histological examination of the gastric mucosa of rats after 4 weeks of intermittent fasting (Fig. 4) showed the following changes. Periglandular edema, vascular congestion and hemorrhages were noted in the mucosa of all sections. In the interglandular space and lower sections of the mucosa, the lamina propria, sclerosis, dystrophic changes in the glandular epithelium, and enlargement of the glandular lumen were observed. Moderate non-metaplastic atrophy of the epithelium was also observed. Increased lymphohistioplasmacytic infiltration was detected; the number of eosinophils was

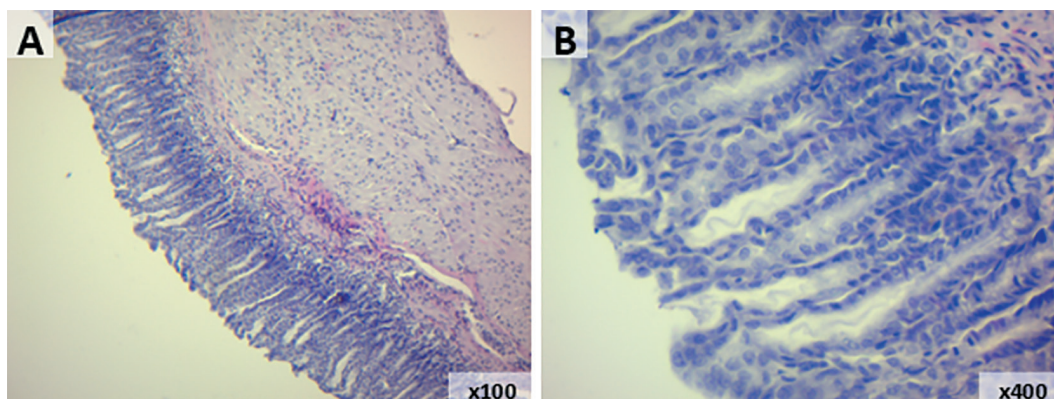


Рис. 4. Гістологічне дослідження шлунка щурів четвертої експериментальної серії EC4 (забарвлення гематоксилином-еозином)
Fig. 4. Histological examination of the stomach of rats of the fourth experimental series ES4 (hematoxylin-eosin staining)

еозинофілів незначна. В окремих випадках було виявлено помітну домішку нейтрофілів у запальному інфільтраті та формування мікроабсцесів у підслизовому шарі слизової оболонки шлунка. Загальна товщина слизової оболонки зменшилась, були присутні виражені атрофічні зміни.

Згідно з морфометричними вимірюваннями, товщина слизової оболонки шлунка тварин після періоду інтервального голодування тривалістю 4 тижні складала в середньому 507 ± 10 мкм.

Узагальнені дані морфометричного вимірювання товщини слизової оболонки шлунка наведені в таблиці 1.

insignificant. In some cases, a noticeable admixture of neutrophils in the inflammatory infiltrate and the formation of microabscesses in the submucosal layer of the gastric mucosa were detected. The total thickness of the mucosa decreased, and pronounced atrophic changes were present.

According to morphometric measurements, the thickness of the gastric mucosa of animals after a period of intermittent fasting lasting 4 weeks was on average 507 ± 10 μ m.

The summarized data of morphometric measurement of gastric mucosa thickness are presented in Table 1.

Таблиця 1. Товщина слизової оболонки шлунка після інтервального голодування
Table 1. Gastric mucosal thickness after intermittent fasting

	KC1 CS1	EC2 ES2	EC3 ES3	EC4 ES4
Товщина слизової оболонки Gastric mucosal thickness	1715 ± 67 μ	1364 ± 51 μ (-20,5%, p<0,001)	1339 ± 15 μ (-21,9%, p<0,001)	507 ± 10 μ (-70,4%, p<0,001)

Умовне градуювання гістологічних знахідок наведене в таблиці 2.

The conditional grading of histological findings is given in Table 2.

Таблиця 2. Морфологічні зміни слизової оболонки шлунка щурів при інтервальному голодуванні
Table 2. Morphological changes in the gastric mucosa of rats during intermittent fasting

	KC1 / CS1	EC2 / ES2	EC3 / ES3	EC4 / ES4
дистрофія dystrophy	—	—	+	+++
атрофія atrophy	—	—	+	+++
запалення inflammation	-	+	++	+++
дисциркуляторні порушення circulatory disorders	+	+	++	+++

За допомогою PAS-реакції було встановлено, що у стінці передшлунку щурів контрольної групи підслизовий шар містив незначні депозити PAS-позитивної речовини та невелику кількість яскравих рожевих клітин серед сполучної тканини, які за фенотипом відповідають фібробластам. З огляду на фенотип та активне накопичення PAS-позитивних речовин у цитоплазмі ці клітини були юними/молодими фібробластами.

Слизова оболонка всіх відділів шлунка щурів контрольної групи мала збережену гістологічну структуру і нормальну товщину. Відмічалось незначне накопичення відкладень рожевого кольору у власній пластинці слизової оболонки щурів. У цитоплазмі парієтальних та головних клітин шлункових залоз помітно незначну кількість рожевих гранул. Загалом спостерігається тенденція незначного збільшення PAS-позитивних деривативів у нижніх відділах слизової оболонки щурів контрольної групи (рис. 5).

Після періоду голодування тривалістю один тиждень у слизовій оболонці шлунка щурів у всіх відділах помітно збільшилась кількість PAS-позитивного секрету в апікальних частинах залозистого епітелію, була присутня незначна кількість секрету у просвіті залоз. Ми виявили інтенсивне накопичення вуглеводнів у базальних мембранах дрібних судин власної пластинки і м'язового шару. Також підвищилось накопичення PAS-позитивних відкладень у сполучнотканинному компоненті стінки шлунка (рис. 6).

Using the PAS reaction, it was found that in the wall of the antrum of rats in the control group, the submucosal layer contained minor deposits of PAS-positive substance and a small number of bright pink cells among the connective tissue, which correspond to fibroblasts by phenotype. Given the phenotype and active accumulation of PAS-positive substances in the cytoplasm, these cells were young/young fibroblasts. The mucous membrane of all sections of the stomach of rats in the control group had a preserved histological structure and normal thickness. A minor accumulation of pink deposits was noted in the lamina propria of the mucous membrane of rats. A minor number of pink granules were noticeable in the cytoplasm of the parietal and chief cells of the gastric glands. In general, there is a tendency for a slight increase in PAS-positive derivatives in the lower sections of the mucous membrane of rats in the control group (Fig. 5).

After a 1-week fasting period, the amount of PAS-positive secretion in the apical parts of the glandular epithelium in the gastric mucosa of rats in all sections was significantly increased, with a small amount of secretion in the lumen of the glands. We found an intense accumulation of hydrocarbons in the basement membranes of small vessels of the lamina propria and the muscularis mucosa. The accumulation of PAS-positive deposits in the connective tissue component of the gastric wall also increased (Fig. 6).

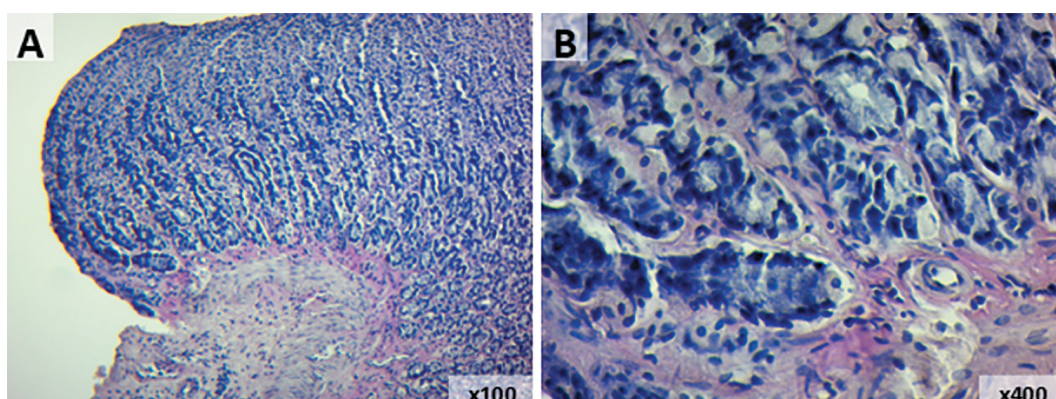


Рис. 5. Гістохімічне дослідження шлунка щурів першої контрольної серії KC1 (забарвлення методом PAS-реакції)
Fig. 5. Histochemical examination of the stomach of rats of the first control series CS1 (PAS)

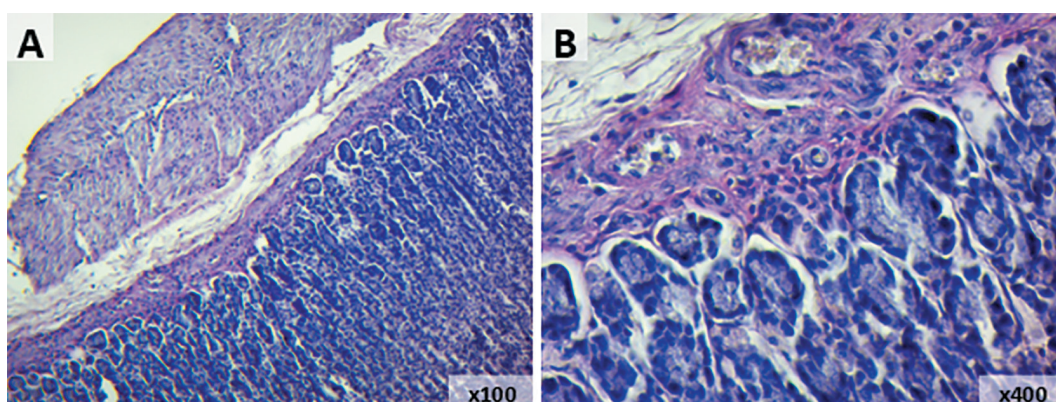


Рис. 6. Гістохімічне дослідження шлунка щурів другої експериментальної серії EC2 (забарвлення методом PAS-реакції)
Fig. 6. Histochemical examination of the stomach of rats of the second experimental series ES2 (PAS)

Ґрунтуючись на проведеній PAS-реакції можна зробити висновок, що слизова оболонка шлунка щурів піддослідної групи після двох тижнів голодування містить підвищену кількість похідних вуглеводнів. Загальна гістологічна структура слизової оболонки залишилась збереженою. Слизова оболонка шлунка щурів у всіх відділах (за винятком передшлунку) містила рожеві депозити у міжклітинних та міжзалозистих просторах. Значна кількість похідних вуглеводнів у вигляді позитивної реакції відмічалась у сполучній тканині, що присутня у власній пластинці та нижніх відділах слизової оболонки шлунка щурів (рис. 7).

Based on the PAS reaction, it can be concluded that the gastric mucosa of rats in the experimental group after 2 weeks of fasting contains an increased amount of hydrocarbon derivatives. The general histological structure of the mucosa remained preserved. The gastric mucosa of rats in all sections (except for the forestomach) contained pink deposits in the intercellular and interglandular spaces. A significant amount of hydrocarbon derivatives in the form of a positive reaction was noted in the connective tissue present in the lamina propria and lower sections of the rat mucosa (Fig. 7).

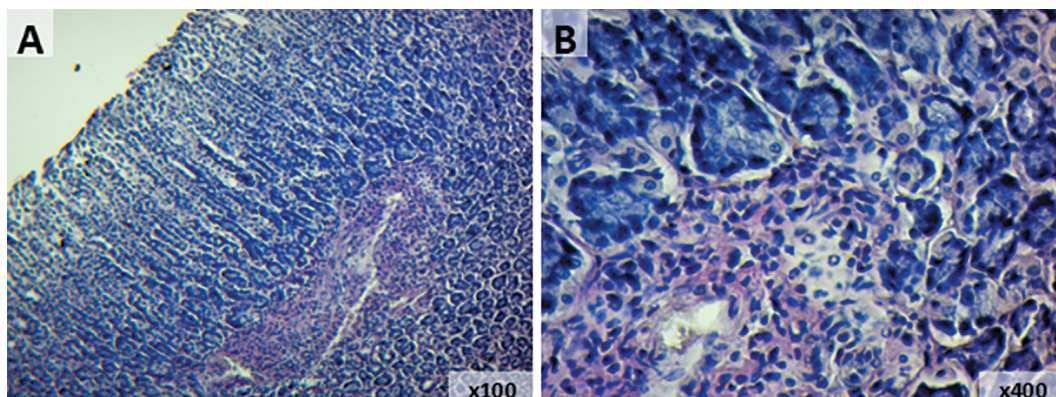


Рис. 7. Гістохімічне дослідження шлунка щурів третьої експериментальної серії EC3 (забарвлення методом PAS-реакції)
Fig. 7. Histochemical examination of the stomach of rats of the third experimental series ES3 (PAS)

Гістохімічне дослідження слизової оболонки шлунків щурів після чотирьох тижнів голодування показало помірне порушення гістологічної структури та дисциркуляторні розлади кровообігу. Кількість похідних вуглеводнів у залозистому епітелії знизилась, проте відбулося накопичення (просякнення) PAS-позитивним секретом сполучної тканини власної пластинки та нижніх відділів слизової оболонки. Значна кількість рожевого субстрату виявлялась у базальних мембранах дрібних судин (капілярів, артеріол, венул). У сполучній тканині зросла кількість PAS-позитивних юних фібробластів (рис. 8).

Histochemical study of the gastric mucosa of rats after 4 weeks of fasting showed a moderate violation of the histological structure and dyscirculatory disorders. The number of hydrocarbon derivatives in the glandular epithelium decreased, but there was an accumulation (permeation) of PAS-positive secretion of the connective tissue of the lamina propria and the lower parts of the mucous membrane. A significant amount of pink substrate was detected in the basal membranes of small vessels (capillaries, arterioles, venules). The number of PAS-positive young fibroblasts in the connective tissue increased (Fig. 8).

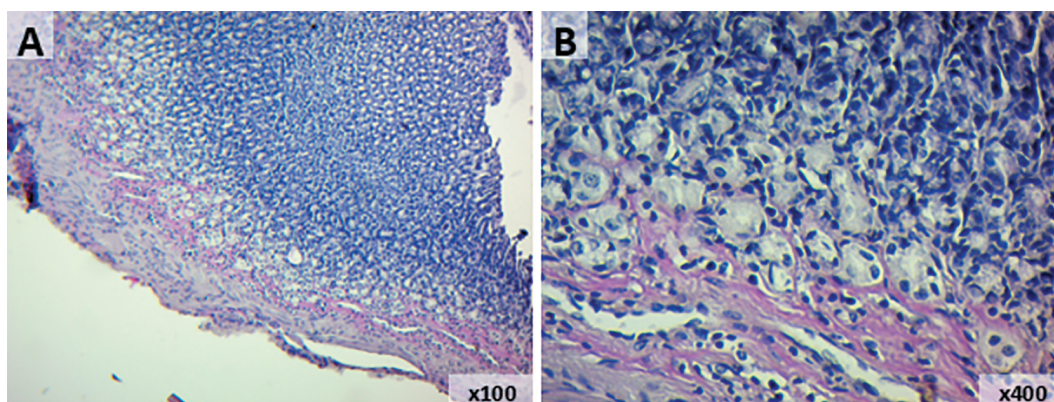


Рис. 8. Гістохімічне дослідження шлунка щурів четвертої експериментальної серії EC4 (забарвлення методом PAS-реакції)
Fig. 8. Histochemical examination of the stomach of rats of the fourth experimental series ES4 (PAS)

ОБГОВОРЕННЯ

На сьогодні для лікування ожиріння у всьому світі застосовується працююча формула «гіпокалорійна дієта + фізичні навантаження», яка сприяє дефіциту енергії та зменшенню маси тіла, як у людей, так і у тварин [10].

Інтервальне голодування, як різновид гіпокалорійної дієти, може бути компонентом ефективного схуднення, проте його вплив на організм людини потребує детального вивчення. В цьому дослідженні ми зосередились на одному із популярних різновидів ІГ – альтернативному голодуванню (голодуванню через день).

У дослідженні Beckmann et al. (2023), в якому вивчали вплив альтернативного голодування на організм щурів, автори описують прискорення моторики в шлунку та сповільнення в тонкій кишці, а також несприятливі морфологічні зміни в стінці кишки, такі як збільшення глибини крипт [11].

У іншому дослідженні Munhoz et al. (2020) було встановлено, що після 12 тижнів ІГ в режимі альтернативного голодування, незважаючи на загальне зменшення маси тіла щурів, у них збільшився відсоток жирової тканини та зменшився відсоток м'язової маси. Крім того, ІГ сприяло дисфункції підшлункової залози [12].

У нашій роботі за допомогою гістологічного дослідження слизової оболонки шлунка щурів було встановлено, що ІГ у форматі альтернативного голодування спричиняє значні морфологічні зміни (дистрофія, атрофія, запалення, дисциркуляторні порушення), причому чим більше термін голодування, тим більш виразними є ці зміни. Після чотирьох тижнів голодування спостерігався набряк слизової оболонки у всіх відділах,

DISCUSSION

Today, the working formula «hypocaloric diet + physical activity» is used worldwide to treat obesity, which causes energy deficit and weight loss in both humans and animals [10].

Intermittent fasting, as a type of hypocaloric diet, can be a component of effective weight loss, but its effect on the human body requires detailed study. In this study, we focused on one of the popular types of IF – alternate-day fasting (every other day fasting).

In the study by Beckmann et al. (2023), which studied the effect of alternate-day fasting on the body of rats, the authors describe the acceleration of motility in the stomach and deceleration in the small intestine, as well as adverse morphological changes in the intestinal wall, such as an increase in the depth of the crypts [11].

In another study by Munhoz et al. (2020), it was found that after 12 weeks of IF in the alternate fasting mode, despite the overall decrease in body weight of rats, their percentage of adipose tissue increased, and their percentage of muscle mass decreased. In addition, IG contributed to pancreatic dysfunction [12].

In our work, using a histological study of the gastric mucosa of rats, it was found that IF in the alternate fasting format causes significant morphological changes (dystrophy, atrophy, inflammation, dyscirculatory disorders), and the longer the fasting period, the more pronounced these changes are. After four weeks of fasting, edema of the mucous membrane was observed in all departments, sclerosis of the lamina propria, dystrophic changes in the glandular epithelium, expansion of the

склероз власної пластинки, дистрофічні зміни залозистого епітелію, розширення просвіту залоз, виражені атрофічні зміни та навіть формування мікроабсцесів.

Згідно з морфометричними вимірюваннями товщина слизової оболонки у всіх експериментальних серіях у порівнянні з контрольною була достовірно меншою ($p < 0,001$), причому після чотирьох тижнів вона ще більше зменшилась у порівнянні з тижнем та двома тижнями експерименту ($p < 0,001$). Ці знахідки є тривожними та нагадують зміни в шлунку при постійному голодуванні.

ВИСНОВКИ

Інтервальне голодування у режимі альтернативного голодування («доба голодування: доба доступу до їжі») спричиняє виразні морфологічні зміни слизової оболонки шлунка щурів (дистрофія, атрофія, запалення, дисциркуляторні порушення), причому чим більше термін голодування, тим більш виразними є ці зміни. Згідно з морфометричними вимірюваннями товщина слизової оболонки відносно контрольної серії після одного тижня інтервального голодування достовірно зменшилась на 20,5% ($p < 0,001$), після двох тижнів – на 21,9% ($p < 0,001$), після чотирьох тижнів – на 70,4% ($p < 0,001$). Альтернативне голодування несприятливо впливає на слизову оболонку шлунка щурів та потребує більш детального вивчення на тваринах та людях, адже його шкідливість може перевищити потенційну користь.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Vasim I., Majeed C. N., DeBoer M. D. Intermittent Fasting and Metabolic Health. *Nutrients*. 2022. № 14 (3). P. 631. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14030631>
2. Elortegui Pascual P., Rolands M. R., Eldridge A. L., et al. A meta-analysis comparing the effectiveness of alternate day fasting, the 5:2 diet, and time-restricted eating for weight loss. *Obesity*. 2023. №31 (S1). P. 9–21. <https://doi.org/10.1002/oby.23568>
3. Catenacci V. A., Ostendorf D. M., Pan Z., et al. The Effect of 4:3 Intermittent Fasting on Weight Loss at 12 Months: A Randomized Clinical Trial. *Annals of Internal Medicine*. 2025. №178 (5). P. 634–644. DOI: <https://doi.org/10.7326/ANNALS-24-01631>
4. Huo L., Li Y., Fu Y., et al. Effects of Intermittent Fasting on Anxiety and the Functional Connectivity of the Amygdala in Healthy Adults. *Alpha Psychiatry*. 2025. №26 (3). DOI: <https://doi.org/10.31083/AP44384>
5. Pérez-Kast R. C., Huerta-Canseco C., Camacho-Morales A. Potential Role of Intermittent Fasting on Food Reward-Related Responses. *Journal of Neurochemistry*. 2025. №169 (8). DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.70195>
6. Mishra A., Sobha D., Patel D., et al. Intermittent fasting in health and disease. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2024. №130 (6). P.755–767. DOI: <https://doi.org/10.1080/13813455.2023.2268301>
7. Kibret K. T., Peeters A., Tegegne T. K., et al. Intermittent Fasting for the Prevention of Cardiovascular Disease Risks: Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Current Nutrition Reports*. 2025. №14 (93). DOI: <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00684-7>
8. Zhang J., Chen Y., Zhong Y., et al. Intermittent fasting and cardiovascular health: a circadian rhythm-based approach. *Science bulletin*. 2025. №70 (14). P. 2377–2389. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scib.2025.05.017>
9. Lv R., Liu B., Jiang Z., et al. Intermittent fasting and neurodegenerative diseases: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Metabolism*. 2025. №164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2024.156104>
10. Olateju I. V., Opaleye-Enakhimion T., Udeogu J. E., et al. A systematic review on the effectiveness of diet and exercise in the management of obesity. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2023. №17 (4). P. 102759. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2023.102759>

glandular lumen, pronounced atrophic changes, and even the formation of microabscesses.

According to morphometric measurements, the thickness of the mucous membrane in all experimental series compared to the control was significantly lower ($p < 0.001$), and after four weeks it decreased even more compared to a week and two weeks of the experiment ($p < 0.001$). These findings are alarming and resemble changes in the stomach during constant fasting.

CONCLUSIONS

Intermittent fasting in the alternate fasting mode («fasting day: food access day») causes pronounced morphological changes in the gastric mucosa of rats (dystrophy, atrophy, inflammation, dyscirculatory disorders), and the longer the fasting period, the more pronounced these changes are. According to morphometric measurements, the thickness of the mucous membrane relative to the control series after one week of intermittent fasting significantly decreased by 20.5% ($p < 0.001$), after two weeks by 21.9% ($p < 0.001$), and after four weeks by 70.4% ($p < 0.001$). Alternate fasting adversely affects the gastric mucosa of rats and requires more detailed study in animals and humans, as its harm may exceed the potential benefit.

REFERENCES

1. Vasim I., Majeed CN, DeBoer MD. Intermittent Fasting and Metabolic Health. *Nutrients*. 2022;14(3):631. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14030631>
2. Elortegui Pascual P, Rolands MR, Eldridge AL, Kassiss A, Mainardi F, Kim-Anne L, et al. A meta-analysis comparing the effectiveness of alternate day fasting, the 5:2 diet, and time-restricted eating for weight loss. *Obesity*. 2023;31(S1):9–21. <https://doi.org/10.1002/oby.23568>
3. Catenacci VA, Ostendorf DM, Pan Z, Kaizer LK, Creasy SA, Zaman A, et al. The Effect of 4:3 Intermittent Fasting on Weight Loss at 12 Months A Randomized Clinical Trial. *Ann Intern Med*. 2025;178(5):634–44. DOI: <https://doi.org/10.7326/ANNALS-24-01631>
4. Huo L, Li Y, Fu Y, Yang Z, Jia L, Li C, et al. Effects of Intermittent Fasting on Anxiety and the Functional Connectivity of the Amygdala in Healthy Adults. *Alpha Psychiatry*. 2025;26(3). DOI: <https://doi.org/10.31083/AP44384>
5. Pérez-Kast RC, Huerta-Canseco C, Camacho-Morales A. Potential Role of Intermittent Fasting on Food Reward-Related Responses. *J Neurochem*. 2025;169(8). DOI: <https://doi.org/10.1111/jnc.70195>
6. Mishra A, Sobha D, Patel D, Suresh PS. Intermittent fasting in health and disease. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2024;130(6):755–67. DOI: <https://doi.org/10.1080/13813455.2023.2268301>
7. Kibret KT, Peeters A, Tegegne TK, Mesfin YM, Nichols M. Intermittent Fasting for the Prevention of Cardiovascular Disease Risks: Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Current Nutrition Reports*. 2025;14(1). DOI: <https://doi.org/10.1007/s13668-025-00684-7>
8. Zhang J, Chen Y, Zhong Y, Wang Y, Huang H, Xu W, et al. Intermittent fasting and cardiovascular health: a circadian rhythm-based approach. *Science bulletin*. 2025;70(14):2377–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scib.2025.05.017>
9. Lv R, Liu B, Jiang Z, Zhou R, Liu X, Lu T, et al. Intermittent fasting and neurodegenerative diseases: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Metabolism*. 2025;164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2024.156104>
10. Olateju IV., Opaleye-Enakhimion T, Udeogu JE, Asuquo J, Olaleye KT, Osa E, et al. A systematic review on the effectiveness of diet and exercise in the management of obesity. *Diabetes & metabolic syndrome*. 2023;17(4). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2023.102759>

11. Beckmann A. P. S., Gama L. A., Machado M. P. R., et al. Alternate-day fasting induces metabolic and morphofunctional changes in the gastrointestinal tract of male rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2023. №48 (7). P. 535–543. DOI: <https://doi.org/10.1139/apnm-2022-0356>
12. Munhoz A. C., Vilas-Boas E. A., Panveloski-Costa A. C., et al. Intermittent fasting for twelve weeks leads to increases in fat mass and hyperinsulinemia in young female wistar rats. *Nutrients*. 2020. №12 (4). P. 1029. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12041029>

11. Beckmann APS, Gama LA, Machado MPR, Alves WDL, Corá LA, Américo MF. Alternate-day fasting induces metabolic and morphofunctional changes in the gastrointestinal tract of male rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2023;48(7):535–43. DOI: <https://doi.org/10.1139/apnm-2022-0356>
12. Munhoz AC, Vilas-Boas EA, Panveloski-Costa AC, Leite JSM, Lucena CF, Riva P, et al. Intermittent fasting for twelve weeks leads to increases in fat mass and hyperinsulinemia in young female wistar rats. *Nutrients*. 2020;12(4). DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12041029>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що інтерпретація результатів обмежена видовими чинниками. Розмір груп (по 18 щурів) та відсутня рандомізація знижують точність дослідження, переносимість результатів на людину обмежена.

Study limitations

The authors of the manuscript consciously declare that the interpretation of the results is limited by species factors. The size of the groups (18 rats each) and the lack of randomisation reduce the accuracy of the study, and the transferability of the results to humans is limited.

Перспективи подальших досліджень

Вплив інтервального голодування потребує подальших досліджень для вибору найбільш безпечної схеми голодування.

Prospects for further research

The effect of intermittent fasting requires further research to select the safest fasting scheme.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують, що не мають конфлікту інтересів.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare that they have no conflict of interest.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що під час дослідження керувалися Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та загальними етичними принципами експериментів на тваринах, що були затверджені на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001). Дослідження було схвалене етичною комісією Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України (протокол №5/6 від 12 червня 2025 року).

Compliance with ethical norms

The authors of the manuscript consciously declare that during the study, they were guided by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) and the general ethical principles of animal experiments approved at the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001). The study was approved by the ethics committee of the Educational and Scientific Medical Institute of Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (protocol No. 5/6 dated June 12, 2025).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки рукопису не використовували жодних інструментів та сервісів генеративного штучного інтелекту. Усі етапи дослідження та написання рукопису були виконані виключно авторами.

Use of artificial intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that they did not use any tools and services of generative artificial intelligence in the process of conducting the study and preparing the manuscript. All stages of the study and writing the manuscript were performed exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використані результати власних експериментальних досліджень. Первинні дані збережені в архіві авторів та можуть бути надані за обґрунтованим запитом автору-кореспонденту.

Primary data and materials

The authors of the manuscript consciously certify that the results of their own experimental research were used in the work. Primary data are stored in the authors' archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author.

Інформація про фінансування

Дослідження проводилося з ініціативи авторів та не фінансувалося жодним джерелом.

Information on funding

The study was conducted on the initiative of the author and was not funded by any source.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Гордієнко Ганна Реджепівна – аспірант кафедри морфології Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України, вул. Санаторна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40018;
e-mail: cherry120488@gmail.com

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Hordiienko Hanna Redzhepivna – Postgraduate student of the Department of Morphology of the Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 31 Sanatorna Str., Sumy, Ukraine, 40018;
e-mail: cherry120488@gmail.com

моб.: +38 (095) 688-88-03

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою дослідження, проведення експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.

Сікора Віталій Зіновійович – доктор медичних наук, професор кафедри морфології Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України, вул. Санаторна, буд. 31, м. Суми, Україна, 40018;

е-mail: vitaliy.sikora@med.sumdu.edu.ua

моб.: +38 (099) 165-05-99

Внесок автора: формулювання мети роботи, аналіз результатів, критичний перегляд рукопису.

tel.: +38 (095) 688-88-03

Author's contribution: selection of literary sources on the topic of the study, conducting experimental research, writing the text of the article, and formulating conclusions.

Sikora Vitalii Zinoviiovych – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Morphology of the Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 31 Sanatorna Str., Sumy, Ukraine, 40018;

е-mail: vitaliy.sikora@med.sumdu.edu.ua

tel.: +38 (099) 165-05-99

Author's contribution: formulation of the purpose of the work, analysis of the results, critical review of the manuscript.

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 29.08.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 03.10.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-09>
УДК: 616.127-002:612.08



Кверцетин захищає міокард від впливу кетаміну

Микитенко А.О., <https://orcid.org/0000-0002-4205-2699>, e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua
Пономаренко В.О., <https://orcid.org/0009-0006-4430-3224>, e-mail: viktoriyaponomarenko14@gmail.com
Якобчук В.А., <https://orcid.org/0009-0004-8870-4754>, e-mail: volodumur.yakobenchuk@gmail.com
Зборовська А.І., <https://orcid.org/0009-0004-5889-7364>, e-mail: zborovskayaalina4@gmail.com
Акімов О.Є., <https://orcid.org/0000-0002-4958-3695>, e-mail: o.akimov@pdmu.edu.ua
Непорада К.С., <https://orcid.org/0000-0001-5430-346X>, e-mail: k.neporada@pdmu.edu.ua

Полтавський державний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Полтава, Україна

Quercetin protects the myocardium from the effects of ketamine

Mykytenko A.O., <https://orcid.org/0000-0002-4205-2699>, e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua
Ponomarenko V.O., <https://orcid.org/0009-0006-4430-3224>, e-mail: viktoriyaponomarenko14@gmail.com
Yakobenchuk V.A., <https://orcid.org/0009-0004-8870-4754>, e-mail: volodumur.yakobenchuk@gmail.com
Zborovska A.I., <https://orcid.org/0009-0004-5889-7364>, e-mail: zborovskayaalina4@gmail.com
Akimov O.Ye., <https://orcid.org/0000-0002-4958-3695>, e-mail: o.akimov@pdmu.edu.ua
Neporada K.S., <https://orcid.org/0000-0001-5430-346X>, e-mail: k.neporada@pdmu.edu.ua

Poltava State Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Poltava, Ukraine

Ключові слова:

кетамін, кверцетин, оксидативний стрес, нітрозативний стрес, кардіотоксичність, сірководень.

Для кореспонденції:

Микитенко Андрій Олегович
Полтавський державний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра біологічної та біоорганічної хімії;
вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;
e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua

© Микитенко А.О., Пономаренко В.О.,
Якобчук В.А., Зборовська А.І.,
Акімов О.Є., Непорада К.С., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Водорозчинна форма кверцетину – корвітин потенційно може бути корисним для профілактики ускладнень короточасної анагезії кетаміном у дітей та дорослих, а також попереджати uszkodження міокарда за умов лікування депресії та посттравматичного стресового розладу.

Мета роботи – встановити вплив кверцетину на міокард щурів за умов кетамін-індукованої кардіотоксичності.

Матеріали та методи. Експерименти виконані на 24 білих статевозрілих щурах-самцях. Тварини були розподілені на 4 групи: контрольна; щури, яким вводили корвітин внутрішньоочеревинно в дозі 5,2 мг/100 г; щури, яким вводили кетамін внутрішньоочеревинно в дозі 60 мг/кг з інтервалом кожні 10 хв протягом 3 годин (19 ін'єкцій) і група тварин, яким до введення кетаміну вводили корвітин.

Результати. Введення кверцетину за 10 хв до моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності призвело до зниження загальної активності NO-синтаз в міокарді щурів у 1,48 разу, індукційної NO-синтази в 1,5 разу, аргінази в 1,21 разу, вмісту пероксинітритів у 1,44 разу, нітритів у 1,67 разу, продукції супероксидного аніон-радикалу в 1,53 разу, активності каталази в 1,06 разу, вмісту малонового діальдегіду в 1,68 разу, дієнових кон'югатів у 1,2 разу, трієнових кон'югатів в 1,19 разу, октадієнових кон'югатів в 1,59 разу, вільного L-оксипроліну в 1,16 разу і сульфід-аніону в 1,15 разу і підвищення активності супероксиддисмутази в 1,13 разу і вмісту нітрозотіолів у 1,54 разу по відношенню до групи щурів, яким моделювали кетамін-індуковану кардіотоксичність ($p < 0,05$).

Висновки. Введення біофлавоноїду кверцетину на тлі кетамін-індукованої кардіотоксичності попереджає uszkodження кардіоміоцитів шляхом активації антиоксидантного захисту в міокарді та зменшуючи продукцію вільних радикалів кисню та азоту, що попереджає перекисне окиснення ліпідів та колагеноліз, нормалізуючи роботу циклу оксиду азоту.

Для цитування:

Микитенко А.О., Пономаренко В.О., Якобчук В.А., Зборовська А.І., Акімов О.Є., Непорада К.С. Кверцетин захищає міокард від впливу кетаміну. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 792–806. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-09>

Keywords:

ketamine, quercetin, oxidative stress, nitrosative stress, cardiotoxicity, hydrogen sulfide.

For correspondence:

Mykytenko Andrii Olehovich
Poltava State Medical University of the
Ministry of Health of Ukraine, Department
of Biological and Bioorganic Chemistry;
23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine,
36000;
e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua

© Mykytenko A.O., Ponomarenko V.O.,
Yakobenchuk V.A., Zborovska A.I.,
Akimov O.Ye., Neporada K.S., 2025

ABSTRACT

Background. The water soluble form of quercetin, corvutin, may potentially be useful for preventing complications of short-term ketamine analgesia in children and adults, as well as preventing myocardial damage in the treatment of depression and post-traumatic stress disorder.

Purpose – was to determine the effect of quercetin on the myocardium of rats under conditions of ketamine-induced cardiotoxicity.

Materials and Methods. Experiments were performed on 24 white sexually mature male rats. The animals were divided into 4 groups: control; rats that were injected with corvutin intraperitoneally at a dose of 5.2 mg/100 g; rats that were injected with ketamine intraperitoneally at a dose of 60 mg/kg with an interval of every 10 min for 3 hours (19 injections) and a group of animals that were injected with corvutin before ketamine administration.

Results. The administration of quercetin 10 min before modeling ketamine-induced cardiotoxicity led to a decrease in total NO-synthase activity in the rat myocardium by 1.48 times, inducible NO-synthase activity by 1.5 times, arginase by 1.21 times, peroxynitrite content by 1.44 times, nitrite by 1.67 times, superoxide anion radical production by 1.53 times, catalase activity by 1.06 times, malone dialdehyde content by 1.68 times, diene conjugates by 1.2 times, triene conjugates by 1.19 times, octadiene conjugates by 1.59 times, free L-hydroxyproline by 1.16 times and sulfide anion by 1.15 times and an increase in superoxide dismutase activity by 1.13 times and nitrosothiols content by 1.54 times. compared to the group of rats in which ketamine-induced cardiotoxicity was simulated ($p < 0.05$).

Conclusions. Administration of the bioflavonoid quercetin against the background of ketamine-induced cardiotoxicity prevents cardiomyocyte damage by activating antioxidant defense in the myocardium and reducing the production of oxygen and nitrogen free radicals, which prevents lipid peroxidation and collagenolysis, normalizing the functioning of the nitric oxide cycle.

For citation:

Mykytenko AO, Ponomarenko VO, Yakobenchuk VA, Zborovska AI, Akimov OYe, Neporada KS. Quercetin protects the myocardium from the effects of ketamine. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):792–806. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-09>

ВСТУП

Кетамін використовується для лікування депресії та хронічних больових розладів, а також для анестезії, анальгезії та седатії. При педіатричних і геріатричних короткочасних операціях кетамін – антагоніст рецептора N-метил-D-аспартату (NMDAR) використовується як дисоціативний анестетик, що має анальгетичну дію [1]. Накопичені дані свідчать, що антагонізм NMDAR не єдиний механізм дії кетаміну. Обговорюються кілька механізмів антидепресивної дії, такі як сигнальний шлях mTOR, моноамінергічна система, сигма-1 рецептор, холінергічна, опіоїдна та канабіноїдна системи [2]. Унікальні фармакодинамічні властивості кетаміну підвищили інтерес до його використання для лікування депресії. Кетамін впливає на синаптичну передачу нервового імпульсу за умов хронічного стресу шляхом постсинаптичної активації глутамату. Цей ефект зберігається протягом одного дня після введення, забезпечуючи відновлення синаптичного зв'язку, яке триває протягом днів або тижнів. Проте гострі побічні ефекти, такі як підвищене слиновиділення, збільшення частоти серцевих скорочень, системного артеріального та внутрішньочерепного тиску, вимагають ретельного моніторингу під час внутрішньовенного введення кетаміну, навіть у субанестетичних дозах [3]. Дози кетаміну для анестезії можуть призвести до значних побічних реакцій, що пов'язані з симпатоміметичною активністю препарату. Введення кетаміну в дозах для анестезії

INTRODUCTION

Ketamine is used to treat depression and chronic pain disorders, as well as for anesthesia, analgesia, and sedation. In pediatric and geriatric short-term surgeries, ketamine, as an N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) antagonist, is used as a dissociative anesthetic with analgesic effects [1]. Accumulating evidence suggests that NMDAR antagonism is not the only mechanism of action of ketamine. Several mechanisms like mTOR signal pathway, monoaminergic system, sigma-1 receptor, cholinergic, opioid and cannabinoid systems are discussed for the antidepressant effects [2]. The unique pharmacodynamic properties of ketamine have increased interest in its use for the treatment of depression. Ketamine affects synaptic transmission of nerve impulses under conditions of chronic stress through postsynaptic activation of glutamate. This effect persists for one day after administration, providing restoration of synaptic connectivity that lasts for days or weeks. However, acute side effects such as increased salivation, increased heart rate, systemic arterial and intracranial pressure require careful monitoring during intravenous administration of ketamine, even at subanesthetic doses [3]. Ketamine doses for anesthesia can lead to significant adverse reactions related to the sympathomimetic activity of the drug. Administration of ketamine at anesthetic doses leads to excessive production of catecholamines such as adrenaline and noradrenaline. Increased sympathomimetic activity increases the heart's need for

призводить до надмірного вироблення катехоламінів, таких як адреналін і норадреналін. Підвищена симпатоміметична активність збільшує потребу серця в кисні, а надмірна продукція катехоламінів призводить до оксидативного ушкодження міокарда [4]. Таким чином, біохімічні механізми токсичного впливу кетаміну на міокард пов'язані з виникненням оксидативного стресу внаслідок підвищення ендогенної продукції катехоламінів.

Кверцетин є одним з найпоширеніших флавоноїдів, що має великий потенціал використання при серцево-судинних захворюваннях (ССЗ), завдяки своїм властивостям, таким як антиоксидантна дія, антиагрегація тромбоцитів, антибактеріальна дія, зниження рівня холестерину, захист ендотеліальних клітин тощо. На сьогодні доведена ефективність використання кверцетину для лікування поширених ССЗ, таких як атеросклероз, інфаркт міокарда, ішемічне реперфузійне ушкодження, серцева недостатність, гіпертонія та аритмія тощо [5]. Антиоксидантний ефект кверцетину в основному досягається шляхом безпосереднього очищення активних форм кисню (АФК), хелатування іонів металів та інгібування окисного пошкодження ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). Кверцетин, як природний антиоксидант, може видаляти гідроксильні радикали, перекис водню і супероксидний аніон-радикал, накопичені в клітинах як *in vivo*, так і *in vitro*, тим самим збільшуючи кількість атомів кисню для стабілізації структури бензольного кільця [6]. За даними Li B. et al. кверцетин може захистити міокард від пошкодження шляхом підвищення активності антиоксидантних ферментів у щурів з гострим інфарктом міокарда, включаючи супероксиддисмутазу (СОД), каталазу та глутатіонпероксидазу [7]. Кверцетин може значно знизити рівні біомаркерів оксидативного стресу, таких як малоновий діальдегід (МДА), підвищуючи при цьому активність СОД і каталази, і знижуючи активність індукцибельної синтази оксиду азоту (іНОС) за умов гіпоксично-індукованого ушкодження міокарда щурів [5]. Зважаючи на відомі на сьогодні молекулярно-клітинні механізми виникнення кетамін-індукованої кардіотоксичності, кверцетин може бути ефективним засобом для попередження ускладнень від короточасних оперативних втручань, особливо у дітей і людей похилого віку. З іншого боку хронічна депресія, яка є показанням до використання кетаміну, має власні механізми ушкодження міокарда і потребує використання кардіопротекторів під час лікування основного захворювання.

Мета роботи – встановити вплив кверцетину на міокард щурів за умов кетамін-індукованої кардіотоксичності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Етичне схвалення

Дослідження на щурах проводилися згідно з рекомендаціями ARRIVE (Дослідження на тваринах: звіт про експерименти *in vivo*) 2.0 Percie du Sert et al., 2020), стандартів Конвенції Ради Європи з біоетики, «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (1997). Щури утримувалися у віварії,

oxygen, and excessive production of catecholamines leads to oxidative damage to the myocardium [4]. Thus, the biochemical mechanisms of the toxic effect of ketamine on the myocardium are associated with the occurrence of oxidative stress due to increased endogenous production of catecholamines.

Quercetin is one of the most common flavonoids, which has great potential for use in cardiovascular diseases (CVD), due to properties such as: antioxidant, anti-platelet aggregation, antibacterial action, cholesterol lowering, endothelial cell protection, etc. To date, the effectiveness of quercetin has been proven for the treatment of common CVDs, such as atherosclerosis, myocardial infarction, ischemic reperfusion injury, heart failure, hypertension and arrhythmia, etc. [5]. The antioxidant effect of quercetin is mainly achieved by directly scavenging reactive oxygen species (ROS), chelating metal ions, and inhibiting oxidative damage to LDL. Quercetin, as a natural antioxidant, can remove hydroxyl radicals, hydrogen peroxide and superoxide anion radical accumulated in cells both *in vivo* and *in vitro*, thereby increasing the number of oxygen atoms to stabilize the benzene ring structure [6]. According to Li B. et al., quercetin can protect the myocardium from damage by increasing the activities of antioxidant enzymes in rats with acute myocardial infarction, including superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxidase [7]. Quercetin can significantly reduce the levels of oxidative stress biomarkers such as malondialdehyde (MDA), while increasing the activities of SOD and catalase, and decreasing the activity of inducible nitric oxide synthase (iNOS) under conditions of hypoxia-induced myocardial injury in rats [5]. Given the currently known molecular and cellular mechanisms of ketamine-induced cardiotoxicity, quercetin may be an effective means of preventing complications from short-term surgical interventions, especially in children and the elderly. On the other hand, chronic depression, which is an indication for the use of ketamine, has its own mechanisms of myocardial damage and requires the use of cardioprotectors during the treatment of the underlying disease.

Objective – was to determine the effect of corvitin on the myocardium of rats under conditions of ketamine-induced cardiotoxicity.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Ethical approval

Studies on rats were conducted according to the ARRIVE (Animal Research: Report on *In Vivo* Experiments) 2.0 guidelines Percie du Sert et al., 2020), the standards of the Council of Europe Convention on Bioethics, the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (1997). Rats were kept in a vivarium accredited

акредитованому за «Типовими правилами розпорядку, обладнання та утримання експериментальних біологічних клінік (віварію)». Прилади, які використовувалися в дослідженнях, підлягали метрологічному контролю. Усі експериментальні методики схвалені біоетичною комісією Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (протокол № 228 від 20.06.2024 р.).

Вибірка та експериментальні групи

Експерименти виконані на 24 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar, масою тіла 200–240 г. Упродовж усього експерименту тварини перебували у віварії відповідно до правил зоогієни та підтриманні 12/12 годинного добового циклу «світло-темрява» з цілодобовою аерацією та температурою повітря 26°C й вологістю (43 ± 2)%. Щури отримували *ad libitum* змішану зерново-овочеву дієту та воду.

Тварини були розподілені на 4 групи по 6 щурів:

I група (контроль) – інтактні тварини;

II група (кверцетин) – щури, яким вводили корвітин відповідно до протоколу його введення;

III група (кетамін) – щури, яким моделювали кетамін-індуковану кардіотоксичність згідно з протоколом;

IV група (кверцетин+кетамін) – щури, яким за 10 хв до моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності вводили корвітин згідно з протоколом його введення.

Кверцетин вводили о 10:00 год. ранку, через 10 хв вводили першу дозу кетаміну. Вилучення із експерименту щурів здійснювали шляхом забору крові з правого шлуночка серця. Матеріал для біохімічних досліджень (кров, міокард) забирали через 5 хв після введення останньої дози кетаміну.

Протокол введення кверцетину

Водорозчинну форму кверцетину корвітин (Публічне акціонерне товариство Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) вводили щурам одноразово внутрішньоочеревинно в дозі 5,2 мг/100 г [8].

Протокол моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності

Щурам вводили внутрішньоочеревинно кетамін (Panpharma, France) в дозі 60 мг/кг з інтервалом кожні 10 хв протягом 3 годин (19 ін'єкцій) [4].

Біохімічні дослідження

У плазмі крові щурів визначали активність аспаратамінотрансферази (АСТ) за допомогою діагностичного набору виготовленого науково-виробничим підприємством «Філісіт-Діагностика».

Об'єктом досліджень був міокард. Для біохімічних досліджень використовували 10% гомогенат. Для його приготування міокард поміщали у чашку Петрі та подрібнювали. Робили наважку. Тканину гомогенізували у 10 мМ трис(2-аміно-2-гідроксиметил-пропан-1,3-діол)-HCl буфері, із рН 7,4 (1 г тканини на 9 мл середовища) протягом 30–40 сек. Надосадову рідину використовували для біохімічних досліджень. Усі маніпуляції проводились при температурі від 0° до +4°C (на льодяній бані).

according to the «Standard Rules for the Arrangement, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivarium)». The devices used in the studies were subject to metrological control. All experimental methods were approved by the Bioethical Commission of Poltava State Medical University (protocol No. 228 dated 20.06.2024).

Sample and experimental groups

The experiments were performed on 24 white, sexually mature male Wistar rats, weighing 200–240 g. Throughout the experiment, the animals were kept in a vivarium in accordance with the rules of animal hygiene and maintaining a 12/12-hour daily cycle of «light-darkness» with round-the-clock aeration and an air temperature of 26°C and humidity of (43 ± 2)%. The rats received *ad libitum* a mixed grain-vegetable diet and water.

The animals were divided into 4 groups of 6 rats each:

I group (control) – intact animals;

II group (quercetin) – rats administered corvutin according to the protocol for its administration;

III group (ketamine) – rats in which ketamine-induced cardiotoxicity was modeled according to the protocol;

IV group (quercetin + ketamine) – rats that were administered corvutin 10 min before modeling ketamine-induced cardiotoxicity according to the protocol for its administration.

Quercetin was administered at 10:00 a.m., and 10 minutes later the first dose of ketamine was administered. Rats were removed from the experiment by taking blood from the right ventricle of the heart. Material for biochemical studies (blood, myocardium) was collected 5 min after the administration of the last dose of ketamine.

Quercetin administration protocol

The water soluble form of c, corvutin (PAC SPC «Borshchagovskyi KhPF», Ukraine), was administered to rats once intraperitoneally at a dose of 5.2 mg/100 g [8].

Ketamine-induced cardiotoxicity modeling protocol

Rats were injected intraperitoneally with ketamine (Panpharma, France) at a dose of 60 mg/kg every 10 min for 3 hours (19 injections) [4].

Biochemical analysis

In the blood plasma of rats, the activity of aspartateaminotransferase (AST) were determined using diagnostic kit, produced by NPP «Filisit-Diagnostyka».

The object of research was the myocardium. For biochemical research, 10% homogenate was used. For its preparation, the myocardium was placed in a Petri dish and crushed. Then, a sample was weighted. The tissue was homogenized in 10 mM Tris(2-amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol)-HCl buffer, pH 7.4 (1 g of tissue per 9 ml of medium) for (30–40) seconds. The supernatant was used for biochemical studies. All manipulations were carried out at a temperature of 0°C to +4°C (in an ice bath).

Концентрацію нітритів визначали шляхом визначення діазосполук, що утворилися у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α -нафтиламіном (реактив Гріса-Ілосвая), у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники). Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації нітритів. gNOS визначали за приростом нітритів після інкубації 10% гомогенату міокарда (0,2 мл) протягом 30 хв в інкубаційному розчині (2,5 мл 0,1 М трисбуфера, 0,3 мл 320 мМ водного розчину L-аргініну та 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН+H⁺). Для визначення активності конститутивних ізоформ NO-синтаз (cNOS) використовували 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду і час інкубації подовжували до 60 хв. Активність iNOS розраховували за формулою: iNOS = gNOS – cNOS [9].

Концентрацію нітрозотіолів визначали за різницею концентрації нітритів (NO₂⁻) за допомогою реактиву Гріса (з модифікацією Ілосвая) до та після окиснення нітрозотіолових комплексів (S-NO) до нітритів розчином хлориду ртуті (HgCl₂) [10].

Концентрацію пероксинітриту лужних та лужноземельних металів вимірювали за допомогою його реакції з йодидом калію при pH 7,0 в 0,2 М фосфатному буфері з таким самим pH, що дає продукт I₃ з максимальним поглинанням при довжині хвилі 355 нм [9].

Активність аргіназ визначали за збільшенням концентрації L-орнітину після інкубації 0,2 мл 10% гомогенату міокарда з 0,3 мл 24 мМ розчину L-аргініну [9].

Продукцію супероксидного аніон-радикалу визначали за реакцією взаємодії останнього з дигідрохлоридом нітросинім тетразолієм (ДНСТ), яка призводить до перетворення ДНСТ, жовтого кольору, на диформазан, синього кольору. Максимум поглинання диформазану в хлороформі при довжині хвилі 500 – 570 нм [11].

Активність каталази визначали за забарвленням продуктів, що утворюються в результаті реакції гідрогенпероксиду з молібдатом амонію. Розрахунок проводили за кількістю гідроген пероксиду, який катаболізувався в присутності 0,1 мл 10% гомогенату міокарда, що містить каталазу, за одиницю часу [12].

Для визначення активності СОД використовували реакцію автоокиснення адреналіну в лужному середовищі з утворенням супероксиду шляхом порівняння швидкості автоокиснення адреналіну в присутності 0,1 мл 10% гомогенату міокарда та без нього. Активність СОД розраховували в умовних одиницях (у.о., 1 одиниця вказує на зменшення швидкості реакції на 50%) [12].

Вільний малоновий діальдегід оцінювали за специфічною реакцією з 1-метил-2-феніл-індолом у суміші метанолу та ацетонітрилу з утворенням хромогену (карбоціанінового барвника) з максимальним поглинанням світла при довжині хвилі 586 нм [13].

Гідроперекиси ліпідів визначали після їх екстракції за допомогою суміші гептан-ізопропанолу. Максимум світлопоглинання: дієнові кон'югати (ДК) – 232 – 234 нм, трієнові кон'югати (ТК) – 268 нм, октадієнові кон'югати (ОДК) – 276 нм [14].

Концентрацію вільного оксипроліну вимірювали за продуктом реакції піррол-2-карбонової кислоти, яка

The concentration of nitrites was determined by determining the diazo compounds formed in the reaction with sulfanilic acid, and then the reaction was carried out with α -naphthylamine (Griss-Ilosvai reagent). As a result, red derivatives (azo dyes) are formed. The intensity of the color is proportional to the concentration of nitrites. Total NO synthase (gNOS) activity was determined by the increase in nitrite after incubation of 10% myocardium homogenate (0.2 ml) for 30 min in incubation solution (2.5 ml of 0.1 M Tris buffer, 0.3 ml of 320 mM aqueous L-arginine solution and 0.1 ml of 1 mM NADPH+H⁺ solution). To determine the activity of constitutive isoforms of NO synthase (cNOS), a 1% solution of aminoguanidine hydrochloride was used and the incubation time was extended to 60 min. The activity of the inducible isoform of NO synthase (iNOS) was calculated using the formula: iNOS = gNOS – cNOS [9].

The concentration of nitrosothiols was determined by the difference in the concentration of nitrites (NO₂⁻) using the Griess reagent (with Ilosvai modification) before and after the oxidation of nitrosothiol complexes (S-NO) to nitrites with a solution of mercuric chloride (HgCl₂) [10].

The concentration of alkali and alkaline earth metal peroxynitrite was measured by its reaction with potassium iodide at pH 7.0 in 0.2 M phosphate buffer at the same pH, yielding the product I₃ with a maximum absorption at a wavelength of 355 nm [9].

Arginase activity was determined by the increase in L-ornithine concentration after incubation of 0.2 ml of 10% myocardium homogenate with 0.3 ml of 24 mM L-arginine solution [9].

The production of superoxide anion radical was determined by the reaction of the latter with nitroblue tetrazolium dihydrochloride (NBT), which leads to the conversion of NBT, yellow in color, to diformazan, blue in color. The maximum absorption of diformazan in chloroform at a wavelength of 500–570 nm [11].

Catalase activity was determined by the color of the products formed as a result of the reaction of hydrogen peroxide with ammonium molybdate. The calculation was performed by the amount of hydrogen peroxide that was catabolized in the presence of 0.1 ml of 10% myocardium homogenate containing catalase per unit time [12].

To determine the activity of SOD, the reaction of adrenaline autooxidation in an alkaline medium with the formation of superoxide was used, by comparing the rate of adrenaline autooxidation in the presence of 0.1 ml of 10% myocardium homogenate and without it. SOD activity was calculated in conventional units (u.u., 1 unit indicates a decrease in the reaction rate by 50%) [12].

Free malondialdehyde was estimated by a specific reaction with 1-methyl-2-phenyl-indole in a mixture of methanol and acetonitrile to form a chromogen (carbocyanine dye) with maximum light absorption at a wavelength of 586 nm [13].

Lipid hydroperoxides were determined after their extraction using a mixture of heptane-isopropanol. Maximum light absorption: diene conjugates (DC) – 232–234 nm, triene conjugates (TC) – 268 nm, octadiene conjugates (OCD) – 276 nm [14].

The concentration of free oxypoline was measured by the reaction product of pyrrole-2-carboxylic acid,

утворюється при окисненні оксипроліну, з парадиметиламінобензальдегідом [15].

Концентрацію сульфід-аніону розраховували як концентрацію H_2S . H_2S специфічно реагує з N-N-диметил-пара-фенілендіаміном у присутності іонів Fe^{3+} і надлишку соляної кислоти з утворенням червоно-рожевого хромогену з максимальним поглинанням світла при довжині хвилі 667 нм [16].

Математико-статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз біохімічних результатів проводився за методом Шапіро–Уїлка для аналізу розподілу з подальшим попарним порівнянням за допомогою непараметричного методу Манна–Уїтні. Всі статистичні обрахунки проводились в програмі Microsoft office Excel та її розширення Real Statistics 2019. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$. Результати представлені як середнє значення $(M) \pm$ стандартна похибка середнього значення (SEM).

which is formed during the oxidation of oxyproline, with paradimethylaminobenzaldehyde [15].

The concentration of sulfide anion was calculated as the concentration of H_2S . H_2S specifically reacts with N-N-dimethyl-para-phenylenediamine in the presence of Fe^{3+} ions and excess hydrochloric acid to form a red-pink chromogen with maximum light absorption at a wavelength of 667 nm [16].

Mathematical and statistical research methods

Statistical analysis of biochemical results was performed using Shapiro-Wilk method for distribution analysis with subsequent pairwise comparison using the nonparametric Mann-Whitney method. All statistical calculations were performed in Microsoft Office Excel and its Real Statistics 2019 extension. The difference was considered statistically significant at $p < 0.05$. Results presented as mean $(M) \pm$ standard error of mean (SEM).

РЕЗУЛЬТАТИ

Моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності призводить до підвищення активності АСТ у плазмі крові у 2,7 разу по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$). Введення кверцетину за 10 хв до першої дози кетаміну попереджає розвиток цитолітичного синдрому у серці щурів, про що свідчить зниження активності АСТ у плазмі крові у 2,7 разу по відношенню до групи тварин, яким моделювали кетамін-індуковану кардіотоксичність ($p < 0,05$) (рис. 1).

RESULTS

Modeling ketamine-induced cardiotoxicity leads to a 2.7-fold increase in plasma AST activity compared to the control group ($p < 0.05$). The administration of quercetin 10 min before the first dose of ketamine prevents the development of cytolytic syndrome in the heart of rats, as evidenced by a 2.7-fold decrease in AST activity in blood plasma compared to the group of animals in which ketamine-induced cardiotoxicity was simulated ($p < 0.05$) (Fig. 1).

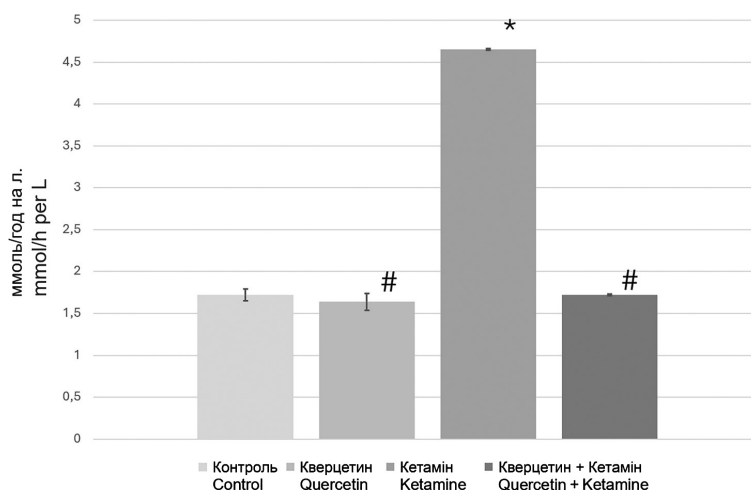


Рис. 1. Активність аспартатамінотрансферази в плазмі крові щурів за умов введення кверцетину попередньо до моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності ($M \pm SEM$)

Fig. 1. Aspartate aminotransferase activity in rat blood plasma under conditions of quercetin administration prior to modeling ketamine-induced cardiotoxicity ($M \pm SEM$)

Примітки / Notes:

- * – $p < 0,05$ по відношенню до групи контролю, # – $p < 0,05$ по відношенню до групи кетамін.
* – $p < 0.05$ compared to the control group, # – $p < 0.05$ compared to the ketamine group.

Моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності призвело до підвищення активності gNOS у міокарді щурів у 2,01 разу, iNOS в 2,06 разу, аргіназ в 1,24 разу, вмісту пероксинітритів у 1,8 разу, нітритів у 1,43 разу, продукції супероксидного аніон-радикалу в 1,61 разу, вмісту МДА у 1,11 разу, ДК в 1,24 разу,

Modeling ketamine-induced cardiotoxicity led to an increase in gNOS activity in the rat myocardium by 2.01 times, iNOS by 2.06 times, arginase by 1.24 times, peroxynitrite content by 1.8 times, nitrite by 1.43 times, superoxide anion radical production by 1.61 times, MDA content by 1.11 times, DC by 1.24 times, TC by 1.22 times,

ТК в 1,22 разу, ОДК в 1,66 разу, вільного L-оксипроліну в 1,93 разу і сульфід-аніону в 4,44 разу і зниження активності cNOS у 1,3 разу, SOD в 1,39 разу і вмісту нітрозотіолів у 1,75 разу по відношенню до контрольної групи щурів ($p < 0,05$) (табл. 1).

ODC by 1.66 times, free L-hydroxyproline by 1.93 times and sulfide anion by 4.44 times and a decrease in cNOS activity by 1.3 times, SOD by 1.39 times and nitrosothiol content by 1.75 times compared to the control group of rats ($p < 0.05$) (Tab. 1).

Таблиця 1. Біохімічні показники в міокарді щурів за умов введення кверцетину попередньо до моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності ($M \pm SEM$)

Table 1. Biochemical parameters of rat myocardium under conditions of quercetin treatment of ketamine-induced cardiotoxicity ($M \pm SEM$)

Біохімічні показники Biochemical parameters	Контроль Control	Кверцетин Quercetin	Кетамін Ketamine	Кверцетин + Кетамін Quercetin + Ketamine
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль/хв на г білка Total NO synthase activity, $\mu\text{mol/min per g protein}$	1,1 $\pm$ 0,11	1,21 $\pm$ 0,06 [^]	2,21 $\pm$ 0,12*	1,49 $\pm$ 0,04* [^]
Активність індукційної NO-синтази, мкмоль/хв на г білка Inducible NO synthase activity, $\mu\text{mol/min per g protein}$	1,06 $\pm$ 0,1	1,17 $\pm$ 0,06 [^]	2,18 $\pm$ 0,12*	1,45 $\pm$ 0,04* [^]
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль/хв на г білка Constitutive NO synthase activity, $\mu\text{mol/min per g protein}$	0,0376 $\pm$ 0,0006	0,0378 $\pm$ 0,0006 [^]	0,029 $\pm$ 0,0059*	0,037 $\pm$ 0,0004
Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка Arginase activity, $\mu\text{mol/min per g protein}$	1,68 $\pm$ 0,04	1,54 $\pm$ 0,03* [^]	2,08 $\pm$ 0,03*	1,72 $\pm$ 0,03 [^]
Вміст нітрозотіолів, мкмоль/г The content of nitrosothiols, $\mu\text{mol/g}$	0,686 $\pm$ 0,005	0,752 $\pm$ 0,02* [^]	0,391 $\pm$ 0,04*	0,603 $\pm$ 0,082
Вміст пероксинітритів, мкмоль/г The content of peroxynitrite, $\mu\text{mol/g}$	1,77 $\pm$ 0,02	1,43 $\pm$ 0,1* [^]	3,19 $\pm$ 0,02*	2,22 $\pm$ 0,06* [^]
Вміст NO ₂ , нмоль/г The content of NO ₂ , nmol/g	3,9 $\pm$ 0,27	3,5 $\pm$ 0,17 [^]	5,57 $\pm$ 0,65	3,34 $\pm$ 0,18 [^]
Продукція супероксид-аніон радикалу, нмоль/с на г Superoxide anion radical production, nmol/s per g	0,86 $\pm$ 0,04	0,86 $\pm$ 0,04 [^]	1,39 $\pm$ 0,01*	0,91 $\pm$ 0,01 [^]
Активність каталази, мккат/г Catalase activity, $\mu\text{kat/g}$	1,76 $\pm$ 0,12	1,95 $\pm$ 0,04	1,86 $\pm$ 0,02	1,76 $\pm$ 0,02 [^]
Активність супероксиддисмутази, ум.од. Superoxide dismutase activity, c.u.	3,996 $\pm$ 0,076	4,529 $\pm$ 0,214 [^]	2,877 $\pm$ 0,065*	3,24 $\pm$ 0,03* [^]
Вміст малонового діальдегіду, мкмоль/г The content of malondialdehyde, $\mu\text{mol/g}$	3,92 $\pm$ 0,06	3,49 $\pm$ 0,09* [^]	4,34 $\pm$ 0,05*	2,58 $\pm$ 0,05* [^]
Вміст дієнових кон'югатів, мкмоль/мл The content of diene conjugates, $\mu\text{mol/ml}$	0,243 $\pm$ 0,003	0,204 $\pm$ 0,05* [^]	0,301 $\pm$ 0,002*	0,25 $\pm$ 0,001* [^]
Вміст трієнових кон'югатів, мкмоль/мл The content of triene conjugates, $\mu\text{mol/ml}$	0,149 $\pm$ 0,002	0,079 $\pm$ 0,008* [^]	0,182 $\pm$ 0,001*	0,153 $\pm$ 0,004 [^]
Вміст октадієнових кон'югатів, мкмоль/мл The content of octadiene conjugates, $\mu\text{mol/ml}$	0,292 $\pm$ 0,002	0,132 $\pm$ 0,004* [^]	0,485 $\pm$ 0,003*	0,305 $\pm$ 0,01 [^]
Вміст вільного оксипроліну, мкмоль/г The content of free oxypoline, $\mu\text{mol/g}$	2,03 $\pm$ 0,04	2,12 $\pm$ 0,07 [^]	3,91 $\pm$ 0,01*	3,38 $\pm$ 0,03* [^]
Вміст сульфід-аніону, мкмоль/г The content of sulfide anion, $\mu\text{mol/g}$	3,48 $\pm$ 0,17	9,58 $\pm$ 0,11* [^]	15,45 $\pm$ 0,35*	13,41 $\pm$ 0,23* [^]

Примітки / Notes:

* – $p < 0,05$ по відношенню до групи контролю, # – $p < 0,05$ по відношенню до групи кетамін.

* – $p < 0.05$ compared to the control group, # – $p < 0.05$ compared to the ketamine group.

Введення кверцетину за 10 хв до моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності привело до зниження активності gNOS у міокарді щурів у 1,48 разу, iNOS в 1,5 разу, аргіназ в 1,21 разу, вмісту пероксинітритів у 1,44 разу, нітритів у 1,67 разу, продукції супероксидного аніон-радикалу в 1,53 разу, активності каталази в 1,06 разу, вмісту МДА у 1,68 разу, ДК в 1,2 разу, ТК в 1,19 разу, ОДК в 1,59 разу, вільного L-оксипроліну в 1,16 разу і сульфід-аніону в 1,15 разу і підвищення активності SOD в 1,13 разу і вмісту

Administration of quercetin to intact animals led to a 1.09-fold decrease in arginase activity in the rat myocardium, a 1.24-fold decrease in peroxynitrite content, a 1.12-fold decrease in MDA, a 1.19-fold decrease in DC, a 1.89-fold decrease in TC, a 2.21-fold decrease in ODC, and an increase in the content of nitrosothiols by 1.1-fold and sulfide anions by 2.75-fold compared to the control group ($p < 0.05$) (Tab. 1).

The administration of quercetin 10 min before the modeling of ketamine-induced cardiotoxicity led

нітрозотіолів у 1,54 разу по відношенню до групи щурів, яким моделювали кетамін-індуковану кардіотоксичність ($p < 0,05$) (див. табл. 1).

Введення кверцетину інтактним тваринам призвело до зниження активності аргіназ в міокарді щурів у 1,09 разу, вмісту пероксинітритів у 1,24 разу, МДА у 1,12 разу, ДК у 1,19 разу, ТК у 1,89 разу, ОДК у 2,21 разу і підвищення вмісту нітрозотіолів у 1,1 разу та сульфід-аніонів у 2,75 разу по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$) (див. табл. 1).

ОБГОВОРЕННЯ

Застосування кетаміну для наркозу супроводжується оксидативно-нітрозативним стресом у тканинах серця щурів, що підтверджується зростанням рівня продукції супероксидного аніон-радикала, зростанням вмісту продуктів пероксидації ліпідів та вмісту пероксинітритів. Отримані нами дані схожі із такими, що отримали колективи авторів Djuric M. et al., Ghaffari M.K. et al., та Ölmeztürk Karakurt T.C. et al., що свідчить про правильність обраної нами моделі кетамін-індукованої кардіотоксичності [17–19]. Розвиток оксидативного стресу в міокарді за умов кетамін-індукованої кардіотоксичності пов'язують із активацією транскрипційного фактора NF- κ B. Зростання продукції оксиду азоту від індукційної ізоформи NO-синтази також може бути наслідком активації транскрипційного фактора NF- κ B під час моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності [20].

Згідно з даними нашого дослідження надмірна продукція оксиду азоту за умов моделювання кетамін-індукованої кардіотоксичності не призводить до рівномірного збільшення метаболітів оксиду азоту, а супроводжується збільшенням утворенням пероксинітритів та зменшенням утворенням нітрозотіолів. Відсутність статистично значущих змін у концентрації нітритів у групі кетамін-індукованої кардіотоксичності може бути пов'язана із активацією ксантиноксидоредуктази, яка може посилювати редукцію нітратів до нітритів у тканинах серця [22].

Посилення активності ксантиноксидоредуктази за умов введення кетаміну може бути пов'язано із здатністю кетаміну активувати вісь AMPK/mTOR [21]. Кінцевим результатом активації вісі AMPK/mTOR є посилення аутофагії, що призводить до збільшення концентрації в клітині продуктів пуринового обміну, які є субстратом для ксантиноксидоредуктази. Ксантиноксидоредуктаза за рахунок свого ксантиноксидазного домену може бути джерелом надлишкового утворення активних форм кисню [22].

Зростання активності аргіназ одночасно із збільшенням активності iNOS за умов введення кетаміну є нетиповим для нормально функціонуючої авторегуляції циклу оксиду азоту, оскільки аргінази та NO-синтази є конкурентами за субстрат реакції, а NO-синтази мають більшу спорідненість із субстратом, тому без додаткової стимуляції таке зростання активності аргіназ є маловірогідним. Стимулятором зростання активності аргіназ у серці за умов введення кетаміну може бути AMPK, активація якої стимулюється кетаміном [21, 23].

to a decrease in gNOS activity in the myocardium of rats by 1.48 times, iNOS by 1.5 times, arginase by 1.21 times, peroxynitrite content by 1.44 times, nitrite by 1.67 times, superoxide anion radical production by 1.53 times, catalase activity by 1.06 times, MDA content by 1.68 times, DC by 1.2 times, TC by 1.19 times, ODC by 1.59 times, free L-hydroxyproline by 1.16 times and sulfide anion by 1.15 times and an increase in SOD activity by 1.13 times and nitrosothiols content by 1.54 times compared to the group of rats in which ketamine-induced cardiotoxicity was simulated. cardiotoxicity ($p < 0.05$) (Tab. 1).

DISCUSSION

The use of ketamine for anesthesia is accompanied by oxidative-nitrosative stress in rat heart tissues, which is confirmed by an increase in the level of superoxide anion radical production, an increase in the content of lipid peroxidation products and the content of peroxynitrites. The data we obtained are similar to those obtained by the teams of the authors Djuric M. et al., Ghaffari M.K. et al., and Ölmeztürk Karakurt T.C. et al., which indicates the correctness of the model of ketamine-induced cardiotoxicity we have chosen [17–19]. The development of oxidative stress in the myocardium under conditions of ketamine-induced cardiotoxicity is associated with the activation of the transcription factor NF- κ B. Increased nitric oxide production from the inducible isoform of NO synthase may also be a consequence of activation of the transcription factor NF- κ B during modeling of ketamine-induced cardiotoxicity [20].

According to our study, excessive nitric oxide production under conditions of ketamine-induced cardiotoxicity modeling does not lead to a uniform increase in nitric oxide metabolites, but is accompanied by increased formation of peroxynitrites and reduced formation of nitrosothiols. The lack of statistically significant changes in nitrite concentrations in the ketamine-induced cardiotoxicity group may be due to activation of xanthine oxidoreductase, which may enhance the reduction of nitrate to nitrite in cardiac tissues [22].

The increase in xanthine oxidoreductase activity under ketamine administration may be due to the ability of ketamine to activate the AMPK/mTOR axis [21]. The end result of activation of the AMPK/mTOR axis is increased autophagy, which leads to an increase in the concentration of purine metabolism products in the cell, which are substrates for xanthine oxidoreductase. Xanthine oxidoreductase, due to its xanthine oxidase domain, may be a source of excessive formation of reactive oxygen species [22].

The increase in arginase activity simultaneously with the increase in iNOS activity under the conditions of ketamine administration is atypical for normally functioning autoregulation of the nitric oxide cycle, since arginase and NO synthase are competitors for the reaction substrate, and NO synthases have a greater affinity for the substrate, therefore, without additional stimulation, such an increase in arginase activity is unlikely. The stimulator of increased arginase activity in the heart under ketamine administration may be AMPK, the activation of which is stimulated by ketamine [21, 23].

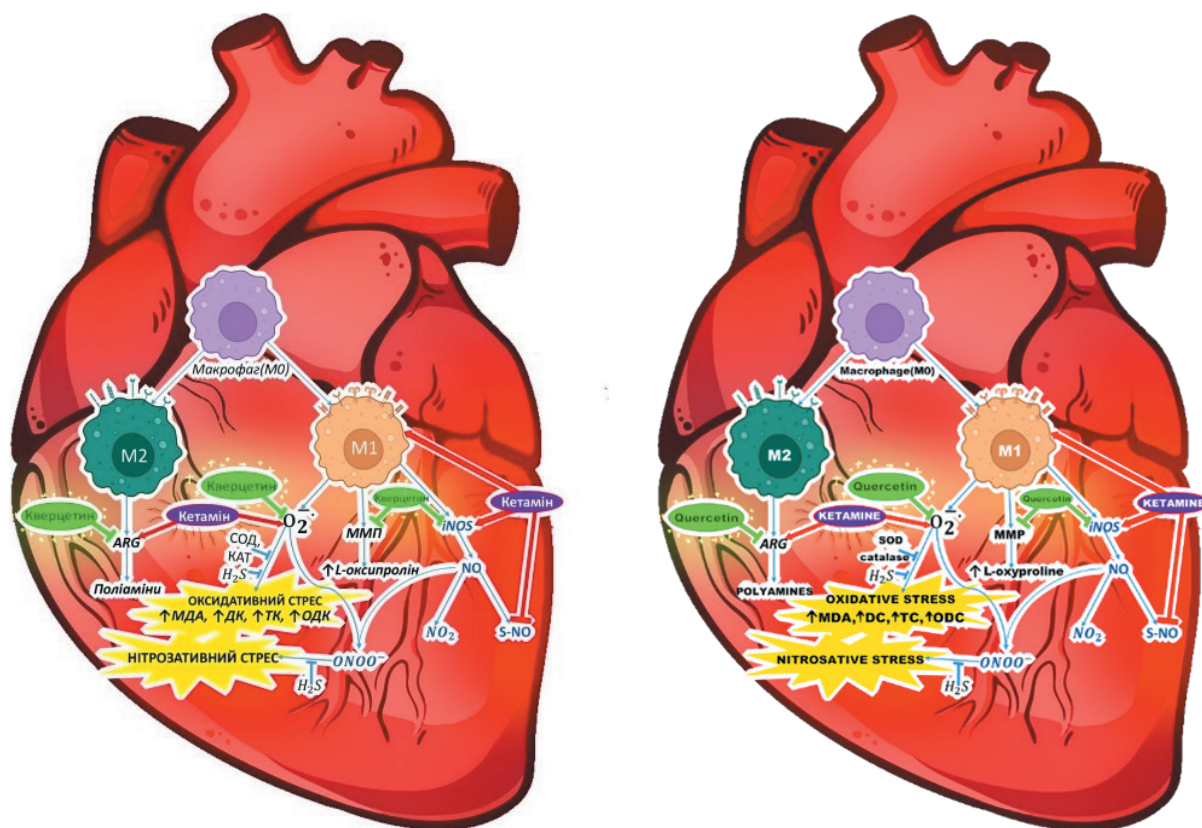


Рис. 2. Вплив кверцетину на зміни, викликані кетаміном у міокарді
Fig. 2. Effect of quercetin on ketamine-induced changes in the myocardium

Примітки / Notes:

ARG – аргіназа, SOD – супероксиддисмутаза, MDA – малоновий діальдегід, MMP – матриксні металопротеїнази, iNOS – індукційна ізоформа NO-синтази, DC – дієнові кон'югати, TC – трієнові кон'югати, ODC – октадієнові кон'югати, S-NO – нітрозотіолі.

ARG – arginase, SOD – superoxide dismutase, MDA – malondialdehyde, MMP – matrix metalloproteinases, iNOS – inducible isoform of NO synthase, DC – diene conjugates, TC – triene conjugates, ODC – octadiene conjugates, S-NO – nitrosothiols.

Зростання вмісту вільного L-оксипроліну в серці щурів свідчить про посилене руйнування колагенових волокон. Причиною такого посиленого руйнування частини екстрацелюлярного матриксу серця може бути зростання активності матриксних металопротеїназ (ММП), які активуються під впливом транскрипційного фактора NF-κB, на активність якого впливає кетамін [24].

Терапевтичний вплив корвітину здебільшого пов'язаний із дією основної діючої речовини препарату, а саме – кверцетину. Механізми впливу кверцетину на кетамін-індуковану кардіотоксичність представлені на рис. 2. Кверцетин має здатність безпосередньо інгібувати активність аргіназ, що вивільняє додатковий субстрат реакції для конститутивних ізоформ NO-синтази [25]. Здатність кверцетину знижувати інтенсивність оксидативного стресу під час введення кетаміну пов'язана із прямими антиоксидантними властивостями кверцетину як сполуки поліфенольного ряду [26]. Зростання активностей каталази та СОД у групі поєданого застосування кверцетину та кетаміну є результатом кверцетин-індукованої активації транскрипційного фактора Nrf-2 [27]. Посилення антиоксидантного захисту та зменшення продукції активних форм кисню закономірно призводить до зниження інтенсивності

Increased free L-hydroxyproline content in rat hearts indicates increased destruction of collagen fibers. The reason for such increased destruction of part of the extracellular matrix of the heart may be an increase in the activity of matrix metalloproteinases (MMPs), which are activated under the influence of the transcription factor NF-κB, the activity of which is affected by ketamine [24].

The therapeutic effect of Covitin is largely associated with the action of the main active ingredient of the drug, namely quercetin. The mechanisms of quercetin's effect on ketamine-induced cardiotoxicity are presented in Fig. 2. Quercetin has the ability to directly inhibit arginase activity, which releases an additional reaction substrate for constitutive isoforms of NO synthase [25]. The ability of quercetin to reduce the intensity of oxidative stress during ketamine administration is associated with the direct antioxidant properties of quercetin, as a polyphenolic compound [26]. The increase in catalase and SOD activities in the combined quercetin and ketamine group is the result of quercetin-induced activation of the transcription factor Nrf-2 [27]. Strengthening antioxidant defense and reducing the production of reactive oxygen species naturally leads to a decrease in the intensity of lipid peroxidation in the group of combined use of quercetin and ketamine. The decrease in iNOS activity

перекисного окиснення ліпідів у групі поєданого застосування кверцетину та кетаміну. Зниження активності iNOS пов'язано із здатністю кверцетину зменшувати активацію транскрипційного фактора NF-κB [28]. Зменшення вмісту вільного L-оксипроліну в серці щурів у групі поєданого застосування кверцетину та кетаміну пов'язано із здатністю кверцетину напряму інгібувати активності ММП різних класів, а також із його здатністю зменшувати активацію транскрипційного фактора NF-κB, під транскрипційним контролем якого знаходяться більшість ММП [28].

Отримані результати дають підстави рекомендувати препарати, що містять кверцетин, для лікування окислативно-нітрозативного ураження серця, спричиненого не лише кетаміном, а й іншими окисно-відновними умовами. Інші поліфенольні сполуки, такі як ресвератрол, також проявляють потужні антиоксидантні властивості та можуть використовуватися як кардіопротекторні препарати [29–31]. У науковій літературі мало інформації щодо можливих захисних ефектів ресвератролу проти кардіотоксичності, викликаній кетаміном, водночас надається інформація про захисні ефекти ресвератролу проти шизофреноподібної поведінки та окислативного ушкодження, викликаних кетаміном [32]. Наш вибір кверцетину як засобу патогенетичного захисту від кардіотоксичності, викликаній кетаміном, має суттєву перевагу над ресвератролом, яка полягає в тому, що кверцетин, використаний у нашому дослідженні, був попередньо виготовленою розчинною формою препарату (Корвітин). Мелатонін також може використовуватися як антиоксидантний препарат для лікування кардіотоксичності [33]. Однак мелатонін має фармакологічну взаємодію з кетаміном, що спричиняє кумулятивний антидепресивний ефект [34]. Також передозування мелатоніну має побічні ефекти, тоді як передозування кверцетину є менш небезпечним через його низьку токсичність [35]. Загалом, можна сказати, що кверцетин є потужним антиоксидантом, який може бути використаний для лікування окислативно-нітрозативного стресу в серці, і який має перевагу над існуючими антиоксидантними препаратами.

ВИСНОВКИ

Кетамін реалізує кардіотоксичність через розвиток окислативно-нітрозативного стресу, про що свідчить вірогідне зростання загальної активності та індукційної NO-синтази, вмісту пероксинітриду, супероксид аніон-радикалу, продуктів перекисного окиснення ліпідів на тлі зменшення вмісту нітрозотіолів, активності каталази та супероксиддисмутази в міокарді тварин.

Кетамін-індукована токсичність спричиняє активацію колагенлізу, про що свідчить вірогідне зростання вільного оксипроліну та збільшення вмісту сульфід аніону в міокарді щурів.

Введення біофлавоноїду кверцетину на тлі кетамін-індукованої кардіотоксичності попереджає ушкодження кардіоміоцитів шляхом активації антиоксидантного захисту в міокарді та зменшуючи продукцію вільних радикалів кисню та азоту, що попереджає

іс асоційованою з здатністю кверцетину зменшувати активацію фактора транскрипції NF-κB [28]. Зниження вмісту вільного L-гидроксипроліну в серці щурів у групі поєданого застосування кверцетину та кетаміну пов'язано із здатністю кверцетину безпосередньо інгібувати активності ММП різних класів, а також із здатністю кверцетину зменшувати активацію фактора транскрипції NF-κB, під транскрипційним контролем якого знаходяться більшість ММП [28].

Отримані результати дають підстави рекомендувати кверцетин для лікування окислативно-нітрозативного ураження серця, спричиненого не лише кетаміном, а й іншими окисно-відновними умовами. Інші поліфенольні сполуки, такі як ресвератрол, також проявляють потужні антиоксидантні властивості та можуть використовуватися як кардіопротекторні препарати [29–31]. Наукова література надає небагато інформації щодо можливих захисних ефектів ресвератролу проти кардіотоксичності, викликаній кетаміном, водночас надається інформація про захисні ефекти ресвератролу проти шизофреноподібної поведінки та окислативного ушкодження, викликаних кетаміном [32]. Наш вибір кверцетину як засобу патогенетичного захисту від кардіотоксичності, викликаній кетаміном, має суттєву перевагу над ресвератролом, яка полягає в тому, що кверцетин, використаний у нашому дослідженні, був попередньо виготовленою розчинною формою препарату (Corvutin). Мелатонін також може використовуватися як антиоксидантний препарат для лікування кардіотоксичності [33]. Однак мелатонін має фармакологічну взаємодію з кетаміном, що спричиняє кумулятивний антидепресивний ефект [34]. Також передозування мелатоніну має побічні ефекти, тоді як передозування кверцетину є менш небезпечним через його низьку токсичність [35]. Загалом, можна сказати, що кверцетин є потужним антиоксидантом, який може бути використаний для лікування окислативно-нітрозативного стресу в серці, і який має перевагу над існуючими антиоксидантними препаратами.

CONCLUSIONS

Ketamine causes cardiotoxicity through the development of oxidative-nitrosative stress, as evidenced by a significant increase in the total activity and inducible NO synthase, the content of peroxynitrite, superoxide anion radical, and lipid peroxidation products against the background of a decrease in the content of nitrosothiols, catalase and superoxide dismutase activity in the myocardium of animals.

Ketamine-induced toxicity causes activation of collagenolysis, as evidenced by a significant increase in free oxypoline and an increase in sulfide anion content in rat myocardium.

Administration of the bioflavonoid quercetin against the background of ketamine-induced cardiotoxicity prevents cardiomyocyte damage by activating antioxidant defense in the myocardium and reducing the production of oxygen and nitrogen free radicals, which prevents

перекисне окиснення ліпідів та колагеноліз, нормалізуючи роботу циклу оксиду азоту.

lipid peroxidation and collagenolysis, normalizing the functioning of the nitric oxide cycle.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Li Y., Shi J., Yang B. F., et al. Ketamine-induced ventricular structural, sympathetic and electrophysiological remodelling: pathological consequences and protective effects of metoprolol. *British Journal of Pharmacology*. 2012. №165 (6). P. 1748–1756. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01635.x>
- Lavender E., Hirasawa-Fujita M., Domino E. F. Ketamine's dose related multiple mechanisms of actions: Dissociative anesthetic to rapid antidepressant. *Behavioural Brain Research*. 2020. №390. P. 112631. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112631>
- Mihaljević S., Pavlović M., Reiner K., et al. Therapeutic Mechanisms of Ketamine. *Psychiatria Danubina*. 2020. №32 (3-4). P. 325–333. DOI: <https://doi.org/10.24869/psyd.2020.325>
- Cetin N., Suleyman B., Altuner D., et al. Effect of disulfiram on ketamine-induced cardiotoxicity in rats. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015. №8 (8). P. 13540–13547.
- Zhang W., Zheng Y., Yan F., et al. Research progress of quercetin in cardiovascular disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023. №10. P. 1203713. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1203713>
- Jiang J. J., Zhang G. F., Zheng J. Y., et al. Targeting Mitochondrial ROS-Mediated Ferroptosis by Quercetin Alleviates High-Fat Diet-Induced Hepatic Lipotoxicity. *Frontiers in Pharmacology*. 2022. №13. P. 876550. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.876550>
- Li B., Yang M., Liu J. W., et al. Protective mechanism of quercetin on acute myocardial infarction in rats. *Genetics and molecular research*. 2016. №15(1). P. 15017117. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr.15017117>
- Паронік В. А., Степаненко Л. М., Дяченко Л. М., та ін. Вплив корвітину та гуміліду на стан окисдантно-антиоксидантної системи шкурів на фоні введення адреналіну. *Біологія тварин*. 2015. №17 (4). P. 109–114. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2015_17_4_17
- Mykytenko A. O., Hrytsenko I. S., Semenchuk A. Y., et al. Chromium picolinate prevents the development of oxidative-nitrosative stress and restores endogenous H₂S production in the rat brain under rotenone-induced toxicity. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2025. №97 (2). P. 77–89. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj97.02.077>
- Gaston B., Reilly J., Drazen J. M., et al. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993. №90 (23). P. 10957–10961. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.23.10957>
- Kostenko V. O., Tsebrzhinskii O. I. Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material. *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2000. №46 (5). P. 56–62. PMID: 11269855
- Mykytenko A., Akimov O., Yeroshenko G., et al. Phenformin attenuates the oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. №96 (3). P. 22–30. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.03.022>
- Gérard-Monnier D., Erdelmeier I., Régnard K., et al. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with Malondialdehyde and 4-Hydroxyalkenals. Analytical Applications to a Colorimetric Assay of Lipid Peroxidation. *Chemical Research in Toxicology*. 1998. №11 (10). P. 1176–1183. DOI: <https://doi.org/10.1021/tx9701790>
- Беркало Л. В., Бобович О. В., Боброва Н. О., та ін. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. *Полімет*. 2003. С. 188–190. URL: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/18528>
- Mykytenko A. O., Akimov O. Y., Yeroshenko G. A., et al. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. №14 (2). P. 278–283. DOI: <https://doi.org/10.15421/022341>
- Sugahara S., Suzuki M., Kamiya H., et al. Colorimetric Determination of Sulfide in Microsamples. *Analytical Sciences*. 2016. №32. P. 1129–1131. DOI: <https://doi.org/10.2116/analsci.32.1129>
- Djuric M., Kostic S., Nikolic Turnic T., et al. The comparison of the effects of ketamine and etomidate on cardiodynamics, biochemical and oxidative stress parameters in Wistar male rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2020. №474. P. 125–134. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03838-z>
- Ghaffari M. K., Sefati N., Esmailpour T., et al. The impact of ketamine and thiopental anesthesia on ultraweak photon emission and oxidative-nitrosative stress in rat brains. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2025. №19. P. 1502589. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2025.1502589>

REFERENCES

- Li Y., Shi J., Yang B. F., Liu L., Han C. L., Li W. M., et al. Ketamine-induced ventricular structural, sympathetic and electrophysiological remodelling: pathological consequences and protective effects of metoprolol. *British Journal of Pharmacology*. 2012;165(6):1748–56. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01635.x>
- Lavender E., Hirasawa-Fujita M., Domino E. F. Ketamine's dose related multiple mechanisms of actions: Dissociative anesthetic to rapid antidepressant. *Behavioural Brain Research*. 2020;390:112631. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112631>
- Mihaljević S., Pavlović M., Reiner K., Čačić M. Therapeutic Mechanisms of Ketamine. *Psychiatria Danubina*. 2020;32(3-4):325–33. DOI: <https://doi.org/10.24869/psyd.2020.325>
- Cetin N., Suleyman B., Altuner D., Kuyrukluylidiz U., Ozcicek F., Coskun R., et al. Effect of disulfiram on ketamine-induced cardiotoxicity in rats. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):13540–7.
- Zhang W., Zheng Y., Yan F., Dong M., Ren Y. Research progress of quercetin in cardiovascular disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;10:1203713. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1203713>
- Jiang J. J., Zhang G. F., Zheng J. Y., Sun J. H., Ding S. B. Targeting Mitochondrial ROS-Mediated Ferroptosis by Quercetin Alleviates High-Fat Diet-Induced Hepatic Lipotoxicity. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:876550. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.876550>
- Li B., Yang M., Liu J. W., Yin G. T. Protective mechanism of quercetin on acute myocardial infarction in rats. *Genetics and molecular research*. 2016;15(1):15017117. . DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr.15017117>
- Paronik V. A., Stepanenko L. M., Diachenko L. M., Lievykh A. Y., Shevtsova A. I. Influence of corvutin and humilid on the oxidant system in rats after injection of adrenalin. *The Animal Biology*. 2015;17(4):109–114. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2015_17_4_17
- Mykytenko A. O., Hrytsenko I. S., Semenchuk A. Y., Voroniuk M. V., Kovpak V. V., Akimov O. Y., et al. Chromium picolinate prevents the development of oxidative-nitrosative stress and restores endogenous H₂S production in the rat brain under rotenone-induced toxicity. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2025;97(2):77–89. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj97.02.077>
- Gaston B., Reilly J., Drazen J. M., Fackler J., Ramdev P., Arnette D., et al. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(23):10957–61. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.23.10957>
- Kostenko V. O., Tsebrzhinskii O. I. Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material. *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2000;46(5):56–62. PMID: 11269855
- Mykytenko A., Akimov O., Yeroshenko G., Neporada K. Phenformin attenuates the oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. *Ukr. Biochem. J.*, 2024;96(3):22–30. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.03.022>
- Gérard-Monnier D., Erdelmeier I., Régnard K., Moze-Henry N., Yadan J. C., Chaudière J. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with Malondialdehyde and 4-Hydroxyalkenals. Analytical Applications to a Colorimetric Assay of Lipid Peroxidation. *Chemical Research in Toxicology*. 1998;11(10):1176–83. DOI: <https://doi.org/10.1021/tx9701790>
- Berkalo L. V., Bobovich O. V., Bobrova N. O., Geiko O. O., Kaydashev I. P., Kutsenko L. O., et al. Methods of clinical and experimental research in medicine. *Polymet*. 2003:188–90. (In Ukrainian). URL: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/18528>
- Mykytenko A. O., Akimov O. Y., Yeroshenko G. A., Neporada K. S. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023;14(2):278–283. DOI: <https://doi.org/10.15421/022341>
- Sugahara S., Suzuki M., Kamiya H., Masumi Y., Hitoshi S., Yukiko S., et al. Colorimetric Determination of Sulfide in Microsamples. *Analytical Sciences*. 2016;32(10):1129–31. DOI: <https://doi.org/10.2116/analsci.32.1129>
- Djuric M., Kostic S., Nikolic Turnic T., Stankovic S., Skrbic R., Djuric D. M., et al. The comparison of the effects of ketamine and etomidate on cardiodynamics, biochemical and oxidative stress parameters in Wistar male rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2020;474:125–34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03838-z>
- Ghaffari M. K., Sefati N., Esmailpour T., Salari V., Oblak D., Simon C. The impact of ketamine and thiopental anesthesia on ultraweak photon emission and oxidative-nitrosative stress in rat brains. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2025;19:1502589. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2025.1502589>

19. Ölmeztürk Karakurt T. C., Emir İ., Bedir Z., et al. Effects of carvacrol on ketamine-induced cardiac injury in rats: an experimental study. *Drug and Chemical Toxicology*. 2024. №47 (2). P. 166–171. DOI: <https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2155664>
20. Çömez M. S., Cellat M., Özkan H., et al. Protective effect of oleuropein on ketamine-induced cardiotoxicity in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2020. №393. P. 1691–1699. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01870-w>
21. Cao J., Mai H., Chen Y., et al. Ketamine Promotes LPS-Induced Pulmonary Autophagy and Reduces Apoptosis through the AMPK/mTOR Pathway. *Contrast Media & Molecular Imaging*. 2022. №2022 (1). P. 8713701. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/8713701>
22. Polito L., Bortolotti M., Battelli M. G., et al. Xanthine oxidoreductase: A leading actor in cardiovascular disease drama. *Redox Biology*. 2021. №48. P. 102195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102195>
23. Lu G., Xiao S., Meng F., et al. AMPK activation attenuates central sensitization in a recurrent nitroglycerin-induced chronic migraine mouse model by promoting microglial M2-type polarization. *The Journal of Headache and Pain*. 2024. №25. P. 29. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10194-024-01739-w>
24. Horváth E., Sólyom Á., Székely J., et al. Inflammatory and Metabolic Signaling Interfaces of the Hypertrophic and Senescent Chondrocyte Phenotypes Associated with Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. №24 (22). P. 16468. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242216468>
25. Olabiyyi A. A., Tope-Eniola O. S., Oluwatuyi A. O., et al. Quercetin boosts nitric oxide levels and modulates the activities of arginase, acetylcholinesterase and adenosine deaminase in the corpus cavernosum of cyclosporine-treated rats. *Andrologia*. 2022. №54 (6). P. e14404. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.14404>
26. Qi W., Qi W., Xiong D., et al. Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules*. 2022. №27 (19). P. 6545. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27196545>
27. Ruan H., Zhu T., Wang T., et al. Quercetin Modulates Ferroptosis via the SIRT1/Nrf-2/HO-1 Pathway and Attenuates Cartilage Destruction in an Osteoarthritis Rat Model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. №25 (13). P. 7461. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25137461>
28. Sul O. J., Ra S. W. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-κB in Lung Epithelial Cells. *Molecules*. 2021. №26 (22). P. 6949. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26226949>
29. Liu K., Zhu Y., Gao W., et al. Resveratrol alleviates heart failure by activating foxo3a to counteract oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024. №181. P. 117716. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117716>
30. Yu D., Xiong J., Gao Y., et al. Resveratrol activates PI3K/AKT to reduce myocardial cell apoptosis and mitochondrial oxidative damage caused by myocardial ischemia/reperfusion injury. *Acta Histochemica*. 2021;123(5):151739. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2021.151739>
31. Chekalina N. I., Kazakov Y. M., Mamontova T. V., et al. Resveratrol more effectively than quercetin reduces endothelium degeneration and level of necrosis factor α in patients with coronary artery disease. *Wiadomości Lekarskie*. 2016. №69 (3 pt 2). P. 475–479. PMID: 28478409
32. Farkhakfar A., Hassanpour S., Zendehelel M. Resveratrol plays neuroprotective role on ketamine-induced schizophrenia-like behaviors and oxidative damage in mice. *Neuroscience Letters*. 2023. №813. P. 137436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137436>
33. Zhang W., Wang X., Tang Y., et al. Melatonin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity via inhibiting oxidative stress, pyroptosis and apoptosis by activating Sirt1/Nrf2 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023. №162. P. 114591. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114591>
34. Estrada-Reyes R., Quero-Chávez D. B., Trueta C., et al. Low Doses of Ketamine and Melatonin in Combination Produce Additive Antidepressant-like Effects in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22 (17). P. 9225. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179225>
35. Tripathi R., Bano H., Alam M. R. Case report on melatonin overdose: Cause and concern. *Sleep Medicine: X*. 2024. №7. P. 100116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sleepx.2024.100116>
19. Ölmeztürk Karakurt TC, Emir İ, Bedir Z, Ozkaloglu Erdem KT, Süleyman H, et al. Effects of carvacrol on ketamine-induced cardiac injury in rats: an experimental study. *Drug and Chemical Toxicology*. 2024;47(2):166–71. DOI: <https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2155664>
20. Çömez MS, Cellat M, Özkan H, Borazan Y, Aydın T, Gökçek İ, et al. Protective effect of oleuropein on ketamine-induced cardiotoxicity in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2020;393(9):1691–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01870-w>
21. Cao J, Mai H, Chen Y, Yuan R, Fang E, Liu M, Fu C. Ketamine Promotes LPS-Induced Pulmonary Autophagy and Reduces Apoptosis through the AMPK/mTOR Pathway. *Contrast Media & Molecular Imaging*. 2022;2022(1):8713701. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/8713701>
22. Polito L, Bortolotti M, Battelli MG, Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase: A leading actor in cardiovascular disease drama. *Redox Biology*. 2021;48:102195. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/8713701>
23. Lu G, Xiao S, Meng F, Zhang L, Chang Y, Zhao J, et al. AMPK activation attenuates central sensitization in a recurrent nitroglycerin-induced chronic migraine mouse model by promoting microglial M2-type polarization. *The Journal of Headache and Pain*. 2024;25(1):29. DOI: <https://doi.org/10.1186/s10194-024-01739-w>
24. Horváth E, Sólyom Á, Székely J, Nagy EE, Popoviciu H. Inflammatory and Metabolic Signaling Interfaces of the Hypertrophic and Senescent Chondrocyte Phenotypes Associated with Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(22):16468. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242216468>
25. Olabiyyi AA, Tope-Eniola OS, Oluwatuyi AO, Alabi O, Ademola OG, Oguntimehin OM, et al. Quercetin boosts nitric oxide levels and modulates the activities of arginase, acetylcholinesterase and adenosine deaminase in the corpus cavernosum of cyclosporine-treated rats. *Andrologia*. 2022;54(6):e14404. DOI: <https://doi.org/10.1111/and.14404>
26. Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules*. 2022;27(19):6545. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27196545>
27. Ruan H, Zhu T, Wang T, Guo Y, Liu Y, Zheng J. Quercetin Modulates Ferroptosis via the SIRT1/Nrf-2/HO-1 Pathway and Attenuates Cartilage Destruction in an Osteoarthritis Rat Model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7461. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25137461>
28. Sul OJ, Ra SW. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-κB in Lung Epithelial Cells. *Molecules*. 2021;26(22):6949. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26226949>
29. Liu K, Zhu Y, Gao W, Han X, Zhang Q, Zhao Y, Zu Y. Resveratrol alleviates heart failure by activating foxo3a to counteract oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024;181:117716. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117716>
30. Yu D, Xiong J, Gao Y, Li J, Zhu D, Shen X, et al. Resveratrol activates PI3K/AKT to reduce myocardial cell apoptosis and mitochondrial oxidative damage caused by myocardial ischemia/reperfusion injury. *Acta Histochemica*. 2021;123(5):151739. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2021.151739>
31. Chekalina NI, Kazakov YM, Mamontova TV, Vesnina LE, Kaidashev IP. Resveratrol more effectively than quercetin reduces endothelium degeneration and level of necrosis factor α in patients with coronary artery disease. *Wiadomości lekarskie*. 2016;69(3 pt 2):475–479. PMID: 28478409
32. Farkhakfar A, Hassanpour S, Zendehelel M. Resveratrol plays neuroprotective role on ketamine-induced schizophrenia-like behaviors and oxidative damage in mice. *Neuroscience Letters*. 2023;813:137436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137436>
33. Zhang W, Wang X, Tang Y, Huang C. Melatonin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity via inhibiting oxidative stress, pyroptosis and apoptosis by activating Sirt1/Nrf2 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023;162:114591. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114591>
34. Estrada-Reyes R, Quero-Chávez DB, Trueta C, Miranda A, Valdés-Tovar M, Alarcón-Elizalde S, Oikawa-Sala J, Argueta J, Constantino-Jonapa LA, Muñoz-Estrada J, Dubocovich ML, Benítez-King G. Low Doses of Ketamine and Melatonin in Combination Produce Additive Antidepressant-like Effects in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(17):9225. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22179225>
35. Tripathi R, Bano H, Alam MR. Case report on melatonin overdose: Cause and concern. *Sleep Med X*. 2024;7:100116. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sleepx.2024.100116>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що інтерпретація результатів обмежена видовими/модельними чинниками,

Limitations of the study

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the interpretation of the results is limited by species/model

умовами утримання та ресурсними рамками. Досліди *in vivo* на щурах лінії Вістар, чоловічої статі, статевозрілі у стандартизованих умовах із обмеженою кількістю доз, переважно сурогатними показниками та коротким періодом спостереження не дають підстав для остаточних висновків щодо тривалої безпеки та клінічної релевантності. Розмір груп 6 тварин і повна рандомізація підвищують точність і знижують ризик систематичних похибок; міжлабораторної реплікації не виконано, тож зовнішня валідність і переносимість на людину обмежені. Для зменшення впливів дотримано Настанов щодо повідомлення про дослідження на тваринах (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* – ARRIVE) і Належної лабораторної практики (*Good Laboratory Practice* – GLP), стандартизовано протоколи, детально описано статистичні процедури. Результати є попередніми; підтвердження потребує багатоцентрових повторень, аналізу доза-ефект, включення обох статей і різних вікових груп, використання органоїдів/людських тканин та оцінювання клінічно значущих кінцевих точок.

Перспективи подальших досліджень

Продовження доклінічних досліджень корвітину як засобу патогенетичної корекції використання кетаміну в лікувальній практиці.

Конфлікт інтересів

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

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що експериментальні дослідження проведені згідно з вимогами належної лабораторної практики «GLP» (*Good Laboratory Practice*), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та ін.). Дослідження схвалене Комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (витяг з протоколу № 228 від 20 червня 2024 р.).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

factors, housing conditions, and resource constraints. *In vivo* studies in sexually mature male Wistar rats under standardized conditions with a limited number of doses, mostly surrogate endpoints and a short observation period do not allow for definitive conclusions regarding long-term safety and clinical relevance. Group size of 6 animals and complete randomization increase precision and reduce the risk of bias. No interlaboratory replication was performed, so external validity and transferability to humans are limited. To reduce impacts, the Guidelines for Reporting of Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) and Good Laboratory Practice (GLP) were followed, protocols were standardized, and statistical procedures were described in detail. Results are preliminary; confirmation requires multicenter replications, dose-effect analysis, inclusion of both sexes and different age groups, use of organoids/human tissues, and assessment of clinically relevant endpoints.

Prospects for further research

Continuation of preclinical studies of Corvitin as a means of pathogenetic correction of the use of Ketamine in medical practice.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the materials provided, or who sponsored the research conducted.

Ethics statement

The authors of the manuscript hereby declare that the experimental studies were conducted in accordance with the requirements of Good Laboratory Practice (GLP), the Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes of March 18, 1986, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Order of the Ministry of Health of Ukraine of December 14, 2009 No. 944 «On Approval of the Procedure for Conducting Preclinical Studies of Medicinal Products and Examination of Materials for Preclinical Studies of Medicinal Products», the Law of Ukraine of February 21, 2006 No. 3447-IV «On the Protection of Animals from Cruelty», etc.). The study was approved by the Biomedical Ethics Commission of Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (excerpt from protocol No. 228 dated June 20, 2024).

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that in the process of conducting the research and preparing this manuscript, they did not use any generative artificial intelligence tools or services to perform any tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed without the involvement of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних експериментальних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники, лабораторні результати, експериментальні протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням етичних норм та правових обмежень.

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України «Розробка засобів корекції патологічних змін у органах системи травлення за умов хвороб цивілізації», номер державної реєстрації: 0124U001922, прикладна, термін виконання: 2024–2029 рр., науковий керівник – завідувачка кафедри біологічної та біоорганічної хімії, доктор медичних наук, професор К.С. Непорада.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Микитенко Андрій Олегович – доктор медичних наук, доцент кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua

моб.: +38 (098) 551-21-21

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

Пономаренко Вікторія Олександрівна – студентка стоматологічного факультету Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

e-mail: viktoriyaponomarenko14@gmail.com

моб.: +38 (068) 796-36-42

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків.

Якобчук Володимир Анатолійович – студент стоматологічного факультету Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

e-mail: volodumur.yakobenchuk@gmail.com

моб.: +38 (073) 309-86-57

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті.

Зборовська Аліна Ігорівна – студентка стоматологічного факультету Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

e-mail: zborovskayaalina4@gmail.com

моб.: +38 (096) 181-91-36

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, участь у проведенні експериментальних досліджень, написання тексту статті.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that the work uses the results of their own experimental studies, which were systematized and analyzed by the authors. Primary data include generalized indicators, laboratory results, experimental protocols and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the archive of the research group and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, taking into account ethical norms and legal restrictions.

Funding information

The article is a fragment of the planned scientific research work of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine «Development of means of correction of pathological changes in the organs of the digestive system under conditions of diseases of civilization», state registration number: 0124U001922, applied, implementation period: 2024–2029, supervisor – Head of the Department of Biological and Bioorganic Chemistry, Doctor of Medical Sciences, Professor K.S. Neporada.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Mykytenko Andrii Olehovych – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor of Department of Biological and Bioorganic Chemistry of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

e-mail: a.mykytenko@pdmu.edu.ua

tel.: +38 (098) 551-21-21

Author's contribution: research concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing, final approval of the article.

Ponomarenko Viktoriia Oleksandrivna – student of Faculty of Dentistry of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

e-mail: viktoriyaponomarenko14@gmail.com

tel.: +38 (068) 796-36-42

Author's contribution: selection of literary sources on the topic of the work, participation in experimental research, writing the text of the article, formulating conclusions.

Yakobenchuk Volodymyr Anatoliyovych – student of Faculty of Dentistry of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

e-mail: volodumur.yakobenchuk@gmail.com

tel.: +38 (073) 309-86-57

Author's contribution: selection of literary sources on the topic of the work, participation in experimental research, writing the text of the article.

Zborovska Alina Ihorivna – student of Faculty of Dentistry of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

e-mail: zborovskayaalina4@gmail.com

tel.: +38 (096) 181-91-36

Author's contribution: selection of literary sources on the topic of the work, participation in experimental research, writing the text of the article.

Акімов Олег Євгенович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», доцент кафедри патофізіології Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

е-mail: o.akimov@pdmu.edu.ua

моб.: +38 (099) 604-23-13

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

Непорада Каріне Степанівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, Україна, 36000;

е-mail: k.neporada@pdmu.edu.ua

моб.: +38 (095) 601-59-18

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

Akimov Oleh Yeuhenovich – Doctor of Philosophy in the field of health care, specialty «Medicine», Associate Professor of the Department of Pathophysiology of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

е-mail: o.akimov@pdmu.edu.ua

tel.: +38 (099) 604-23-13

Author's contribution: research concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article writing, article editing, final approval of the article.

Neporada Karine Stepanivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biological and Bioorganic Chemistry of the Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 23 Schevchenko Str., Poltava, Ukraine, 36000;

е-mail: k.neporada@pdmu.edu.ua

tel.: +38 (095) 601-59-18

Author's contribution: research concept and design, data analysis and interpretation, article writing, article editing, final approval of the article

Рукопис надійшов <i>Manuscript was received</i> 22.07.2025	Отримано після рецензування <i>Received after review</i> 30.08.2025	Прийнято до друку <i>Accepted for printing</i> 15.10.2025	Опубліковано <i>Published</i> 27.10.2025
--	---	---	--

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-10>
УДК: 616.31-006.6:578.828.6:577.21:004.8:004.942



Інтегративне мультиомне моделювання та створення цифрових близнюків на основі штучного інтелекту для ВПЛ-асоційованого раку ротоглотки

Граматюк С.М.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>, e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
Іванова Ю.В.³, <https://orcid.org/0000-0003-4464-3035>, e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
Хаббард Е.^{6,7}, <https://orcid.org/0009-0003-4447-2106>, e-mail: elee256@gmail.com
Саргсян К.^{2,4,5}, <https://orcid.org/0000-0001-5853-4994>, e-mail: karine.sargsyan@medunignraz.at
Оклей Д.В.⁸, <https://orcid.org/0000-0001-9509-3630>, e-mail: okley@ukr.net
Голобородько М.М.³, <https://orcid.org/0000-0001-9554-928X>, e-mail: mm.goloborodko@knmu.edu.ua

¹Інститут Клітинної Біореабілітації,

Українська асоціація біобанків, Харків, Україна

²Медичний університет м. Грац, Грац, Австрія

³Харківський національний медичний університет

Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

⁴Єреванський державний медичний університет імені Мхітара Гераці, Єреван, Вірменія

⁵Медичний центр Cedars-Sinai, Лос-Анджелес, Каліфорнія, Сполучені Штати Америки

⁶Українська асоціація Біобанк Австрія, Грац, Австрія

⁷Незалежний консультант, Хантсвілл, Алабама, Сполучені Штати Америки

⁸Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Integrative multi-omics and AI-driven digital twin modelling for HPV-associated oropharyngeal carcinoma

Gramatiuk S.M.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>, e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
Ivanova Yu.V.³, <https://orcid.org/0000-0003-4464-3035>, e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
Hubbard E.^{6,7}, <https://orcid.org/0009-0003-4447-2106>, e-mail: elee256@gmail.com
Sargsyan K.^{2,4,5}, <https://orcid.org/0000-0001-5853-4994>, e-mail: karine.sargsyan@medunignraz.at
Oklei D.V.⁸, <https://orcid.org/0000-0001-9509-3630>, e-mail: okley@ukr.net
Holoborodko M.M.³, <https://orcid.org/0000-0001-9554-928X>, e-mail: mm.goloborodko@knmu.edu.ua

¹Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation,
Ukraine Association of Biobank, Kharkiv, Ukraine

²Medical University of Graz, Graz, Austria

³Kharkiv National Medical University
of Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

⁴Yerevan State Medical University named after Mkhitar Heratsi, Yerevan, Armenia

⁵Cedars-Sinai Medical Center, Beverly Hills, United States of America

⁶Ukraine Association of Biobank Austria, Graz, Austria

⁷Independent consultant, Huntsville, Alabama, United States of America

⁸V.N. Karazin Kharkiv National University
of Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

рак ротоглотки, асоційований з ВПЛ, цифровий двійник, мультиоміка, штучний інтелект, імунна відповідь, гістопатологія, персоналізована онкологія.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Впродовж останніх 30 років кількість зареєстрованих випадків плоскоклітинного раку ротоглотки демонструє неухильну тенденцію до росту, причому у 50–70% пацієнтів онкозахворювання асоційоване із вірусом папіломи людини.

Мета роботи – розробити та валідувати модель цифрового розвитку на основі штучного інтелекту, що поєднує мультиоміки-ієрархії (ДНК/РНК (транскриптоміка)/протеоміка/ліпідоміка) та функції цифрової патології для підвищення прогностичної точності та персоналізованих стратегій лікування пацієнтів з вірусом папіломи людини позитивним орофарингеальним плоскоклітинним раком.

Для кореспонденції:

Голобородько Микола Миколайович
Харківський національний медичний
університет Міністерства охорони
здоров'я України, кафедра хірургії №1;
в'їзд Лікарський, буд. 1, м. Харків,
Україна, 61103;
e-mail: mm.goloborodko@knmu.edu.ua

© Граматюк С.М., Іванова Ю.В.,
Хаббард Е., Саргсян К., Оклей Д.В.,
Голобородько М.М., 2025

Матеріали та методи. В рамках нашого дослідження ми провели комплексну мультиомічну характеристику 47 пацієнтів з вірусом папіломи людини позитивним орофарингеальним плоскоклітинним раком, використовуючи високопродуктивне секвенування ДНК та РНК, протеоміку та ліпідоміку на основі мас-спектрометрії, а також гістопатологічний аналіз зображень на основі штучного інтелекту. Молекулярні та морфологічні маркери, що мали статистично значуще прогностичне або діагностичне значення, були ідентифіковані та інтегровані у моделі машинного навчання, зокрема глибокі нейронні мережі (Deep Neural Networks), Random Forest та лінійну регресію з L1-регуляризцією. Зовнішню валідацію було проведено за допомогою наборів даних TCGA-HNSC (n = 96) та GEO GSE65858 (n = 86).

Результати. Надмірна експресія генів, пов'язаних з імунною системою, та білків запалення (S100A9, LCN2) була пов'язана з інфільтрацією CD8⁺ Т-клітин та відповіддю на терапію. Точність моделі зростала з морфологічними ознаками (гіперхромазія та щільність кератинових перлин). Модель цифрового двійника досягла показника area under curve на receiver operating characteristic в 0,91 при внутрішній валідації та зберегла прогностичну ефективність у зовнішніх когортах з медіанною прогнозованою різницею виживання 8,3 міс між пацієнтами, які відповіли на лікування, та пацієнтами, які не відповіли на нього (p < 0,01).

Висновки. Багаторівневий підхід із використанням штучного інтелекту, заснований на функціональному аналізі, здатен формувати біологічно та клінічно релевантні цифрові двійники вірусом папіломи людини-позитивного орофарингеального плоскоклітинного раку забезпечуючи масштабовану стратегію для персоналізованого прогнозування терапевтичної відповіді та підвищення точності лікування онкологічних захворювань.

Для цитування:

Граматюк С.М., Іванова Ю.В., Хаббард Е., Саргсян К., Оклей Д.В., Голобородько М.М. Інтегративне мультиомне моделювання та створення цифрових близнюків на основі штучного інтелекту для ВПЛ-асоційованого раку ротоглотки. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 807–824. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-10>

Keywords:

HPV-associated oropharyngeal cancer, digital twin, multi-omics, AI, immune response, histopathology, personalized oncology.

For correspondence:

Holoborodko Mykola Mykolayovich
Kharkiv National Medical University
of Ministry of Health of Ukraine,
Department of Surgery №1;
1 Likarskyi Driveway, Kharkiv, Ukraine,
61103;
e-mail: mm.goloborodko@knmu.edu.ua

© Gramatiuk S.M., Ivanova Yu.V.,
Hubbard E., Sargsyan K., Oklei D.V.,
Holoborodko M.M., 2025

ABSTRACT

Background. Over the past 30 years, the number of registered cases of squamous cell carcinoma of the oropharynx has shown a steady upward trend, with 50–70% of patients having cancer associated with human papillomavirus.

Purpose – to design and validate an artificial intelligence model combining multi-omics-hierarchies (DNA/RNA(Transcriptomics)/Proteomics/Lipidomics) and Digital Pathology features for improved prognostic accuracy and personalized-treatment strategies in human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma patients.

Materials and Methods. As part of our study, we performed a comprehensive multi-omic characterization of 47 human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma patients by employing high-throughput DNA and RNA sequencing, mass spectrometry-based proteomics and lipidomics, and AI-driven histopathological image analysis. Molecular and morphological markers of significance were identified and incorporated into machine learning models, including deep neural networks, Random Forest, and L1 regression (L1). External validation was made by TCGA-HNSC (n = 96) and GEO GSE65858 (n = 86) datasets.

Results. Overexpression of immune-system-related genes (IFNG, PD-L1, CXCL9) and inflammation proteins (S100A9, LCN2) was associated with CD8⁺ T-cell infiltration and response to therapy. The accuracy of the model increased with morphologic features (hyperchromasia and keratin pearl density). The digital twin model achieved an area under curve on the receiver operating characteristic curve of 0.91 on internal validation and preserved predictive performance in external cohorts, with an 8.3-month median predicted survival difference between responders and non-responders (p < 0.01).

Conclusions. The multi-layered artificial intelligence approach based on functional analysis is capable of constructing biologically and clinically relevant digital twins of HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma, providing a scalable framework for personalized therapy prediction and enhancing the precision of cancer care.

For citation:

Gramatiuk SM, Ivanova YuV, Hubbard E, Sargsyan K, Oklei DV, Holoborodko MM. Integrative multi-omics and AI-driven digital twin modelling for HPV-associated oropharyngeal carcinoma. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):807–824. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-10>

ВСТУП

Вірус папіломи людини - позитивний орофарингальний плоскоклітинний рак (ВПЛ+ ОФПР) характеризується стійким зростанням захворюваності впродовж останніх десятиліть, особливо серед осіб молодого віку без традиційних факторів ризику, зокрема тютюнопаління та надмірного вживання алкоголю. [1]. Хоча ВПЛ-позитивні пухлини ротоглотки загалом характеризуються більш сприятливим клінічним перебігом і кращими показниками загальної виживаності порівняно з ВПЛ-негативними аналогами, зберігається значна внутрішньопухлинна та міжіндивідуальна біологічна гетерогенність щодо терапевтичної відповіді та прогнозу [2].

Наразі стратифікація пацієнтів із плоскоклітинним раком ротоглотки здебільшого ґрунтується на клініко-патологічних критеріях та стадіюванні за системою TNM. Водночас навіть у межах одних і тих самих клінічних категорій спостерігається суттєва варіабельність у відповіді на лікування, що підкреслює необхідність впровадження більш точних молекулярних класифікацій та персоналізованих терапевтичних підходів [3].

Останні досягнення мультиомічних аналітичних технологій, які інтегрують геномні, транскриптомні, протеомні, ліпідомні та морфологічні дані, продемонстрували високу прогностичну ефективність у низці злоякісних новоутворень, зокрема при аденокарциномі підшлункової залози та меланомі [4, 5]. Проте застосування таких інтегративних стратегій у дослідженні та клінічному менеджменті ВПЛ+ ОФПР залишається недостатньо розробленим і наразі перебуває на етапі експериментальної валідації.

Паралельно з цим, моделі цифрової патології та глибинного морфологічного аналізу гістологічних зображень, побудовані на основі штучних нейронних мереж, дедалі частіше використовуються як інструменти кількісної морфометрії для об'єктивної оцінки таких характеристик, як гіперхромазія, ядерна атипія, мітотична активність та ступінь імунної інфільтрації. Інтеграція морфологічних дескрипторів із мультиомічними біомаркерами створює потенціал для більш комплексного відображення біології пухлини та підвищення точності прогнозування клінічної відповіді на терапію [6, 7].

Конкретні завдання дослідження включали:

1. Ідентифікацію ключових молекулярних і морфологічних маркерів, асоційованих із терапевтичною відповіддю;
2. Побудову прогностичної моделі цифрового близнюка на основі інтеграції мультиомічних та морфологічних параметрів;
3. Оцінку прогностичної ефективності моделі у порівнянні з традиційними клінічними методами стратифікації.

Мета роботи – розробити та валідувати інтегративну модель цифрового близнюка для пацієнтів із ВПЛ+ ОФПР, засновану на мультиомічних даних (секвенування ДНК та РНК, протеоміка, ліпідоміка) та кількісних морфологічних ознаках, отриманих із цифрової патології.

INTRODUCTION

Human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma (HPV+ OPSCC) has demonstrated a steady increase in incidence over recent years, particularly among younger patients lacking traditional risk factors such as smoking and alcohol abuse [1]. While HPV-positive oropharyngeal tumors are associated with a more favorable prognosis compared to their HPV-negative counterparts, considerable biological heterogeneity persists in therapeutic response and overall survival outcomes [2].

Current stratification approaches for OPSCC patients rely predominantly on clinico-pathological criteria and TNM staging. However, substantial variation in treatment response is observed even within the same clinical categories, underscoring the necessity for a more precise molecular classification and the adoption of personalized treatment paradigms [3].

In recent years, multi-omics analytical strategies (encompassing genomic, transcriptomic, proteomic, and morphological data) have demonstrated high predictive performance in malignancies such as pancreatic cancer and melanoma [4, 5]. Nonetheless, such approaches remain underdeveloped and are yet to achieve widespread clinical implementation in the context of HPV+ OPSCC.

In parallel, digital pathology and neural network-based histological image analysis models are emerging as powerful tools for quantitative morphological characterization of tumors, including features such as hyperchromasia, nuclear atypia, and immune infiltration. Integrating these morphological traits with multi-omics biomarkers has the potential to offer a more comprehensive depiction of tumor biology and significantly improve the precision of therapy response prediction [6, 7].

The specific objectives of the study included:

1. Identification of key molecular and morphological markers associated with therapeutic response;
2. Development of a digital twin prognostic model based on the integration of multi-omic and morphological parameters;
3. Evaluation of the prognostic performance of the model in comparison with traditional clinical stratification methods.

Objective – was to develop and validate an integrative digital twin model for patients with HPV+OPSCC, leveraging multi-omics data (DNA and RNA sequencing, proteomics, lipidomics) and digital pathology-derived features.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження включало мультиомічне профілювання 47 пацієнтів з підтвердженим діагнозом ВПЛ+ ОФПР. Критерії включення базувалися на позитивному статусі p16, підтвердженіму імуногістохімією, та наявності ДНК ВПЛ, що забезпечувало високу популяційну специфічність. У кожного пацієнта було зібрано комплексні біологічні зразки, включаючи фіксовану формаліном, залиту в парафін (FFPE) пухлинну тканину, периферичну кров з виділенням плазми, гістологічні препарати, забарвлені гематоксилін-еозином, та клініко-патологічні дані, що охоплюють стадіювання за TNM, статус куріння та відповідь на лікування.

Секвенування ДНК. Аналіз соматичних мутацій проводили за допомогою панелі TruSight Oncology 500 (468 онкогенів; Illumina NovaSeq 6000; покриття 500×). Вирівнювання послідовностей проводили відносно референсного геному GRCh38 за допомогою GATK v4.3, з виявленням варіантів за допомогою MuTect2 та аналізом варіацій кількості копій (CNV) за допомогою CNVkit. Анотацію варіантів проводили за допомогою Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) з фільтрацією на основі клінічно значущих баз даних (ClinVar, COSMIC).

Секвенування РНК. Загальну РНК екстрагували з тих самих зразків FFPE за допомогою набору Qiagen RNeasy FFPE, включаючи обов'язковий етап деградації формальдегіду зшиванням. Якість РНК оцінювали за допомогою системи Agilent Bioanalyzer 2100. Підготовку бібліотек здійснювали з використанням набору TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit, який включає полі(А)-селекцію та синтез комплементарної ДНК. Секвенування проводили на платформі Illumina NextSeq 550, що забезпечує достатню глибину для аналізу об'ємного секвенування РНК.

Зчитування були вирівняні за допомогою алгоритму STAR, а експресія на рівні транскрипту була кількісно визначена. Нормалізацію проводили за допомогою DESeq2, а активацію імунної сигнатури оцінювали за допомогою балів IFNG та Т-клітинно-запальних реакцій за допомогою аналізу варіацій набору генів (GSVA). Особлива увага була приділена генам, пов'язаним з протипухлинним імунітетом та регуляцією клітинного циклу: IFNG, CXCL9, LAG3, PD-L1, E2F1 та SOX2.

Протеоміка та ліпідоміка. Мас-спектрометрія (Q Exactive HF-X) виявила біомаркери запалення та пухлинної активності, включаючи S100A9, MMP9, LCN2, ANXA1 та α1-антитрипсин. Ліпідомний профіль включав кардіоліпіни та фосфоліпіди, пов'язані з клітинним метаболізмом та імунними реакціями.

Мас-спектрометрію високої роздільної здатності проводили на системі Q Exactive HF-X у поєднанні з рідинною нанохроматографією UltiMate 3000 RSLCnano. Ідентифікацію та кількісне визначення білків і ліпідів проводили за допомогою MaxQuant версії 2.2 з базою даних UniProt Human Reference.

Цифрова патологія та вилучення ознак. Гістологічні препарати сканували при 40-разовому збільшенні за допомогою системи Leica Aperio AT2. Зображення аналізували за допомогою програмного забезпечення

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The study included multi-omics profiling of 47 patients with a confirmed diagnosis of HPV+ OPSCC. Inclusion criteria were based on a positive p16 status verified by immunohistochemistry and the presence of HPV DNA, ensuring high population specificity. Comprehensive biospecimens were collected from each patient, including formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue, peripheral blood with plasma isolation, hematoxylin-eosin-stained histological slides, and clinico-pathological data encompassing TNM staging, smoking status, and treatment response.

DNA Sequencing. Somatic mutation analysis was performed using the TruSight Oncology 500 panel (468 oncogenes; Illumina NovaSeq 6000; 500× coverage). Sequence alignment was conducted against the GRCh38 reference genome using GATK v4.3, with variant detection by MuTect2 and copy number variation (CNV) analysis by CNVkit. Variant annotation was performed using Ensembl Variant Effect Predictor (VEP), with filtering based on clinically relevant databases (ClinVar, COSMIC).

RNA Sequencing. Total RNA was extracted from the same FFPE samples using the Qiagen RNeasy FFPE Kit, including a mandatory formaldehyde crosslink degradation step. RNA quality was assessed using the Agilent Bioanalyzer 2100. Libraries were prepared using the TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit with poly-A selection and cDNA synthesis. Sequencing was conducted on the Illumina NextSeq 550 platform, providing sufficient depth for bulk RNA-seq analysis.

Reads were aligned using the STAR algorithm, and transcript-level expression was quantified. Normalization was performed using DESeq2, and immune signature activation was assessed via IFNG and T-cell-inflamed scores using Gene Set Variation Analysis (GSVA). Particular focus was placed on genes associated with anti-tumor immunity and cell cycle regulation: IFNG, CXCL9, LAG3, PD-L1, E2F1, and SOX2.

Proteomics and Lipidomics. Mass spectrometry (Q Exactive HF-X) identified biomarkers of inflammation and tumor activity, including S100A9, MMP9, LCN2, ANXA1, and α1-antitrypsin. The lipidomic profile included cardiolipins and phospholipids associated with cellular metabolism and immune responses.

High-resolution mass spectrometry was performed on the Q Exactive HF-X system combined with UltiMate 3000 RSLCnano liquid nano-chromatography. Protein and lipid identification and quantification were conducted using MaxQuant v2.2 with the UniProt Human Reference database.

Digital Pathology and Feature Extraction. Histological slides were scanned at 40× magnification using the Leica Aperio AT2 system. Images were analyzed using HALO AI software integrated with a custom

HALO AI, інтегрованого зі спеціальною моделлю на основі PyTorch. Сегментацію тканин та ядер виконували за допомогою згорткової нейронної мережі ResNet-34, попередньо навченої на великому наборі гістологічних даних та перевіреної вручну досвідченими патологоанатомами.

Для кожного зразка було вилучено кількісні ознаки, включаючи параметри ядерної морфометричної структури (площа, периметр, округлість), метрику гіперхромазії (інтенсивність забарвлення) та текстурні ознаки (фільтри Хараліка та Габора). Також було кількісно визначено щільність кератинових перлин. Ці параметри були використані як вхідні ознаки для побудови цифрового двійника.

Інтеграція даних та побудова цифрового двійника. Всі мультиомічні та морфологічні дані були інтегровані в єдину структуру HDF5. Було застосовано зменшення розмірності (PCA, t-SNE) та відбір ознак (рекурсивне виключення ознак, L1-регуляризація). Прогностичні моделі були розроблені з використанням Random Forest ($n = 500$), глибоких нейронних мереж (структура шарів: 256–128–64–32–1) та L1-регресії. Перехресна перевірка з виключенням одного елемента (LOOCV) забезпечила надійність моделі. Інтерпретованість була забезпечена завдяки аналізу важливості перестановок та SHAP-аналізу, що є вирішальним для клінічної трансляції.

Методологія валідації. Зовнішню валідацію проводили з використанням незалежних когорт з TCGA-HNSC ($n = 96$) та GEO GSE65858 ($n = 86$). Моделі продемонстрували високу відтворюваність з AUC 0,91 (DNN), 0,87 (RF) та 0,82 (L1). Прогнози корелювали з інфільтрацією CD8+ та показником IFNG. Медіанна різниця у виживаності між прогнозованими респондентами та нереспондентами досягла 8,3 міс ($p < 0,01$, логарифмічний ранговий тест).

Відбір порівняльних досліджень для валідації (скринінг за принципами PRISMA). Структурований пошук літератури було проведено відповідно до методології PRISMA 2020 з метою ідентифікації порівняльних досліджень і наборів даних, релевантних для зовнішньої валідації моделі цифрового двійника. Пошук здійснювали у базах даних PubMed, Scopus та Web of Science за період 2013–2025 рр.

Стратегія пошуку включала такі ключові слова та логічні оператори: «*digital twin*» OR «*AI-driven modelling*» OR «*multi-omics integration*» AND «*oncology*» OR «*pathology*» OR «*biobank*».

Критерії включення: рецензовані оригінальні дослідження, що застосовують цифрове або штучно-інтелектуальне моделювання для прогнозування перебігу онкологічних захворювань, інтеграції мультиомних даних або гістопатологічного аналізу. Критерії виключення: оглядові статті без кількісних результатів, клінічні випадки, тези конференцій та препринти без валідації.

Скринінг і оцінку відповідності проводили незалежно два дослідники. Після усунення дублікатів та перевірки релевантності до підсумкового аналізу було включено 64 дослідження, використані для порівняльного аналізу та валідації моделі (рис. 1) [25].

PyTorch-based model. Tissue and nuclear segmentation were performed using a ResNet-34 convolutional neural network, pre-trained on a large histological dataset and validated manually by expert pathologists.

Quantitative features were extracted for each sample, including nuclear morphometric parameters (area, perimeter, circularity), hyperchromasia metrics (staining intensity), and texture features (Haralick and Gabor filters). Density of keratin pearls was also quantified. These parameters were used as input features for constructing the digital twin.

Data Integration and Digital Twin Construction.

All multi-omics and morphological data were integrated into a unified HDF5 structure. Dimensionality reduction (PCA, t-SNE) and feature selection (Recursive Feature Elimination, L1-regularization) were applied. Prognostic models were developed using Random Forest ($n = 500$), deepneuralnetworks(layerstructure:256–128–64–32–1), and L1 regression. Leave-One-Out Cross-Validation (LOOCV) ensured model robustness. Interpretability was enabled through Permutation Importance and SHAP analysis, crucial for clinical translation.

Validation Methodology. External validation was conducted using independent cohorts from TCGA-HNSC ($n = 96$) and GEO GSE65858 ($n = 86$). The models exhibited strong reproducibility with AUCs of 0.91 (DNN), 0.87 (RF), and 0.82 (L1). Predictions correlated with CD8+ infiltration and IFNG-score. Median survival differences between predicted responders and non-responders reached 8.3 months ($p < 0.01$, log-rank test).

Comparative Studies Selection for Validation (PRISMA-based Screening). A structured literature search was performed following the PRISMA 2020 framework to identify comparative studies and datasets relevant for external validation of the digital twin model. Searches were conducted in PubMed, Scopus, and Web of Science databases for the period 2013–2025.

The search strategy included the keywords and Boolean operators: «*digital twin*» OR «*AI-driven modelling*» OR «*multi-omics integration*» AND «*oncology*» OR «*pathology*» OR «*biobank*».

Inclusion criteria: peer-reviewed original studies applying AI-based or digital modelling in cancer prediction, multi-omics data integration, or histopathological analysis.

Exclusion criteria: narrative reviews without quantitative results, case reports, conference abstracts, and non-validated preprints.

Screening and eligibility assessment were independently performed by two researchers. After duplicate removal and relevance screening, $n = 64$ studies were included for comparative analysis and model validation (fig. 1) [25].

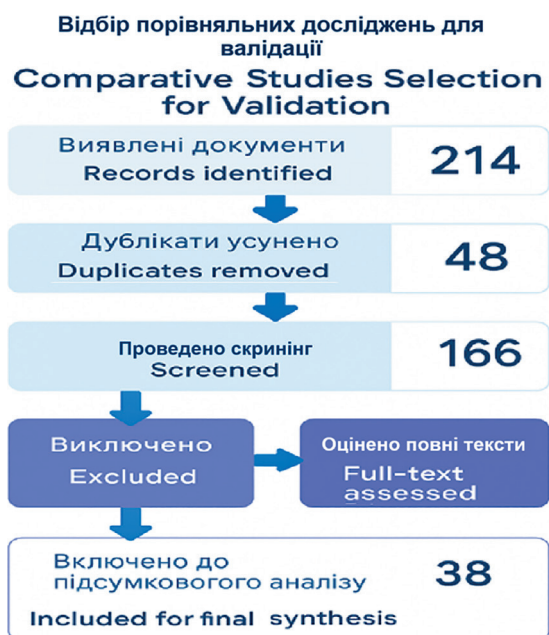


Рис. 1. Схема відбору досліджень для аналізу
Fig. 1. Scheme of comparative studies selection for validation

Статистичний та обчислювальний аналіз. Вибір ознак проводився за допомогою рекурсивного виключення ознак (RFE) та L1-регуляризації (Lasso). Прогнозне моделювання використовувало три основні архітектури: Random Forest ($n = 500$), глибoku нейронну мережу (п'ять шарів, архітектура: $256 - 1$) та лінійну L1-регресію. Продуктивність моделі оцінювалася за допомогою перехресної перевірки Leave-One-Out (LOOCV).

Метрики продуктивності включали площу під кривою робочих характеристик приймача (ROC-AUC), чутливість, специфічність та точність. Інтерпретацію моделі полегшували за допомогою аналізу SHAP (адитивні пояснення SHapley) та важливості ознак перестановок, що забезпечувало клінічно значуще розуміння внеску ознак.

Statistical and Computational Analysis. Feature selection was performed using Recursive Feature Elimination (RFE) and L1-regularization (Lasso). Predictive modelling employed three main architectures: Random Forest ($n = 500$), a deep neural network (five layers, architecture: $256 - 1$), and linear L1 regression. Model performance was evaluated using Leave-One-Out Cross-Validation (LOOCV).

Performance metrics included Receiver Operating Characteristic Area Under the Curve (ROC-AUC), sensitivity, specificity, and accuracy. Model interpretability was facilitated by SHAP (SHapley Additive exPlanations) analysis and Permutation Feature Importance, providing clinically relevant insights into feature contributions.

РЕЗУЛЬТАТИ

Застосування панелі цільового секвенування TruSight Oncology 500 дало змогу здійснити комплексну характеристику мутаційного ландшафту пухлин у пацієнтів із ВПЛ+ ОФПР. Функціонально значущі одонуклеотидні варіанти (SNV) та інсерції/делеції (INDEL) були ідентифіковані у 80,9% випадків (38 із 47 зразків). Найчастіше мутаційні зміни реєструвалися у генах PIK3CA, TP53 та CDKN2A, а також у низці інших регуляторів клітинного циклу та реплікації ДНК. Додатково виявлено ампліфікації EGFR та CCND1, а також делеції CDKN2A, що узгоджується з відомою молекулярною сигнатурою ВПЛ-позитивних плоскоклітинних карцином голови та шиї та свідчить про потенційну чутливість до інгібіторів PI3K і CDK4/6.

Транскриптомне профілювання, яке охоплювало понад 20,000 транскриптів, виявило близько 2300 генів із диференційованою експресією між групами пацієнтів, стратифікованих за клінічною відповіддю на терапію (скориговане $p < 0,05$). Примітно, що 63,8% пацієнтів демонстрували високу експресію IFNG,

RESULTS

Utilization of the TruSight Oncology 500 targeted sequencing panel enabled comprehensive characterization of the mutational landscape in tumors from patients with HPV-associated oropharyngeal cancer. Functionally significant single nucleotide variants (SNVs) or insertions/deletions (INDELs) were identified in 80.9% of cases (38 out of 47 patients), with the most frequently altered genes being PIK3CA, TP53, and CDKN2A, as well as other regulators of the cell cycle and DNA replication. Additionally, amplifications of EGFR and CCND1, along with deletions of CDKN2A, were detected – findings consistent with the known molecular signature of HPV-positive head and neck squamous cell carcinomas and suggestive of potential responsiveness to PI3K and CDK4/6 inhibitors.

Transcriptomic profiling encompassing over 20,000 transcripts revealed approximately 2,300 genes with differential expression between patients stratified by clinical response to therapy (adjusted $p < 0.05$). Notably, 63.8% of patients exhibited high IFNG expression,

асоційовану зі значною інфільтрацією CD8⁺ Т-лімфоцитів. У пацієнтів із позитивною терапевтичною відповіддю спостерігалася ко-регуляція CXCL9, LAG3 та PD-L1, що формувала Т-клітинно-запальну сигнатуру. Натомість підвищена експресія E2F1 та SOX2 переважала у хворих із несприятливим перебігом захворювання, що вказує на зв'язок цих маркерів із епітеліальною пластичністю та підвищеною проліферативною активністю клітин.

На рис. 2 представлено стовпчасту діаграму профілів експресії ключових генів (RNA-seq), де виділяється домінантна експресія PD-L1, CXCL9, SOX2 та IFNG, що підтверджує імунзапальний фенотип цієї когортної групи.

significantly associated with prominent CD8⁺ T-cell infiltration. In patients demonstrating a favorable therapeutic response, co-regulation of CXCL9, LAG3, and PD-L1 was observed, forming a T-cell-inflamed signature. Conversely, elevated expression of E2F1 and SOX2 predominated in patients with poor disease trajectories, suggesting a link between these markers and epithelial plasticity as well as enhanced proliferative activity.

Figure 2 presents a bar graph of key gene expression profiles (RNA-seq), highlighting the dominant expression of PD-L1, CXCL9, SOX2, and IFNG, thereby reinforcing the immuno-inflammatory phenotype observed in this cohort.

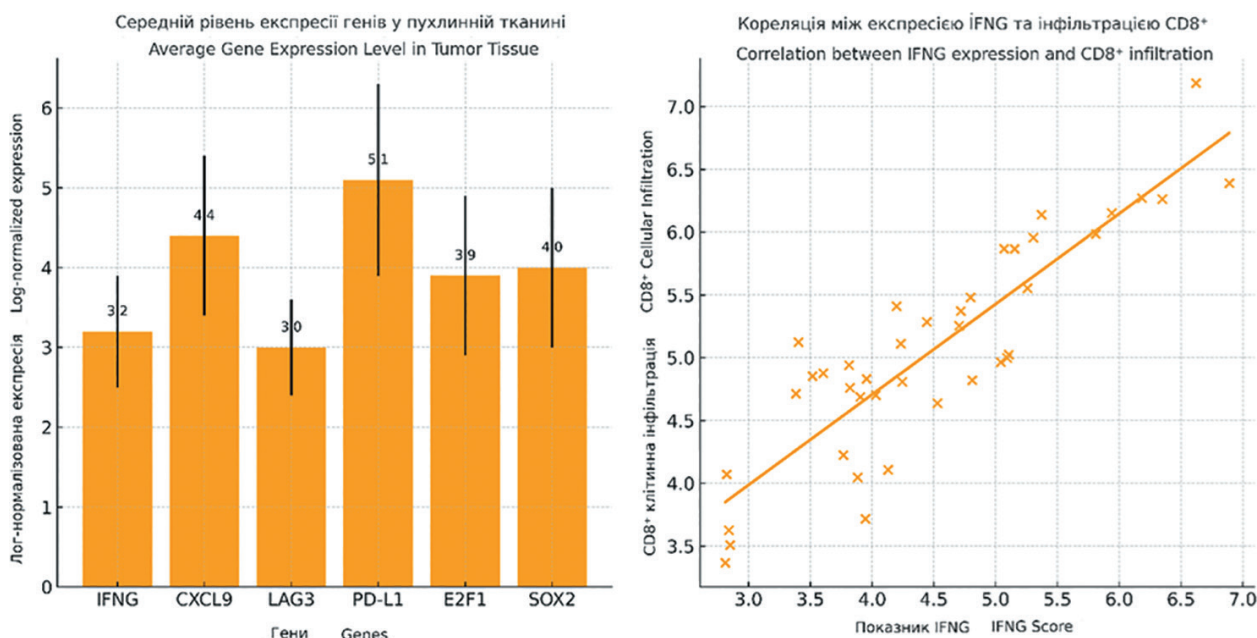


Рис. 2. Діаграма експресії генів та кореляції між показником IFNG та інфільтрацією CD8⁺ Т-клітин
Fig. 2. Bar plot of gene expression and correlation between IFNG score and CD8⁺ T-cell infiltration

Високий рівень експресії гена PD-L1 виявлено у 51,1% пацієнтів, що, у поєднанні з підвищеним індексом IFNG, вказує на потенційну клінічну доцільність застосування імунотерапії в молекулярно детермінованій підгрупі хворих. Найвищі середні рівні експресії відзначено для PD-L1, далі – CXCL9, SOX2 та IFNG. Підвищена коекспресія IFNG та CXCL9 асоціювалася з вираженою інфільтрацією CD8⁺ Т-лімфоцитів, що відображає Th1-опосередковану протипухлинну імунну відповідь і свідчить про потенційну чутливість пухлин до блокади імунних контрольних точок.

Інтеграція транскриптомних, морфологічних та протеомних даних у багатошарову модель цифрового близнюка продемонструвала високу прогностичну точність. Глибока нейронна мережа, навчена на агрегованих мультиомічних дескрипторах, досягла максимальної площі під кривою (AUC) = 0,91, перевершивши за класифікаційною ефективністю як моделі Random Forest, так і регресійні моделі L1. Ці результати підтверджують високу інформативність інтегративного мультиомного підходу та його практичну цінність для персоналізованої стратифікації пацієнтів із ВПЛ+ ОФПР.

High expression of PD-L1 was identified in 51.1% of patients. When combined with an elevated IFNG score, this suggests the potential clinical utility of immunotherapy in this molecularly defined subgroup. The most abundantly expressed gene was PD-L1, followed by CXCL9, SOX2, and IFNG. Elevated expression of IFNG and CXCL9 was predominantly observed in patients exhibiting pronounced CD8⁺ T-cell infiltration, indicative of a Th1-associated anti-tumor immune response and potential tumor sensitivity to immunotherapy.

Integration of transcriptomic, morphological, and proteomic data into a multilayered digital twin model demonstrated high prognostic accuracy. A deep neural network trained on the aggregated multi-omics features achieved a maximal AUC of 0.91, outperforming both the Random Forest and L1 regression models in classification accuracy. These findings underscore the high informativeness of the integrative approach and its clinical utility for personalized patient stratification.

Correlation analysis between the IFNG score and CD8⁺ T-cell infiltration density revealed a statistically significant positive association ($r = 0.61$, $p < 0.01$), affirming a robust biological connection between the

Кореляційний аналіз між показником IFNG та щільністю інфільтрації CD8⁺ Т-лімфоцитів виявив статистично значущий позитивний зв'язок ($r = 0,61$; $p < 0,01$), що підтверджує тісний біологічний взаємозв'язок між транскриптомною сигнатурою та імунною архітектурою мікрооточення пухлини (рис. 2). Ці дані свідчать про можливість використання показника IFNG як неінвазивного сурогатного біомаркера для прогнозування ефективності імунотерапії та стратифікації пацієнтів відповідно до очікуваної терапевтичної відповіді.

Подальший лінійний кореляційний аналіз підтвердив стабільний позитивний взаємозв'язок між експресією IFNG та інтенсивністю CD8⁺-клітинної інфільтрації ($r = 0,61$; $p < 0,01$) (рис. 2), що підсилює аргументацію на користь використання IFNG як предиктивного маркера відповіді на терапію імунних контрольних точок.

У рамках протеомно-ліпідомного аналізу особливу увагу було приділено білку S100A9 – кальційзв'язувальному компоненту, який відіграє важливу роль у регуляції запальних реакцій. Середня нормалізована концентрація S100A9 у плазмі становила 4,6 (SD = 0,9), що свідчить про помірну міжіндивідуальну варіабельність. Рівні експресії S100A9 були достовірно вищими у пацієнтів, які не відповідали на лікування, порівняно з тими, що демонстрували терапевтичну відповідь ($p < 0,01$), підтверджуючи негативний кореляційний зв'язок із клінічною ефективністю терапії (рис. 3).

Цей білок раніше асоціювали з імуносупресивним мікрооточенням пухлини, нейтрофільною інфільтрацією та прогресуванням низки злоякісних новоутворень. У контексті ВПЛ+ ОФПР підвищена експресія S100A9 може сприяти резистентності до імунотерапії шляхом активації прозапальних сигнальних каскадів і підтримання проліферативної активності пухлинних клітин.

transcriptomic signature and the immune architecture of the tumor microenvironment (fig. 2). These data support the use of the IFNG score as a non-invasive surrogate biomarker for predicting immunotherapy efficacy and stratifying patients according to their expected therapeutic response.

A linear correlation between IFNG expression and CD8⁺ T-cell infiltration density ($r = 0.61$, $p < 0.01$) further confirms the strong biological interrelation between the transcriptomic signature and the immune profile of the tumor microenvironment (fig. 2). Given the consistency of this association, the IFNG score holds promise as a non-invasive surrogate biomarker for classifying patients by their likelihood of responding to immune checkpoint therapy.

In the proteomic-lipidomic analysis, particular attention was given to the molecule S100A9, a calcium-binding protein implicated in the regulation of inflammatory responses. The average normalized plasma concentration of S100A9 was 4.6 (SD = 0.9), reflecting moderate inter-individual variability. S100A9 expression levels were significantly higher in non-responders compared to responders ($p < 0.01$), confirming its negative association with clinical treatment efficacy (fig. 3).

This protein has previously been linked to immunosuppressive tumor microenvironments, neutrophilic infiltration, and progression of various cancers. In the context of HPV-positive oropharyngeal cancer, S100A9 may contribute to immunotherapy resistance by activating pro-inflammatory cascades and sustaining proliferative activity within tumor cells.

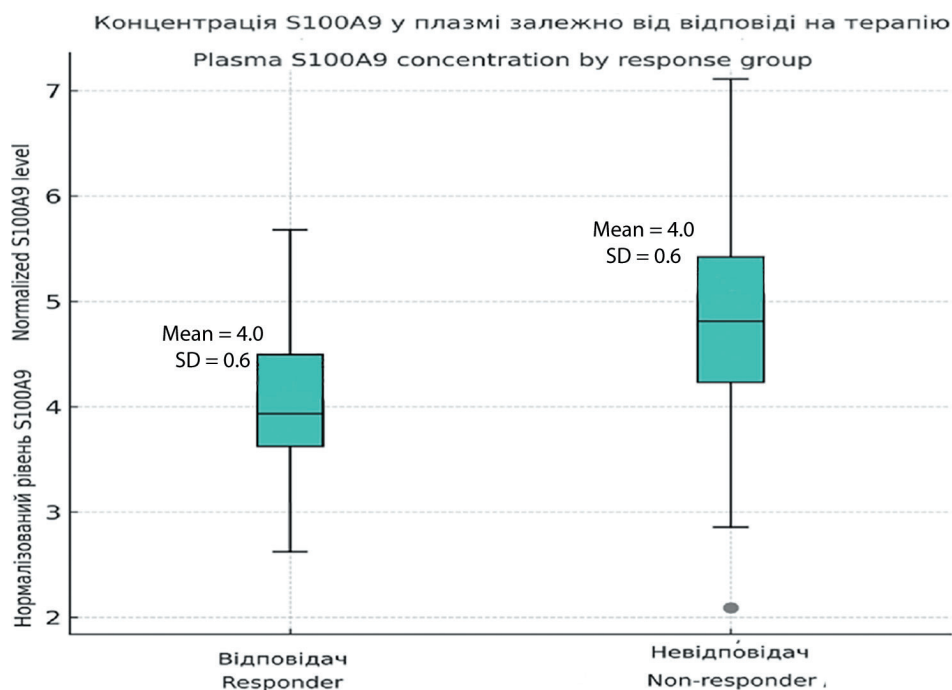


Рис. 3. Експресія білка S100A9 у групах відповіді на терапію
Fig. 3. S100A9 protein expression in therapy response groups

Кореляційний аналіз підтвердив участь S100A9 у запальному каскаді мікрооточення пухлини. Помірна позитивна кореляція спостерігалася між S100A9 та MMP9 ($r = 0,47$, $p < 0,01$), що свідчить про їх потенційну синергетичну роль у деградації позаклітинного матриксу та підтримці хронічного запалення. Аналогічно, було виявлено статистично значущу кореляцію між S100A9 та LCN2 ($r = 0,38$, $p < 0,05$), що вказує на їхній спільний внесок у нейтрофільні реакції та регуляцію гострих запальних процесів (рис. 4).

Correlation analysis confirmed the involvement of S100A9 in the inflammatory cascade of the tumor microenvironment. A moderate positive correlation was observed between S100A9 and MMP9 ($r = 0.47$, $p < 0.01$), suggesting their potential synergistic role in extracellular matrix degradation and maintenance of chronic inflammation. Similarly, a statistically significant correlation between S100A9 and LCN2 was identified ($r = 0.38$, $p < 0.05$), indicating their joint contribution to neutrophilic responses and the regulation of acute inflammatory processes (fig. 4).

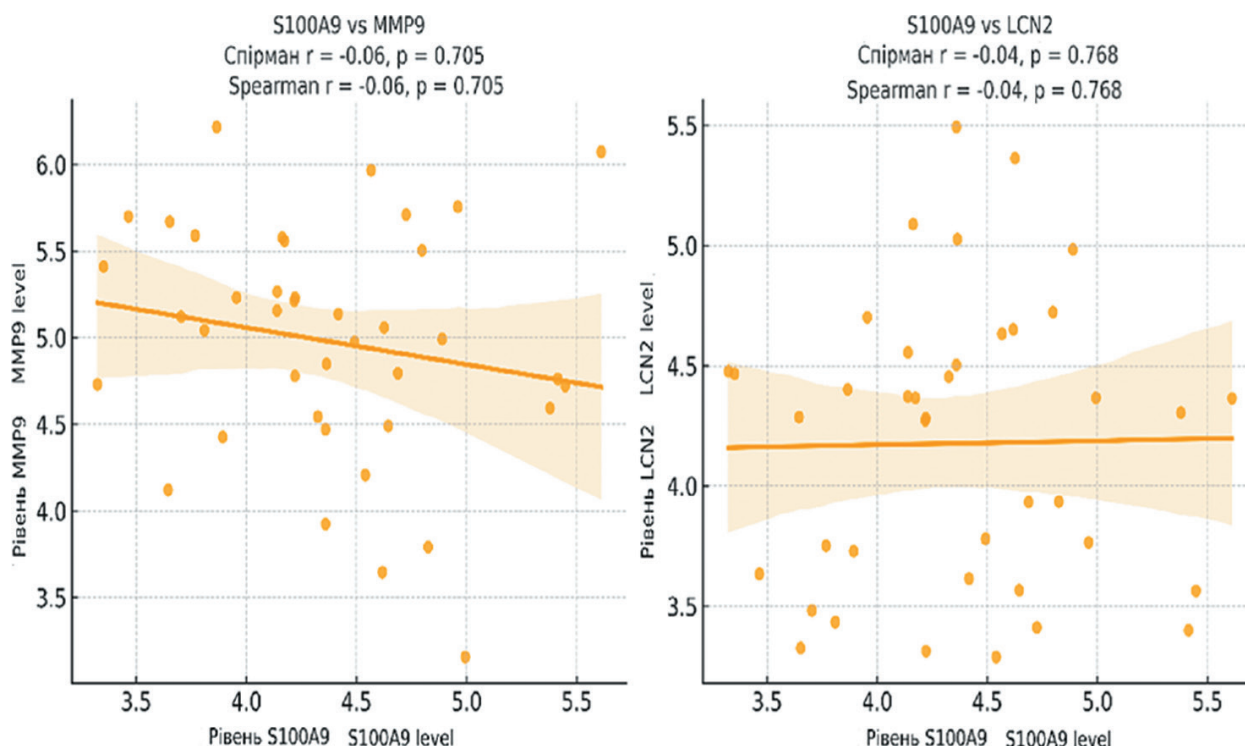


Рис. 4. Кореляційний аналіз маркерів запалення
Fig. 4. Correlation analysis of inflammatory markers

Отримані результати підтверджують гіпотезу про те, що S100A9 функціонує як компонент запального молекулярного кластера, асоційованого з формуванням імуносупресивного мікрооточення пухлини та зниженням ефективності протипухлинної терапії.

Оцифрування гістологічних препаратів ВПЛ-позитивних пухлин ротоглотки (з використанням сканера Leica Aperio AT2, роздільна здатність 40 $\times$) з подальшим аналізом за допомогою платформи HALO AI на основі архітектури ResNet-34 забезпечило кількісну морфометричну характеристику пухлинної тканини та її імунного мікрооточення.

Модель забезпечила точну сегментацію ядер пухлини, лімфоцитів та стромальних компонентів, а також виділила ключові характеристики, включаючи площу ядра, периметр, циркулярність, гіперхромазію (середня інтенсивність гематоксилінових каналів), текстурні характеристики (контраст Хараліка, ентропія, однорідність), а також щільність кератинових перлин та щільність ядра – показники проліферативної активності.

На рис. 5A показано репрезентативні гістологічні зображення з вираженим ороговінням, лімфоїдною

The findings support the hypothesis that S100A9 functions as part of an inflammatory molecular cluster associated with the formation of an immunosuppressive tumor microenvironment and reduced efficacy of anti-tumor therapy.

Digitization of histological slides from HPV-positive oropharyngeal tumors (40 $\times$ resolution, Leica Aperio AT2) followed by analysis with HALO AI powered by a ResNet-34-based model enabled quantitative characterization of tumor morphological heterogeneity and the immune microenvironment.

The model provided accurate segmentation of tumor nuclei, lymphocytes, and stromal components, and extracted key features including nuclear area, perimeter, circularity, hyperchromasia (mean hematoxylin channel intensity), texture characteristics (Haralick contrast, entropy, homogeneity), as well as keratin pearl density and nuclear density – indicators of proliferative activity.

Figure 5A shows representative histological images with prominent keratinization, lymphoid infiltration, and nuclear polymorphism. In areas of high nuclear density, markers associated with SOX2 and E2F1 expression

інфільтрацією та ядерним поліморфізмом. У ділянках з високою ядерною щільністю автоматично ідентифікувалися маркери, пов'язані з експресією SOX2 та E2F1 – гени, які, як відомо, відображають агресивні фенотипи пухлини. У пацієнтів з вираженим ороговінням спостерігалася підвищена експресія IFNG та висока щільність інфільтрації CD8⁺, що вказує на наявність активної протипухлинної імунної відповіді.

Теплова карта (рис. 5B) ілюструє статистично значущі кореляції між морфологічними та молекулярними ознаками: щільність кератинових перлин позитивно корелювала з експресією IFNG ($r = 0.41$), тоді як ентропія Хараліка негативно корелювала з експресією SOX2 ($r = -0.36$). Хоча ядерна циклічність не виявила статистично значущих зв'язків, вона все ще може служити допоміжним параметром у комплексному моделюванні.

Інтеграція морфометричних та транскриптомних даних підвищила прогностичну точність моделювання відповіді на терапію: площа під кривою (AUC) мультиомічної моделі збільшилася з 0,87 до 0,91. Це підтверджує корисність цифрової патоморфології як кількісного та об'єктивного підходу до стратифікації пацієнтів та побудови персоналізованих моделей пухлин.

were automatically identified – genes known to reflect aggressive tumor phenotypes. In patients exhibiting pronounced keratinization, elevated IFNG expression and high CD8⁺ infiltration density were observed, indicating the presence of an active anti-tumor immune response.

Figure 5B (heatmap) illustrates statistically significant correlations between morphological and molecular features: keratin pearl density positively correlated with IFNG expression ($r = 0.41$), whereas Haralick entropy negatively correlated with SOX2 expression ($r = -0.36$). While nuclear circularity did not show statistically significant associations, it may still serve as a supportive parameter in comprehensive modelling.

Integration of morphometric and transcriptomic data enhanced the predictive accuracy of therapy response modelling: the AUC of the multi-omics model increased from 0.87 to 0.91. This validates the utility of digital pathomorphology as a quantitative and objective approach for patient stratification and the construction of personalized tumor models.

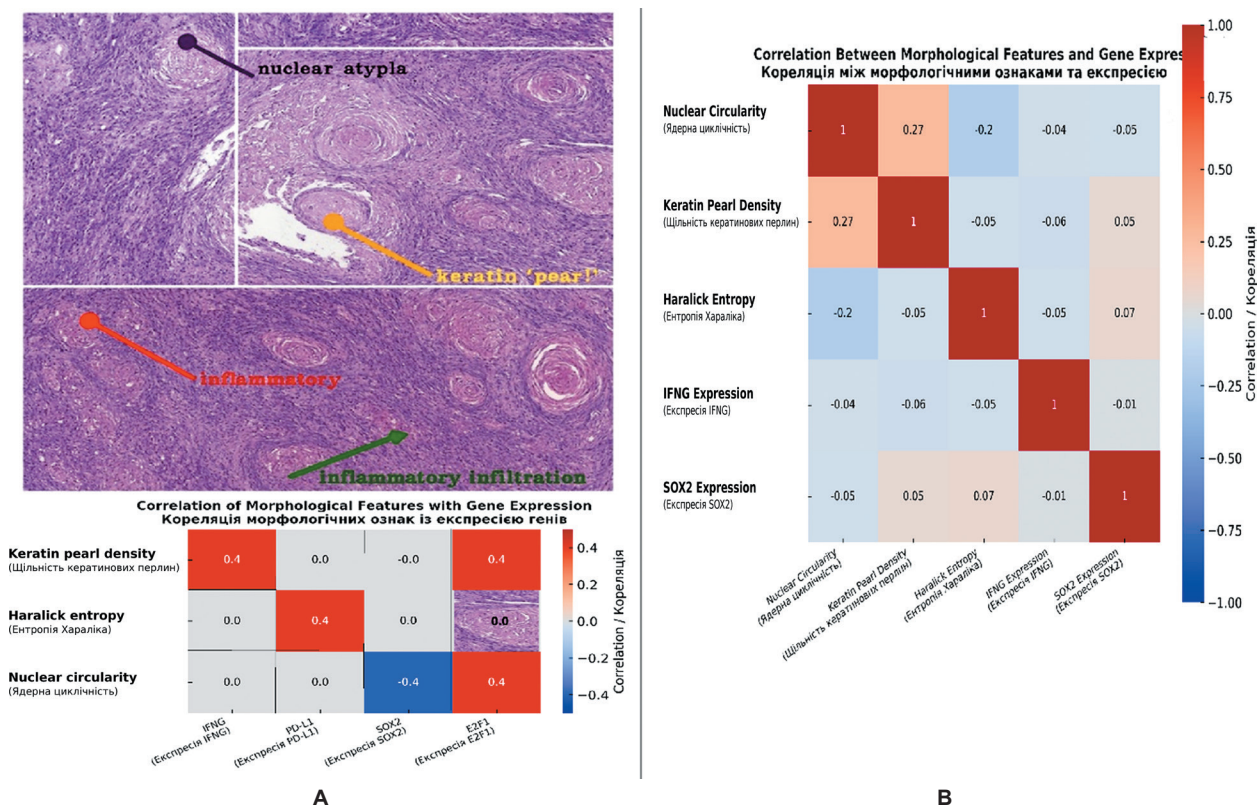


Рис. 5. Морфологічні та молекулярні кореляції при ВПЛ+ ОФПР
Fig. 5. Morphological and molecular correlations in HPV+ oropharyngeal cancer

Примітки / Notes:

A – типові гістологічні зображення, що показують ороговіння, ядерний поліморфізм та лімфоїдну інфільтрацію.

B – Теплова карта кореляцій між морфологічними ознаками (щільність кератинових перлин, ентропія Хараліка) та молекулярними маркерами (IFNG, SOX2).

A – representative histological images showing keratinization, nuclear polymorphism, and lymphoid infiltration.

B – heatmap of correlations between morphological features (e.g., keratin pearl density, Haralick entropy) and molecular markers (e.g., IFNG, SOX2).

На етапі попередньої обробки даних усі кількісні ознаки було стандартизовано за допомогою z-перетворення. Пропущені значення, що становили до 4,6% від загального обсягу даних, відновлювали за допомогою методу k-найближчих сусідів (k-NN) із використанням евклідової відстані ($k = 5$). Інтегрований багатосаровий набір даних включав: транскриптомні профілі РНК-секвенування ($n = 20\,486$ генів); соматичні мутації з ДНК-секвенування (468 цільових генів); рівні білків у плазмі ($n = 136$) та ліпідів ($n = 89$).

Загалом 38 морфологічних та текстурних ознак витягли з гістологічних зображень, оцифрованих при 40-разовому збільшенні.

Усі дані зберігалися та оброблялися в ієрархічній структурі HDF5 для забезпечення ефективного зберігання, швидкого доступу та масштабованості. Структура файлу містила п'ять логічних груп: /RNAseq/expression_matrix: нормалізована матриця експресії ($\log_2$ -трансформована за допомогою DESeq2) з розмірами $47 \times 20\,486$; /DNAseq/mutations: бінарна матриця профілю мутацій (0/1), включаючи PIK3CA, TP53, CDKN2A та інші; /Proteomics/plasma_proteins: масив концентрацій білків (мкг/мл), розміром 47×136 ; /Morphology/nuclear_features: морфометричні параметри, такі як площа ядра (мкм²), периметр та круглість; /Texture/haralick_features: витягнуті текстурні характеристики (контраст, ентропія, однорідність) за допомогою фільтрів Хараліка та Габора (13 характеристик на тип фільтра).

Для зменшення розмірності та усунення мультиколінеарності було застосовано аналіз головних компонентів (PCA) (що зберіг 20 компонентів, які пояснюють 92,6% загальної дисперсії), а також t-розподілене стохастичне вбудовування сусідів (t-SNE) для нелінійної візуалізації кластерів. Це дозволило ідентифікувати фенотипові підгрупи пухлин з різними імунними та проліферативними профілями.

Відбір ознак для прогнозування терапевтичної відповіді проводили за допомогою рекурсивного виключення ознак (RFE) та L1-регуляризації (Lasso). Остаточний вектор прогностичних ознак включав: IFNG, PD-L1, SOX2 (РНК-секвенування); S100A9, LCN2 (протеоміка); гіперхромасію та щільність кераинових перлин (морфометрія); ентропію Хараліка (текстура); показник CD8⁺ (імунна інфільтрація).

Реалізовані моделі включали: Random Forest (AUC = 0,87), глибоку нейронну мережу з архітектурою 256–128–64–32–1 та коефіцієнтом відсіву 0,3 (AUC = 0,91), Лінійну L1-регресію (AUC = 0,82).

Найвищої прогностичної точності було досягнуто за допомогою моделі глибокої нейронної мережі в умовах перехресної валідації Leave-One-Out (LOOCV). Зовнішню валідацію було проведено з використанням незалежних когорт з TCGA-HNSC ($n = 96$) та GEO GSE65858 ($n = 86$), де модель підтримувала надійну прогностичну ефективність та клінічну застосовність на біологічно гетерогенних наборах даних.

During the data preprocessing stage, all quantitative features were standardized using z-score transformation. Missing values, which accounted for up to 4.6% of the total dataset, were imputed using the k-nearest neighbors (kNN) method ($k = 5$, Euclidean distance).

The integrated multi-layer dataset included: RNA-seq transcriptomic profiles ($n = 20,486$ genes); Somatic mutations from DNA-seq (468 target genes); Plasma levels of proteins ($n = 136$) and lipids ($n = 89$). A total of 38 morphological and texture features extracted from histological images digitized at 40× magnification.

All data were stored and processed in a hierarchical HDF5 structure to ensure efficient storage, rapid access, and scalability. The file structure contained five logical groups: /RNAseq/expression_matrix: a normalized expression matrix ($\log_2$ -transformed via DESeq2), with dimensions $47 \times 20,486$; /DNAseq/mutations: a binary mutation profile matrix (0/1), including PIK3CA, TP53, CDKN2A, among others; /Proteomics/plasma_proteins: an array of protein concentrations (μg/mL), size 47×136 ; /Morphology/nuclear_features: morphometric parameters such as nuclear area (μm²), perimeter, and circularity; /Texture/haralick_features: extracted texture features (contrast, entropy, homogeneity) using Haralick and Gabor filters (13 features per filter type).

To reduce dimensionality and address multicollinearity, Principal Component Analysis (PCA) was applied (retaining 20 components explaining 92.6% of total variance), along with t-distributed Stochastic Neighbor Embedding (t-SNE) for non-linear visualization of clusters. This enabled the identification of phenotypic subgroups of tumors with distinct immune and proliferative profiles.

Feature selection for therapeutic response prediction was performed using Recursive Feature Elimination (RFE) and L1-regularization (Lasso). The final predictive feature vector included: IFNG, PD-L1, SOX2 (RNA-seq); S100A9, LCN2 (proteomics); Hyperchromasia and keratin pearl density (morphometry); Haralick entropy (texture); CD8⁺ score (immune infiltration).

Models implemented included: Random Forest (AUC = 0.87), Deep neural network with architecture 256–128–64–32–1 and dropout rate of 0.3 (AUC = 0.91), Linear L1 regression (AUC = 0.82).

The highest prognostic accuracy was achieved by the deep neural network model under Leave-One-Out Cross-Validation (LOOCV). External validation was performed using independent cohorts from TCGA-HNSC ($n = 96$) and GEO GSE65858 ($n = 86$), where the model maintained robust predictive performance and clinical applicability across biologically heterogeneous datasets.

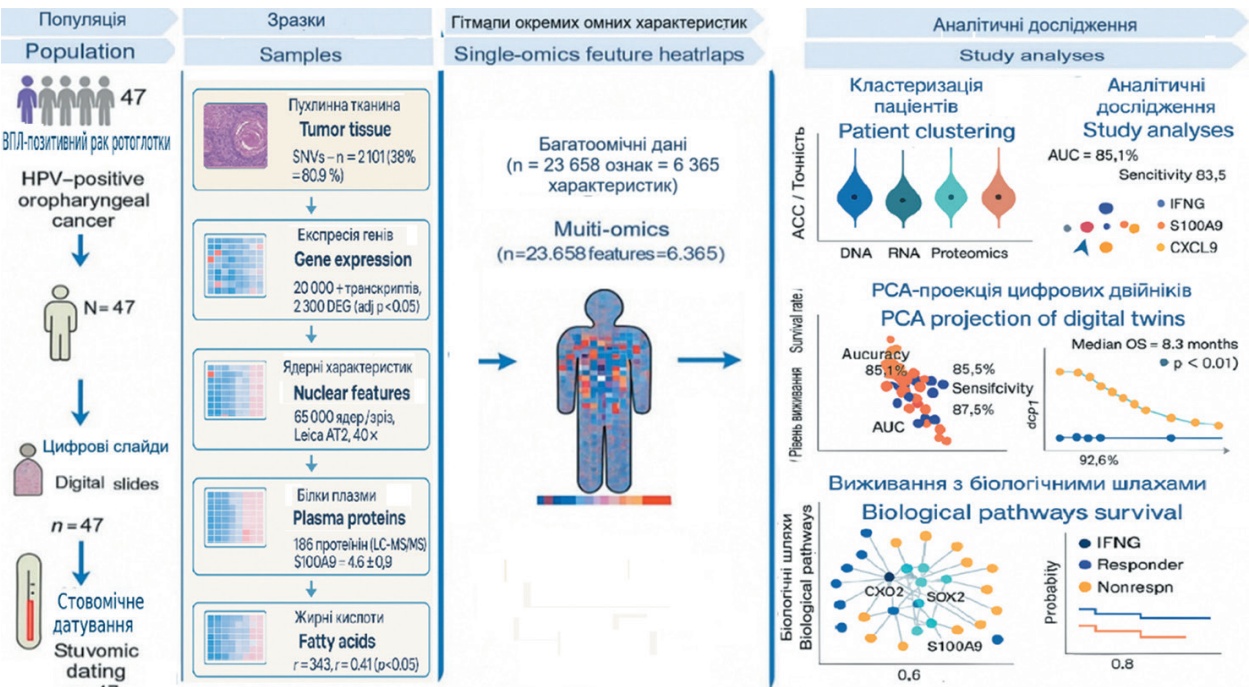


Рис. 6. Огляд платформи молекулярного цифрового двійника
Fig. 6. Molecular Digital Twin platform overview

Схематичне зображення інтегративної платформи на основі штучного інтелекту, що поєднує функції мультиоміки та цифрової патології для прогнозування відповіді на терапію та стратифікації пухлини надано на рис. 6.

Етап валідації моделі цифрового двійника був розроблений для оцінки її надійності, відтворюваності та клінічної корисності для прогнозування відповіді на терапію у пацієнтів з ВПЛ+ ОФПР. Моделі були навчені на даних мультиоміки, включаючи секвенування ДНК та РНК, протеоміку, ліпідоміку та особливості цифрової патології, за допомогою перехресної валідації «Виключити один» (LOOCV), щоб забезпечити надійність моделі, незважаючи на відносно невелику навчальну когорту (n = 47).

Ефективність моделі була зовнішньо валідована на двох незалежних когортах: TCGA-HNSC (n = 96) та GEO GSE65858 (n = 86). На цих зовнішніх наборах даних цифровий двійник продемонстрував стабільну прогностичну ефективність та порівнянну стратифікацію на основі бала IFNG, інфільтрації CD8⁺ Т-клітин та прогнозованої ймовірності відповіді. Медіанна різниця у виживаності між прогнозованими респондентами та нереспондентами становила 8,3 міс. (p < 0,01, логарифмічний ранговий тест), що підтверджує прогностичну валідність моделі (табл. 1).

Schematic representation of the AI-driven integrative platform combining multi-omics and digital pathology features for therapy response prediction and tumor stratification (Fig. 6.).

The validation stage of the digital twin model was designed to assess its reliability, reproducibility, and clinical utility in predicting therapy response among patients with HPV-associated oropharyngeal cancer. The models were trained on multi-omics data – including DNA and RNA sequencing, proteomics, lipidomics, and digital pathology features – using Leave-One-Out Cross-Validation (LOOCV) to ensure model robustness despite the relatively small training cohort (n = 47).

Model performance was externally validated on two independent cohorts: TCGA-HNSC (n = 96) and GEO GSE65858 (n = 86). On these external datasets, the digital twin demonstrated consistent predictive performance and comparable stratification based on IFNG score, CD8⁺ T-cell infiltration, and predicted response probability. The median survival difference between predicted responders and non-responders was 8.3 months (p < 0.01, log-rank test), confirming the model's prognostic validity (Table 1).

Таблиця 1. Результати валідації прогностичних моделей
Table 1. Validation results of predictive models

Метод / Method	AUC	Точність Accuracy (%)	Чутливість Sensitivity (%)	Специфічність Specificity (%)
Глибокі нейронні мережі / Deep Neural Networks	0,91	85,1	87,5	83,3
Random / Forest	0,87	80,9	83,3	78,5
Регресія L1 / L1 regression	0,82	76,6	79,2	73,5

Модель DNN продемонструвала відмінні показники продуктивності (AUC = 0,91), перевершивши як RF (AUC = 0,87), так і L1 (AUC = 0,82). Найбільш інформативні предиктори (IFNG, S100A9, ядерна гіперхромазія та CXCL9) були перевірені за допомогою SHAP-аналізу та аналізу важливості перестановочних ознак, що покращило інтерпретованість моделі.

The deep neural network model demonstrated superior performance metrics (AUC = 0.91), outperforming both the Random Forest (AUC = 0.87) and L1 regression (AUC = 0.82). The most informative predictors (IFNG, S100A9, nuclear hyperchromasia, and CXCL9) were validated through SHAP and Permutation Feature Importance analyses, which enhanced the model's interpretability.

ОБГОВОРЕННЯ

Наші результати підкреслюють значний потенціал інтеграції мультиоміки в поєднанні з цифровою патологією для характеристики біологічних підтипів та прогнозування реакції на лікування у пацієнтів з ВПЛ+ ОФПР. Спостережувані молекулярні профілі узгоджуються з раніше зареєстрованими особливостями вказаних пухлин, але додаткова інтеграція морфологічних та протеомних даних забезпечує унікальну глибину стратифікації пацієнтів.

Частота мутацій PIK3CA, TP53 та CDKN2A у нашій когорті узгоджувалася з даними TCGA-HNSC та інших популяційних досліджень плоскоклітинного раку голови та шиї (HNSCC) з ВПЛ [7, 8]. Ампліфікація EGFR та CCND1, разом з делеціями в CDKN2A, підтверджує центральну роль цих змін у дисрегуляції клітинного циклу та рості пухлини. Ці висновки узгоджуються з даними Seiwert et al., які продемонстрували чутливість пухлини з ВПЛ+ до інгібіторів сигнального шляху PI3K/AKT [9].

Диференціальна експресія транскриптомних маркерів, таких як IFNG, CXCL9, LAG3 та PD-L1, окреслила фенотип запалення Т-клітин, активованих імунною системою, як раніше описано Айерсом та співавт. та Х'юга та співавт. [10, 11]. Це підтверджує клінічну корисність показника IFNG як предиктора відповіді на імунотерапію. У нашому дослідженні висока експресія IFNG спостерігалася у 63,8% пацієнтів і корелювала з інфільтрацією CD8⁺ Т-клітин, що підтверджує раніше опубліковані результати [12].

Негативний зв'язок між експресією S100A9 та терапевтичною відповіддю узгоджується зі спостереженнями Zhang X. et al. та Chen Y. et al., які описали S100A9 як модулятор імуносупресивного мікросередовища та нейтрофільної активності [13, 14]. Кореляція між S100A9, MMP9 та LCN2 вказує на наявність запального молекулярного кластера, як показано на моделях колоректального раку та раку легень [9].

Застосування архітектури нейронної мережі на основі ResNet-34 у рамках платформи HALO AI дозволило автоматизовано вилучити морфологічні ознаки, такі як ядерна гіперхромазія, ентропія, циркулярність та щільність кератинових перлин. Наші дані показують, що висока щільність кератинових перлин пов'язана зі збільшенням експресії IFNG та покращеною відповіддю на терапію. Ці спостереження узгоджуються з висновками Фахрі та співавт., які повідомили про кращі клінічні результати для добре диференційованих морфологічних підтипів пухлин [15, 21, 26].

У дослідженні Linder N et al. (2012) текстурні ознаки, отримані за допомогою фільтрів Габора та аналізу Хараліка, точно розрізняли підтипи плоскоклітинного раку голови та шиї [16]. Наша модель підтвердила

DISCUSSION

Our findings highlight the substantial potential of multi-omics integration combined with digital pathology for characterizing biological subtypes and predicting treatment responses in patients with HPV-positive oropharyngeal cancer. The molecular profiles observed align with previously reported features of HPV-associated head and neck tumors but the added integration of morphological and proteomic data provides a unique depth of patient stratification.

The mutation frequencies of PIK3CA, TP53, and CDKN2A in our cohort were consistent with data from TCGA-HNSC and other population studies of HPV-positive head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) [7, 8]. Amplifications of EGFR and CCND1, along with deletions in CDKN2A, confirm the central role of these alterations in cell cycle dysregulation and tumor growth. These findings are in line with Zaryouh H et al., who demonstrated HPV+ tumor sensitivity to PI3K/AKT pathway inhibitors [9].

Differential expression of transcriptomic markers such as IFNG, CXCL9, LAG3, and PD-L1 delineated an immune-activated T-cell inflamed phenotype, as previously described by van Elsas et al. and Moreno Ayala et al. [10, 11]. This supports the clinical utility of the IFNG score as a predictor of immunotherapy response. In our study, high IFNG expression was observed in 63.8% of patients and correlated with CD8⁺ T-cell infiltration, recapitulating earlier published findings [12].

The negative association between S100A9 expression and therapeutic response is consistent with observations by Zhang X. et al. and Chen Y. et al., who described S100A9 as a modulator of the immunosuppressive microenvironment and neutrophilic activity [13, 14]. Correlations between S100A9, MMP9, and LCN2 indicate the presence of an inflammatory molecular cluster, as demonstrated in colorectal and lung cancer models [9].

Application of a ResNet-34-based neural network architecture within the HALO AI platform enabled automated extraction of morphological features such as nuclear hyperchromasia, entropy, circularity, and keratin pearl density. Our data show that high keratin pearl density is associated with increased IFNG expression and improved therapy response. These observations align with the findings of Gonzalez et al., who reported better clinical outcomes for well-differentiated morphological tumor subtypes [15, 21, 26].

In the study by Linder N. et al. (2012), texture features derived from Gabor filters and Haralick analyses accurately distinguished HNSCC subtypes [16]. Our model corroborated these findings by integrating morphometric and histotextural features into a unified digital twin.

By integrating DNA, RNA, proteomic, and lipidomic data with morphological features, we constructed

ці висновки, інтегруючи морфометричні та гістотекстурні ознаки в єдиного цифрового двійника.

Інтегруючи дані ДНК, РНК, протеоміки та ліпідоміки з морфологічними ознаками, ми створили високоточну модель цифрового двійника. Методи зменшення розмірності, такі як PCA та t-SNE, дозволили візуалізувати стратифікацію пухлини на основі біологічних підтипів. Модель на основі DNN досягла найвищої прогностичної точності (AUC = 0,91). Порівняння з мультиомічною моделлю, розробленою Wu C.S et al. (2025) для аденокарциноми протоків підшлункової залози (PDAC), виявило подібну архітектуру та порівнянні показники, що підкреслює відтворюваність цього підходу [17].

Валідація в незалежних когортах TCGA-HNSC та GSE65858 підтвердила надійність та узагальнюваність моделі. Спостережувана медіанна різниця виживаності 8,3 міс між прогнозованими пацієнтами з відповіддю та пацієнтами без відповіді ($p < 0,01$) порівнянна з результатами, про які повідомлялося у великих імуноонкологічних дослідженнях [18, 19, 20, 22].

ВИСНОВКИ

Наше дослідження продемонструвало, що інтеграція мультиоміки, підтримувана цифровою патологією та аналізом на основі штучного інтелекту, надає унікальну можливість для побудови персоналізованих прогностичних та терапевтичних моделей відповіді для пацієнтів з ВПЛ+ ОФПР. Комбінована оцінка транскриптомних маркерів (IFNG, CXCL9, SOX2), запальних білків (S100A9, LCN2) та морфологічних ознак (гіперхромасія, ентропія, ороговіння) формує основу клінічно інтерпретованого цифрового двійника. Цей підхід має потенціал для покращення стратифікації пацієнтів та інформування про цілеспрямовані та імунологічні терапевтичні стратегії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Lechner M., Liu J., Masterson L., et al. HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2022. № 5. P. 306–327. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00603-7>
2. Thakral A., Lee J. J., Hou T., et al. Smoking and alcohol by HPV status in head and neck cancer: a Mendelian randomization study. *Nature Communications*. 2024. № 15. P. 7835. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51679-x>
3. Katirachi S. K., Grønlund M. P., Jakobsen K. K., et al. The Prevalence of HPV in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Viruses*. 2023. №15 (2). P. 451. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15020451>
4. Castellsagué X., Mena M., Alemany L. Epidemiology of HPV-Positive Tumors in Europe and in the World. *Recent Results in Cancer Research*. 2017. №206. P. 27–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-43580-0_2
5. Chung C. H., Lin C. Y., Chen C. Y., et al. Ferroptosis Signature Shapes the Immune Profiles to Enhance the Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Head and Neck Cancer. *Advanced Science*. 2023. №10 (15). P. e2204514. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202204514>
6. Bhatia A., Burtneß B. Treating Head and Neck Cancer in the Age of Immunotherapy: A 2023 Update. *Drugs*. 2023. №83. P. 217–248. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-023-01835-2>
7. Gavrielatou N., Doumas S., Economopoulou P., et al. Biomarkers for immunotherapy response in head and neck cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 2020. №84. P. 101977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.101977>
8. Naara S., Cui Z., Izgutina A., et al. Neddylation as a target in PIK3CA-mutated head and neck cancer. *Biochemical and*

a high-precision digital twin model. Dimensionality reduction techniques such as PCA and t-SNE enabled visualization of tumor stratification based on biological subtypes. The DNN-based model achieved the highest predictive accuracy (AUC = 0.91). Comparison with the multi-omics model developed by Wu C.S. et al. (2025) for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) revealed a similar architecture and comparable performance, underscoring the reproducibility of this approach [17].

Validation in independent cohorts (TCGA-HNSC and GSE65858) confirmed the robustness and generalizability of the model. The observed median survival difference of 8.3 months between predicted responders and non-responders ($p < 0.01$) is comparable to outcomes reported in major immuno-oncology trials [18, 19, 20, 22].

CONCLUSIONS

Our study demonstrated that multi-omics integration, supported by digital pathology and AI-powered analysis, provides a unique opportunity to construct personalized prognostic and therapeutic response models for patients with HPV-positive oropharyngeal cancer. The combined evaluation of transcriptomic markers (IFNG, CXCL9, SOX2), inflammatory proteins (S100A9, LCN2), and morphological features (hyperchromasia, entropy, keratinization) forms the foundation of a clinically interpretable digital twin. This approach holds the potential to enhance patient stratification and inform targeted and immune-based therapeutic strategies.

REFERENCES

1. Lechner M., Liu J., Masterson L., Fenton TR. HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2022;5:306–27. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00603-7>
2. Thakral A., Lee JJ, Hou T, Hueniken K. Dudding T, Gormley M. Smoking and alcohol by HPV status in head and neck cancer: a Mendelian randomization study. *Nature Communications*. 2024;15:7835. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51679-x>
3. Katirachi SK, Grønlund MP, Jakobsen KK, Grønhoj C, von Buchwald C. The Prevalence of HPV in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Viruses*. 2023;15(2):451. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15020451>
4. Castellsagué X, Mena M, Alemany L. Epidemiology of HPV-Positive Tumors in Europe and in the World. *Recent Results in Cancer Research*. 2017;206:27–35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-43580-0_2
5. Chung CH, Lin CY, Chen CY, Hsueh CW, Chang YW, Wang CC, et al. Ferroptosis Signature Shapes the Immune Profiles to Enhance the Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Head and Neck Cancer. *Advanced Science*. 2023;10(15):e2204514. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202204514>
6. Bhatia A, Burtneß B. Treating Head and Neck Cancer in the Age of Immunotherapy: A 2023 Update. *Drugs*. 2023;83:217–48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-023-01835-2>
7. Gavrielatou N, Doumas S, Economopoulou P, Foukas PG, Psyrri A. Biomarkers for immunotherapy response in head and neck cancer. *Cancer Treatment Reviews*. 2020;84:101977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.101977>
8. Naara S, Cui Z, Izgutina A, VanLandingham NK, Nazarenko A, Woerner LC, et al. Neddylation as a target in PIK3CA-mutated head and neck cancer. *Biochemical and Biophysical*

- Biophysical Research Communications*. 2025. №759. P. 151703. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2025.151703>
9. Zaryouh H., De Pauw I., Baysal H., et al. Recent insights in the PI3K/Akt pathway as a promising therapeutic target in combination with EGFR-targeting agents to treat head and neck squamous cell carcinoma. *Medical Research Reviews*. 2022. №42. P. 112–155. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21806>
10. van Elsas M. J., Middelburg J., Labrie C., et al. Immunotherapy-activated T cells recruit and skew late-stage activated M1-like macrophages that are critical for therapeutic efficacy. *Cancer Cell*. 2024. №42 (6). P. 1032–1050.E10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2024.04.011>
11. Moreno Ayala M. A., Campbell T. F., Zhang C., et al. CXCR3 expression in regulatory T cells drives interactions with type I dendritic cells in tumors to restrict CD8(+) T cell antitumor immunity. *Immunity*. 2023. №56 (7). P. 1613–1630.e5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.06.003>
12. Wu X., Gu Z., Chen Y., et al. Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2019. №17. P. 661–674. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.03.006>
13. Zhang X., Niu M., Li T., et al. S100A8/A9 as a risk factor for breast cancer negatively regulated by DACH1. *Biomarker Research*. 2023. №11. P. 106. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40364-023-00548-8>
14. Chen Y., Wu Z., Yi X. Elucidating the pan-oncologic landscape of S100A9: prognostic and therapeutic corollaries from an integrative bioinformatics and Mendelian randomization analysis. *Scientific Reports*. 2024. №14. P. 19071. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70223-x>
15. Gonzalez A. D., Wadap Y. N., Danner B., et al. Digital pathology in tau research: A comparison of QuPath and HALO. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 2025. №84 (8). P. 692–706. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnen/nlaf026>
16. Linder N., Konsti J., Turkki R., et al. Identification of tumor epithelium and stroma in tissue microarrays using texture analysis. *Diagnostic Pathology*. 2012. №7. P. 22. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-1596-7-22>
17. Wu C. S., Li H. P., Hsieh C. H., et al. Integrated multi-omics analyses of oral squamous cell carcinoma reveal precision patient stratification and personalized treatment strategies. *Cancer Letters*. 2025. №614. P. 217482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2025.217482>
18. Luo X., Li C., Qin G. Multiple machine learning-based integrations of multi-omics data to identify molecular subtypes and construct a prognostic model for HNSC. *Hereditas*. 2025. №162. P. 17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41065-025-00380-0>
19. Zhou C., Deng H., Fang Y., et al. Identification and validation of a novel signature based on T cell marker genes to predict prognosis, immunotherapy response and chemotherapy sensitivity in head and neck squamous carcinoma by integrated analysis of single-cell and bulk RNA-sequencing. *Heliyon*. 2023. №9 (11). P. e21381. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21381>
20. Zheng J., Shu D., Xu R., et al. Development and Validation of a Cholesterol-related Gene Signature for Prognostic Assessment in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Current Medicinal Chemistry*. 2024. №32 (38). P. 8627–8646. DOI: <https://doi.org/10.2174/0109298673336147241010065340>
21. Gramatiuk S., Kryvoruchko I. A., Ivanova Y. V., et al. Artificial Intelligence–Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreservation and Biobanking*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1177/19475535251367317>
22. Tardini E., Zhang X., Canahuate G., et al. Optimal Treatment Selection in Sequential Systemic and Locoregional Therapy of Oropharyngeal Squamous Carcinomas: Deep Q-Learning With a Patient-Physician Digital Twin Dyad. *Journal of Medical Internet Research*. 2022. №24 (4). P. e29455. DOI: <https://doi.org/10.2196/29455>
23. Srinidhi C. L., Ciga O., Martel A. L. Deep neural network models for computational histopathology: A survey. *Medical Image Analysis*. 2021. №67. P. 101813. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.media.2020.101813>
24. Björnsson B., Borrebaeck C., Elander N., et al. Digital twins to personalize medicine. *Genome Medicine*. 2019. №12 (1). P. 4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0701-3>
25. Page M. J., McKenzie J. E., Bossuyt P. M., et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *British Medical Journal*. 2021. №372. P. n71. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
26. Gramatiuk S., Sargsyan K. Long-Term Digital Storage and Usage of Research Data: Data Pooling. *Digitalization of Medicine in Low- and Middle-Income Countries*. 2024. P. 91–102. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-62332-5_9
- Research Communications*. 2025;759:151703. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2025.151703>
9. Zaryouh H., De Pauw I., Baysal H., Peeters MB, Vermorken JB, Lardon F, et al. Recent insights in the PI3K/Akt pathway as a promising therapeutic target in combination with EGFR-targeting agents to treat head and neck squamous cell carcinoma. *Medical Research Reviews*. 2022;42:112–55. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21806>
10. van Elsas MJ, Middelburg J, Labrie C, Roelands J, Schaap G, Sluijter M, et al. Immunotherapy-activated T cells recruit and skew late-stage activated M1-like macrophages that are critical for therapeutic efficacy. *Cancer Cell*. 2024;42(6):1032–50.E10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2024.04.011>
11. Moreno Ayala MA, Campbell TF, Zhang C, Dahan N, Bockman A, Prakash V, et al. CXCR3 expression in regulatory T cells drives interactions with type I dendritic cells in tumors to restrict CD8(+) T cell antitumor immunity. *Immunity*. 2023;56(7):1613–30.e5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.06.003>
12. Wu X, Gu Z, Chen Y, Chen B, Chen W, Weng L, et al. Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2019;17:661–74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.03.006>
13. Zhang X, Niu M, Li T, Wu Y, Gao J, Yi M, et al. S100A8/A9 as a risk factor for breast cancer negatively regulated by DACH1. *Biomarker Research*. 2023;11:106. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40364-023-00548-8>
14. Chen Y, Wu Z, Yi X. Elucidating the pan-oncologic landscape of S100A9: prognostic and therapeutic corollaries from an integrative bioinformatics and Mendelian randomization analysis. *Scientific Reports*. 2024;14:19071. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70223-x>
15. Gonzalez AD, Wadap YN, Danner B, Clarke KM, Dopler MB, et al. Digital pathology in tau research: A comparison of QuPath and HALO. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 2025;84(8):692–706. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnen/nlaf026>
16. Linder N, Konsti J, Turkki R, Rahtu E, Lundin M, Nordling S, et al. Identification of tumor epithelium and stroma in tissue microarrays using texture analysis. *Diagnostic Pathology*. 2012;7:22. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-1596-7-22>
17. Wu CS, Li HP, Hsieh CH, Lin YT, Chang IF, Chung AK, et al. Integrated multi-omics analyses of oral squamous cell carcinoma reveal precision patient stratification and personalized treatment strategies. *Cancer Letters*. 2025;614:217482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2025.217482>
18. Luo X, Li C, Qin G. Multiple machine learning-based integrations of multi-omics data to identify molecular subtypes and construct a prognostic model for HNSC. *Hereditas*. 2025;162:17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41065-025-00380-0>
19. Zhou C, Deng H, Fang Y, Wei Z, Shen Y, Qiu S, et al. Identification and validation of a novel signature based on T cell marker genes to predict prognosis, immunotherapy response and chemotherapy sensitivity in head and neck squamous carcinoma by integrated analysis of single-cell and bulk RNA-sequencing. *Heliyon*. 2023;9(11):e21381. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21381>
20. Zheng J, Shu D, Xu R, Zheng Y, Lin P, Lin Y, et al. Development and Validation of a Cholesterol-related Gene Signature for Prognostic Assessment in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Current Medicinal Chemistry*. 2024;32(38):8627–46. DOI: <https://doi.org/10.2174/0109298673336147241010065340>
21. Gramatiuk S, Kryvoruchko IA, Ivanova YV, Hubbard E, Sargsyan K. Artificial Intelligence–Based Quality Control of Cell Lines. *Biopreservation and Biobanking*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1177/19475535251367317>
22. Tardini E, Zhang X, Canahuate G, Wentzel A, Mohamed ASR, Van Dijk L, et al. Optimal Treatment Selection in Sequential Systemic and Locoregional Therapy of Oropharyngeal Squamous Carcinomas: Deep Q-Learning With a Patient-Physician Digital Twin Dyad. *Journal of Medical Internet Research*. 2022;24(4):e29455. DOI: <https://doi.org/10.2196/29455>
23. Srinidhi CL, Ciga O, Martel AL. Deep neural network models for computational histopathology: A survey. *Medical Image Analysis*. 2021;67:101813. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.media.2020.101813>
24. Björnsson B, Borrebaeck C, Elander N, Gasslander T, Gawel DR, Gustafsson M, et al. Digital twins to personalize medicine. *Genome Medicine*. 2019;12(1):4. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0701-3>
25. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TS, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *British Medical Journal*. 2021;372:n71. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
26. Gramatiuk S, Sargsyan K. Long-Term Digital Storage and Usage of Research Data: Data Pooling. *Digitalization of Medicine in Low- and Middle-Income Countries*. 2024: 91–102. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-62332-5_9

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має низку обмежень, пов'язаних із дизайном, розміром вибірки та особливостями застосування моделей штучного інтелекту і цифрового двійника. Первинна когорта включала обмежену кількість пацієнтів ($n = 47$), що знижує статистичну потужність для аналізу рідкісних молекулярних подій та підвищує ризик перенавчання (overfitting) моделей машинного навчання, незважаючи на застосування регуляризації, відбору ознак та перехресної валідації Leave-One-Out. Одноцентровий характер формування клінічної вибірки зберігає ризик селекційного зміщення і обмежує безпосередню екстраполяцію параметрів цифрового двійника на інші популяції пацієнтів із ВПЛ-асоційованим раком ротоглотки. Хоча зовнішню валідацію виконано на незалежних когортах TCGA-HNSC та GEO GSE65858, відмінності у протоколах забору зразків, платформах секвенування, методах нормалізації та клінічному менеджменті пацієнтів могли впливати на узгодженість ознак і стабільність прогнозів моделі. Інтеграція багатьох мультиомічних шарів (ДНК, РНК, протеоміка, ліпідоміка) разом із цифровою патологією суттєво підвищує складність моделі та супроводжується ризиком залишкової мультиколінеарності, прихованих кореляцій і залежності результатів від процедур попередньої обробки даних. Незважаючи на використання методів зменшення розмірності, відбору ознак та інтерпретованості (Permutation Importance, SHAP), цифровий двійник залишається статистичною та обчислювальною репрезентацією біологічної системи, а не її повним фізіологічним відтворенням. Крім того, запропонована модель цифрового двійника наразі перебуває на дослідницькому етапі та не розроблялася як програмний медичний виріб (Software as a Medical Device, SaMD) відповідно до регуляторних вимог FDA або EMA. Для потенційної клінічної трансляції необхідними є подальші кроки, включаючи проспективну клінічну оцінку, формалізовану оцінку ризиків, перевірку відтворюваності та стабільності алгоритмів, а також відповідність принципам регуляторної готовності (regulatory readiness) згідно з чинними настановами щодо AI-рішень у медицині. Подальші дослідження мають бути спрямовані на проспективну мультицентрову валідацію, стандартизацію AI-конвеєрів, зовнішню калібровку моделей та оцінку клінічної користі цифрового двійника відповідно до принципів Належної клінічної практики (Good Clinical Practice, GCP).

Перспективи подальших досліджень

У короткостроковій перспективі (1–2 роки) моделі цифрових двійників на основі штучного інтелекту мають бути інтегровані у трансляційні дослідження для виявлення нових терапевтичних мішеней та прогнозування відповіді на лікування при ВПЛ+ ОФПР. У середньостроковій перспективі (3–5 років) валідовані моделі дадуть змогу здійснювати персоналізоване моделювання таргетної та імунотерапевтичної терапії, сприяючи ухваленню клінічних рішень і оптимізації лікувальних стратегій. У довгостроковій перспективі (5–10 років) взаємопов'язані мережі цифрових двійників у межах європейських біобанків забезпечать проведення віртуальних клінічних випробувань і розробку адаптивних терапевтичних підходів. Основними викликами залишаються гармонізація даних, клінічна валідація та етичне регулювання. Запропоновані рішення включають федеративне навчання, пояснюваний штучний інтелект (Explainable AI) та управління даними відповідно до стандарту ISO 20387, що гарантує прозорість, відтворюваність і готовність до регуляторного впровадження.

Limitations of the study

The authors acknowledge several limitations related to study design, sample size, and the application of artificial intelligence-based digital twin modelling. The primary cohort comprised a limited number of patients ($n = 47$), which reduces statistical power for rare molecular events and increases the risk of model overfitting, despite the use of regularization techniques, feature selection, and Leave-One-Out cross-validation. The single-center origin of the clinical cohort introduces potential selection bias and limits direct generalizability of the digital twin parameters to other populations of patients with HPV-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. Although external validation was performed using independent TCGA-HNSC and GEO GSE65858 cohorts, heterogeneity in biospecimen acquisition, sequencing platforms, data preprocessing pipelines, and clinical management may have affected feature concordance and prediction stability. The integration of multiple omics layers (DNA, RNA, proteomics, lipidomics) together with digital pathology substantially increases model complexity and is inherently associated with risks of residual multicollinearity, latent correlations, and sensitivity to data preprocessing procedures. Despite the application of dimensionality reduction, feature selection, and model interpretability approaches (Permutation Importance and SHAP analysis), the digital twin remains a statistical and computational abstraction of tumor biology rather than a complete physiological replica. In addition, the proposed digital twin model is currently positioned at a research and exploratory stage and was not developed as a Software as a Medical Device (SaMD) in accordance with regulatory frameworks of the U.S. Food and Drug Administration (FDA) or the European Medicines Agency (EMA). Translation into clinical practice would require further steps, including prospective clinical evaluation, formal risk management, assessment of algorithm robustness and reproducibility, and alignment with regulatory readiness principles for AI-based medical technologies. Future studies should focus on prospective multicenter validation, harmonization of AI pipelines, external model calibration, and assessment of clinical utility in accordance with Good Clinical Practice (GCP) principles.

Prospects for further research

In the short term (1–2 years), AI-driven digital twin models should be integrated into translational research to identify novel therapeutic targets and predict treatment response in HPV-associated oropharyngeal cancer. In the mid-term (3–5 years), validated models will enable personalized simulation of targeted and immune-modulatory therapies, supporting clinical decision-making and therapy optimization. In the long term (5–10 years), interoperable digital twin networks across European biobanks will facilitate virtual clinical trials and adaptive treatment strategies. Key challenges include data harmonization, clinical validation, and ethical governance. Proposed solutions involve federated learning, explainable AI, and ISO 20387-compliant data management to ensure transparency, reproducibility, and regulatory readiness.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису засвідчують відсутність конфлікту інтересів.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

Дотримання етичних норм

Біоетичний комітет Української асоціації біобанків розглянув та схвалив пілотний проект протоколу дослідження з контролю якості стовбурових клітин та клітинних ліній, розроблений та впроваджений у партнерстві з Українською асоціацією біобанків (УАБ), Інститутом реабілітації біостовбурових клітин, Міжнародним біобанкінгом, кафедрою хірургії №1 Харківського національного медичного університету та кафедрою медичної генетики Єреванського державного медичного університету (протокол № 2003/2021 від 11.11.2021).

Ethics statement

The Bioethics Committee of the Ukrainian Association of Biobanks reviewed and approved the research protocol pilot project on quality control of stem cells and cell lines developed and implemented in partnership with the Ukrainian Association of Biobanks (UAB), Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation, International Biobanking, Department of Surgery No.1, Kharkiv National Medical University and the Department of Medical Genetics, Yerevan State Medical University (protocol No. 2003/2021, dated 11.11.2021).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript expressly certify that in the process of conducting research and preparing this manuscript, they did not use any generative artificial intelligence tools or services to perform any of the tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work, from conceptualisation to final editing, were performed without the use of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that the work uses the results of their own clinical studies, which were systematised and analysed by the authors. The primary data include summarised patient indicators, laboratory results, protocols, and quantitative characteristics obtained. All materials are stored in the research group's archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, subject to confidentiality and ethical requirements.

Інформація про фінансування

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи Української асоціації біобанків в Австрії – об'єднання для мережування українських біобанків з європейською науковою спільнотою «Development of AI-driven digital twin models for multi-omic and morphological characterization of HPV-associated oropharyngeal cancer», номер державної реєстрації: UABA–2021–DT–01, шифр теми: UABA–AI–OPSCC, прикладна, термін виконання: 2021–2025 рр, керівник: Президент Української Асоціації Біобанка Австрії, доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», професор С.М Граматюк.
Дослідження не отримувало комерційного або державного фінансування; виконано за рахунок інституційної підтримки неприбуткової організації Ukrainian Association of Biobank Austria. (zareestrovano відповідно до Закону Австрії про асоціації 2002 року).

Funding information

The research was conducted as part of the institutional research project of the Ukrainian Association of Biobank Austria – Verein zur Vernetzung der ukrainischen Biobanken mit der europäischen Forschergemeinschaft «Development of AI-driven digital twin models for multi-omic and morphological characterization of HPV-associated oropharyngeal cancer», registration number: UABA–2021–DT–01, project code: UABA–AI–OPSCC, applied research project, duration: 2021 – 2025, project supervisor: President of the Ukrainian Association of Biobank Austria, Doctor of Philosophy in Health Care in Specialty «Medicine» S.M. Gramatiuk.
The study did not receive commercial or governmental funding and was supported by the institutional resources of the non-profit organization Ukrainian Association of Biobank Austria (registered under the Austrian Associations Act 2002).

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Граматюк Світлана Миколаївна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», професор, директор Інституту клітинної біореабілітації Української асоціації біобанків, вул. Григорія Сковороди, буд. 44, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Gramatiuk Svitlana Mykolaivna – Doctor of Philosophy in Health Care in Specialty «Medicine», Professor, Chief of the Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation of the Ukrainian Association of Biobank Austria; 44 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com

моб.: +43 (664) 451-33-91

Внесок автора: розробка концепції та дизайну дослідження, аналіз та інтерпретація даних, написання тексту та остаточне затвердження статті.

Іванова Юлія Вікторівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургії № 1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
моб.: +38 (066) 819-64-82

Внесок автора: розробка дизайну дослідження, збір, аналіз та інтерпретація даних.

Хаббард Емілі – керівник відділу Strategic AI Solutions to Tackle Modern Biobank Challenges, Українська асоціація біобанків Австрії, Нойе Штіфтингальштрассе, буд. 2, м. Грац, Австрія, 8010;

e-mail: elee256@gmail.com

моб.: +1 (256) 797-00-03

Внесок автора: інтерпретація даних, підготовка рукопису, редакційне доопрацювання рукопису, розробка цифрового двійника.

Саргсян Каріне – доктор медичних наук, професор Центру онкології, Седарс-Синайський медичний центр, бульв. Беверлі, буд. 8700, Лос-Анджелес, Каліфорнія, Сполучені Штати Америки, 90048;

e-mail: karine.sargsyan@medunigraz.at

моб.: +1 (310) 525-63-64

Внесок автора: інтерпретація даних, підготовка рукопису, виготовлення ілюстрацій, участь у клінічних дослідженнях та зборі епідеміологічних даних, доопрацюванні рукопису.

Оклей Денис Вікторович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри фундаментальної медичної підготовки Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: okley@ukr.net

моб.: +38 (067) 901-49-59

Внесок автора: огляд літературних джерел, інтерпретація даних, виготовлення ілюстрацій, доопрацювання рукопису.

Голобородько Микола Миколайович – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри хірургії № 1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: mm.goloborodko@knu.edu.ua

tel.: +38 (066) 740-22-70

Внесок автора: аналіз та інтерпретація даних, редагування статті.

tel.: +43 (664) 451-33-91

Author's contribution: development of the concept and design of the study, analysis and interpretation of data, writing and final approval of the article.

Ivanova Yuliia Viktorivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of Department Surgery #1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61024;

e-mail: dr.ivanova23@gmail.com

tel.: +38 (066) 819-64-82

Author's contribution: development of research design, collection, analysis and interpretation of data.

Hubbard Emily – Head of Department Strategic AI Solutions to Tackle Modern Biobank Challenges, Ukrainian Association of Biobanks Austria; ZWT, 2 Neue Stiftingtalstrasse, Graz, Austria, A-8010;

e-mail: elee256@gmail.com

tel.: +1 (256) 797-00-03

Author's contribution: data interpretation and manuscript preparation, manuscript revision and development of digital twin model.

Sargsyan Karine – Doctor of Medical Sciences, Professor, Cancer Center of the Cedars-Sinai Medical Center, 8700 Beverly Blvd., Los Angeles, California, United States of America, 90048;

e-mail: karine.sargsyan@medunigraz.at

tel.: +1 (310) 525-63-64

Author's contribution: data interpretation, manuscript and figures preparation, clinical and epidemiological data collection, manuscript revision.

Oklei Denys Viktorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of Department of Fundamental Medical Training of the V.N. Karazin Kharkiv National University Kharkiv National University of Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: okley@ukr.net

tel.: +38 (067) 901-49-59

Author's contribution: review of literature sources, interpretation of data, production of illustrations, revision of the manuscript.

Holoborodko Mykola Mykolayovich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of Department Surgery #1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: mm.goloborodko@knu.edu.ua

tel.: +38 (066) 740-22-70

Author's contribution: data analysis and interpretation, article editing.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
17.07.2025

Отримано після рецензування
Received after review
27.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-11>
УДК: 618.14-005:577.175+572.512



Участь нейротрансмітерів у формуванні аномальних маткових кровотеч на тлі різної маси тіла

Диннік В.О.¹, <https://orcid.org/0000-0002-7692-1856>, e-mail: viktoriadynnik@gmail.com
Диннік О.О.², <https://orcid.org/0000-0002-2410-2760>, e-mail: dynunja15@gmail.com

¹Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

²Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут»
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Neurotransmitters involvement in the formation of abnormal uterine bleeding against different body weight

Dynnik V.O.¹, <https://orcid.org/0000-0002-7692-1856>, e-mail: viktoriadynnik@gmail.com
Dynnik O.O.², <https://orcid.org/0000-0002-2410-2760>, e-mail: dynunja15@gmail.com

¹State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

²National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

аномальні маткові кровотечі, пубертатний період, серотонін, адреналін, норадреналін, гістамін, індекс маси тіла.

Для кореспонденції:

Диннік Вікторія Олександрівна
Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»;
просп. Ювілейний, буд. 52-А, м. Харків, Україна, 61153;
e-mail: viktoriadynnik@gmail.com

© Диннік В.О., Диннік О.О., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Проблема гормональних взаємовідношень при ендокринопатології гінекологічній патології на сьогодні не втратила своєї актуальності, оскільки є ключовою ланкою в розшифруванні патогенезу цих захворювань.

Мета роботи – з'ясування ролі катехоламінів, серотоніну і гістаміну у формуванні аномальних маткових кровотеч при різній масі тіла.

Матеріали та методи. Під наглядом перебували 125 хворих на аномальні маткові кровотечі віком від 11 до 17 років. Залежно від індексу маси тіла вони були розподілені на три групи. Першу групу склали 19 пацієнтів із дефіцитом маси тіла (індекс маси тіла = $16,48 \pm 0,20$), до другої групи увійшли 75 хворих із фізіологічним індексом маси тіла ($19,58 \pm 0,17$), та в третю групу – 31 дівчинка із надмірною масою тіла (індекс маси тіла = $27,0 \pm 0,74$). Комплекс лабораторного обстеження включав визначення рівнів в добовій сечі адреналіну, норадреналіну, в сироватці крові серотоніну, гістаміну, кортизолу.

Результати. Аномальні маткові кровотечі виникають на тлі суттєвих змін вмісту адреналіну, норадреналіну, серотоніну, гістаміну, що свідчать про активацію симпатоадреналової системи та продукції серотоніну і гістаміну. Збільшення індексу адреналіну/норадреналіну вказує на переважання гормональної ланки в діяльності симпатоадреналової системи цього контингенту хворих. Доведено, що у хворих на аномальні маткові кровотечі з різною масою тіла є певні особливості у вмісті нейротрансмітерів, які свідчать, що на моноамінергічний контроль перебігу аномальних маткових кровотеч впливає набута маса тіла на момент появи маткової кровотечі. Створена математична модель, що підтверджує існування відмінностей рівнів і взаємодії нейротрансмітерів при аномальних маткових кровотечах, пов'язаних з розподілом дівчат-підлітків із аномальними матковими кровотечами на групи в залежності від індексу маси тіла, на якому має перебіг аномальна маткова кровотеча.

Висновки. Аномальні маткові кровотечі виникають на тлі дисоціації активності ланок симпатоадреналової системи, вмісту серотоніну, гістаміну. При фізіологічній масі тіла і її дефіциті відбувається активація як стресзабезпечуючих (підвищується добова екскреція з сечею адреналіну, норадреналіну), так і стреслімітуючих (збільшується рівень в крові серотоніну). За надлишкової маси тіла реакція симпатоадреналової системи значно менша, що може свідчити про знижені адаптаційні ресурси на стресову ситуацію – виникнення маткової кровотечі.

Для цитування:

Диннік В.О., Диннік О.О. Участь нейротрансмітерів у формуванні аномальних маткових кровотеч на тлі різної маси тіла. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина. 2025. Т. 33. № 5(56). С. 825–839. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-11>

Keywords:

abnormal uterine bleeding, puberty, serotonin, adrenaline, noradrenaline, histamine, body mass index.

For correspondence:

Dynnik Victoria Oleksandrivna
State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»;
52-A Yubileiny Ave., Kharkiv, Ukraine, 61153;
e-mail: viktoriadynnik@gmail.com

© Dynnik V.O., Dynnik O.O., 2025

ABSTRACT

Background. The problem of hormonal relationships in endocrine-dependent gynecological pathology has not lost its relevance today, as it is a key link in deciphering the pathogenesis of these diseases.

Purpose – of the study was to determine the role of catecholamines, serotonin and histamine in the formation of abnormal uterine bleeding at different body weights.

Materials and Methods. 125 patients with abnormal uterine bleeding aged 11 to 17 years were under observation. Depending on body mass index, they were divided into three groups. First group consisted of 19 patients with a body weight deficit (body mass index = 16.48 ± 0.20), second group included 75 patients with physiological body mass index (19.58 ± 0.17), and three group – 31 girls with excess body weight (body mass index = 27.0 ± 0.74). The complex of laboratory examinations included the determination of the levels of adrenaline, noradrenaline in daily urine, serotonin, histamine, cortisol in blood serum.

Results. Abnormal uterine bleeding occurs against the background of significant changes in the content of adrenaline, noradrenaline, serotonin, histamine which indicate the activation of the sympatho-adrenal system and the production of serotonin and histamine. An increase in the adrenaline/noradrenaline index indicates the predominance of the hormonal link in the activity of the sympatho-adrenal system of this contingent of patients. It has been proven that patients with abnormal uterine bleeding with different body weights have certain features in the content of neurotransmitters, which indicate that the monoaminergic control of the course of abnormal uterine bleeding is influenced by the body weight gained at the time of the appearance of uterine bleeding. A mathematical model has been created that confirms the existence of differences in the levels and interaction of neurotransmitters in abnormal uterine bleeding, which depend on the distribution of adolescent girls with abnormal uterine bleeding into groups depending on the body mass index at which abnormal uterine bleeding occurs.

Conclusions. Abnormal uterine bleeding occurs against the background of dissociation of the activity of the sympatho-adrenal system, the content of serotonin, histamine. With physiological body weight and its deficiency, both stress-providing (daily urinary excretion of adrenaline, noradrenaline increases) and stress-limiting (the level of S in the blood increases). With excess body weight, the reaction of the sympatho-adrenal system is much lower, which may indicate reduced adaptive resources to a stressful situation – the occurrence of uterine bleeding.

For citation:

Dynnik VO, Dynnik OO. Neurotransmitters involvement in the formation of abnormal uterine bleeding against different body weight. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):825–839. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-11>

ВСТУП

Період статевого дозрівання – один із найважливіших у житті людини. Саме в цей час в організмі відбуваються зміни, від яких залежить подальше функціонування багатьох систем, зокрема і репродуктивної [1–3]. Регуляція менструального циклу – один із найскладніших фізіологічних процесів. Нейроендокринна система відіграє найважливішу роль у ньому, вона забезпечує зв'язок центральної нервової системи з залозами внутрішньої секреції та іншими ендокринними органами, активність яких залежить від стимулюючої дії гормонів гіпофіза [4–6]. Повноцінне дозрівання жіночої статевих системи – найважливіша умова збереження репродуктивного здоров'я у майбутньому. Саме при формуванні репродуктивної системи вона найбільш уразлива до дії шкідливих факторів будь-якого походження та інтенсивності [7, 8].

Сучасний період відзначається зростанням чисельності дівчат-підлітків із порушеннями менструальної функції. Найбільш тяжкою патологією серед цих порушень є аномальні маткові кровотечі (АМК), оскільки майже в половині випадків вони супроводжуються постгеморагічною залізодефіцитною анемією [9, 10]. Незважаючи на те, що інтерес до проблеми

INTRODUCTION

The period of puberty is one of the most important in a person's life. Right at this time that changes occur in the body, on which the further functioning of many systems, including the reproductive system, depends [1–3]. Regulation of the menstrual cycle is one of the most complicated physiological processes. The neuroendocrine system plays the most important role in it, it provides a connection between the central nervous system and the endocrine glands and other endocrine organs, the activity of which depends on the stimulating action of pituitary hormones [4–6]. Full maturation of the female reproductive system is the most important condition for preserving reproductive health in the future. It is during the formation of the reproductive system that it is most vulnerable to the action of harmful factors of any origin and intensity [7, 8].

The modern period is characterized by an increase the number of adolescent girls with menstrual disorders. The most severe pathology of these disorders is abnormal uterine bleeding (AUB), since in almost half of cases they are accompanied by posthemorrhagic iron deficiency anemia [9, 10]. Despite the fact that interest in the problem of uterine bleeding in puberty has not subsided, their treatment needs to be improved.

маткових кровотеч у пубертатному періоді не вщухає досі, їхнє лікування потребує вдосконалення.

Проблема гормональних взаємовідношень при ендокринозалежній гінекологічній патології на сьогодні не втратила своєї актуальності, оскільки є ключовою ланкою в розшифруванні патогенезу цих захворювань [11, 12]. Незважаючи на досить широке вивчення гормонального фону при АМК, досі немає єдиної думки про механізми його виникнення та формування.

Добре відомо, що моноаміни належать до високоактивних біологічних речовин, від інтенсивності та спрямованості обміну яких значною мірою залежить функціонування органів і систем в умовах адаптації до факторів навколишнього середовища [13, 14]. На певних етапах онтогенезу, коли до організму пред'являються підвищені вимоги, а саме таким є пубертат, роль моноамінів зростає.

Життя існує завдяки підтримці складної динамічної рівноваги, яка називається «гомеостазом», йому постійно протидіють внутрішні чи зовнішні, реальні чи передбачувані несприятливі фактори – стресори. «Стрес» визначають як стан загрози або сприймають як загрозу гомеостазу. Людське тіло і розум реагують на стрес, активуючи складний репертуар фізіологічних і поведінкових реакцій центральної нервової системи (ЦНС) і периферичних адаптивних реакцій, котрі, якщо вони неадекватні, надмірні або тривалі, можуть вплинути на розвиток і поведінку, і можуть мати несприятливі наслідки для фізіологічних процесів [15, 16].

Інтеграція та рівновага ендокринної та нервової систем є ключовим чинником у забезпеченні нормального менструального циклу. Катехоламінова нейротрансмісія відіграє ключову роль у регулюванні різних фізіологічних та поведінкових процесів. Дисбаланс обміну моноамінів може бути пусковим механізмом у виникненні порушень менструального циклу. Це може стосуватися як ланок центрального регулювання менструального циклу, так і органів-мішеней [17].

Аномальні маткові кровотечі – один із характерних прикладів порушення балансу вищезгаданих органів та систем. Гормональний дисбаланс, пов'язаний з психологічним стресом, який також є фактором, що сприяє розвитку АМК [18]. У попередніх своїх роботах нами було встановлено, що у пацієнтів з АМК є суттєві зміни вмісту катехоламінів та серотоніну, і залежать від клінічного варіанту перебігу захворювання (уперше виникли, ремітуючи та рецидивуючи). Враховуючи, що гіпоталамус є ключовим у передачі та інтеграції сигналів балансу енергії, ми припустили, що у пацієнок з АМК та різною масою тіла також можуть бути особливості секреції катехоламінів, серотоніну, гістаміну.

Мета роботи – з'ясування ролі катехоламінів, серотоніну і гістаміну у формуванні аномальних маткових кровотеч при різній масі тіла.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під наглядом знаходилося 125 хворих на АМК віком від 11 до 17 років. У когорті дівчат з АМК, що були обстежені, виключались захворювання крові, тромбоцитопенія, недостатність згортання крові з використанням

The problem of hormonal relationships in endocrine-dependent gynecological pathology has not lost its relevance today, since it is a key link in deciphering the pathogenesis of these diseases [11, 12]. Despite the rather extensive study of the hormonal background in AUB, there is still no consensus on the mechanisms of its occurrence and formation.

It is well known that monoamines are highly active biological substances, the intensity and direction of which metabolism largely determines the functioning of organs and systems in conditions of adaptation to environmental factors [13, 14]. At certain stages of ontogenesis, when increased demands are placed on the body, namely puberty, the role of monoamines increases.

Life exists due to the maintenance of a complex dynamic equilibrium, called «homeostasis», which is constantly counteracted by internal or external, real or perceived adverse forces, «stressors». «Stress» is defined as a state of threat or is perceived as a threat to homeostasis. The human body and mind respond to stress by activating a complex repertoire of physiological and behavioral reactions of the central nervous system (CNS) and peripheral adaptive reactions, which, if inadequate, excessive or prolonged, can affect development and behavior and can have adverse consequences for physiological processes [15, 16].

The integration and balance of the endocrine and nervous systems is a key point in ensuring a normal menstrual cycle. Catecholamine neurotransmission plays a key role in the regulation of various physiological and behavioral processes. Imbalance in monoamine metabolism can be a trigger mechanism in the occurrence of menstrual cycle disorders. This can concern both the links of the central regulation of the menstrual cycle and the target organs [17].

Abnormal uterine bleeding is one of the typical examples of imbalance of the above-mentioned organs and systems. Hormonal imbalance is associated with psychological stress, which is also a factor contributing to the development of AUB [18]. In our previous works, we have established that patients with AUB have significant changes in the content of catecholamines and serotonin, which depend on the clinical variant of the disease (new-onset, remitting and relapsing). Considering that the hypothalamus is key in the transmission and integration of energy balance signals, we assumed that patients with AUB and different body weights may also have peculiarities in the secretion of catecholamines, serotonin, and histamine.

Objective – of the study was to clarify the role of catecholamines, serotonin, and histamine in the formation of abnormal uterine bleeding at different body weights.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

125 patients with AUB aged 11 to 17 years were under observation. In the cohort of girls with AUB who were examined, blood diseases, thrombocytopenia, and blood coagulation insufficiency were excluded using screening

скринінгу щодо порушень гемостазу. Всім пацієнткам проводили антропометричні виміри з визначенням росту, маси тіла. Розраховували індекс маси тіла (ІМТ, індекс Кетле) за формулою $ІМТ = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст (м)}^2$. Для кожної пацієнтки, залежно від віку, індивідуально визначався центильний проміжок її ІМТ. Якщо він був нижчим за 15 центиль, то це розцінювалося як недостатня маса тіла. Знаходження значень ІМТ у проміжку між 15 та 85 перцентилями розцінювалося як фізіологічне коливання, вище 85 перцентилі як надлишкова маса тіла. Залежно від ІМТ, пацієнтки були розподілені на три групи. I групу склали 19 пацієнток із дефіцитом маси тіла (середнє значення ІМТ по групі – $16,48 \pm 0,20$), у II групу увійшли 75 хворих із фізіологічним ІМТ (середнє значення ІМТ по групі – $19,58 \pm 0,17$), та в III групу – 31 дівчинка із надмірною масою тіла (середнє значення ІМТ по групі – $27,0 \pm 0,74$). Проводився порівняльний аналіз результатів обстеження у групах із різною масою тіла.

У добовій сечі визначали вміст норадреналіну (НА) і адреналіну (А). Вивчалися рівні серотоніну (С) і гістаміну (Г) у цільній крові. Вміст кортизолу визначався в сироватці крові імуноферментним методом на фотометрі Rayto RT-2100C, набори «Бест-Діагности», Київ. Групу порівняння склали 30 однолітків без хронічної соматичної патології з коливаннями ІМТ від 15 до 85 перцентилі, нормальною менструальною функцією. Гормональне обстеження вони проходили в ранкові часи натщесерце в ранню фолікулярну фазу менструального циклу.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакета прикладних програм «Statgraphics Plus for Windows 5.0». Статистичні характеристики біологічно-активних речовин (БАР) представлено у вигляді середнього арифметичного (М) і стандартного відхилення ($\pm SD$). Розбіжності групових статистик оцінювалося з використанням параметричного й непараметричного дисперсійного аналізу. За критичний рівень значущості взяте значення $p < 0,05$.

Асоціації кластерів біогенних амінів відповідно до клінічної характеристики АМК оцінювалися за допомогою дискримінантного аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ

Для встановлення особливостей вмісту катехоламінів, а також серотоніну, гістаміну й кортизолу у хворих з АМК і різною масою тіла був проведений дисперсійний аналіз (табл. 1). Як свідчать результати, наведені у таблиці 1, в обстежених дівчат виявлені статистично значимі міжгрупові розбіжності рівнів гормональної ланки симпатoadреналової системи (САС) (А, НА), секреції С, кортизолу (К), Г.

Екскреція катехоламінів коливалася у значних межах (варто відзначити широкий діапазон коливань): адреналін від 6,1 до 111,9 нмоль/добу, норадреналін від 53,4 до 322,1 нмоль/добу, що, очевидно, пов'язано з індивідуальними особливостями обстежених хворих. Результати проведених досліджень показали різний характер активації симпатoadреналової системи в обстежених пацієнток. Середній вміст адреналіну в сечі у хворих з фізіологічною масою

for hemostasis disorders. All patients underwent anthropometric measurements with determination of height and body weight. Body mass index (BMI, Quetelet index) was calculated using the formula $BMI = \text{body weight (kg)} / \text{height (m)}^2$. The centile interval of BMI was determined individually for each patient, according to the age. In case when it was lower than the 15th centile, it was considered as underweight. When BMI values were found in the interval between the 15th and 85th percentiles, it was considered as physiological values, above the 85th percentile as excess body weight. Depending on BMI, patients were divided into three groups. Group I consisted of 19 patients with a body weight deficit (average value of BMI by group – 16.48 ± 0.20). Group II included 75 patients with a physiological BMI (average value of BMI by group – 19.58 ± 0.17), and Group III included 31 girls with excess body weight (average value of BMI by group – 27.0 ± 0.74). A comparative analysis of the results of the examination in groups with different body weights was carried out.

The content of noradrenaline (NA) and adrenaline (A) was determined in daily urine. The levels of serotonin (S) and histamine (H) in blood were studied. The content of cortisol was determined in blood serum by the enzyme-linked immunosorbent assay method on a Rayto RT-2100C photometer, Best-Diagnost kits, Kyiv. The comparison group consisted of 30 peers with a regular menstrual cycle, without chronic somatic pathology, with BMI values from the 15th to the 85th percentile. They underwent hormonal examination in the morning on an empty stomach in the early follicular phase of the menstrual cycle.

Statistical analysis of data was performed using the application package «Statgraphics Plus for Windows 5.0». Statistical characteristics of biologically active substances (BAS) are presented in the form of arithmetic mean (M) and standard deviation ($\pm SD$). The difference in group statistics was assessed using parametric and nonparametric analysis of variance. The critical significance level was set at $p < 0.05$.

Associations of biogenic amine clusters according to the clinical characteristics of AUB were assessed using discriminant analysis.

RESULTS

Analysis of variance was performed to establish the characteristics of the content of catecholamines, as well as S, H and C in patients with AUB and different body weights. The results are presented in Table 1. As can be seen from Table 1, the examined girls had statistically significant intergroup differences in the levels of the hormonal link of the sympatho-adrenal system (SAS) (adrenaline and noradrenaline), the secretion of S, C, H.

Catecholamine excretion varied within significant limits (it should be noted a wide range of fluctuations): adrenaline from 6.1 to 111.9 nmol/day, noradrenaline from 53.4 to 322.1 nmol/day, which is obviously related to the individual characteristics of the examined patients. The results of the conducted studies showed a different nature of the activation of the SAS in the observed patients. The average content of adrenaline in the urine in patients with physiological body weight and its deficiency was

тіла та її дефіцитом був значно підвищений (до $45,67 \pm 29,51$ нмоль/добу та $40,43 \pm 16,52$ нмоль/добу відповідно) щодо здорових однолітків ($p_{1,2} < 0,01$). При надмірній масі тіла рівень адреналіну був найменшим порівняно з пацієнтками інших груп, проте залишався в межах фізіологічної норми (табл. 1). При визначенні норадреналіну в обстежуваних групах виявлено, що його середні значення не мали суттєвих відмінностей із групою порівняння, проте при зіставленні груп між собою було з'ясовано, що найнижчі його показники спостерігалися у пацієнток із надмірною масою тіла ($p < 0,01$). Оцінка кількісних змін вмісту катехоламінів у сечі дає змогу вважати, що складнощів на рівні синтезу норадреналіну та адреналіну у біосинтезі катехоламінів у обстежених хворих не простежується.

significantly increased (up to 45.67 ± 29.51 nmol/day and 40.43 ± 16.52 nmol/day, respectively) compared to healthy peers ($p_{1,2} < 0.01$). With excessive body weight, the level of adrenaline was the lowest compared to patients of other groups, but remained within the physiological norm (Table 1). When determining noradrenaline in the examined groups, it was found that its average values did not differ significantly from the comparison group, however, when comparing the groups with each other, it was found that the lowest values were observed in patients with excess body weight ($p < 0.01$). The assessment of quantitative changes in the content of catecholamines in the urine allows us to assume that there are no difficulties at the level of synthesis of noradrenaline and adrenaline in the biosynthesis of catecholamines in the examined patients.

Таблиця 1. Середній вміст катехоламінів, серотоніну, гістаміну і кортизолу у хворих з АМК і різною масою тіла
Table 1. The average content of catecholamines, serotonin, histamine and C in patients with AUB and different body weights

Гормони і індекси / Hormones and indices	Статистичний показник / Statistical indicator	I група / Group I	II група / Group II	III група / Group III	Група порівняння / Comparison group
А, нмоль/сут. A, nmol/day	n	19	75	31	30
	M $\pm$ SD	40,43 $\pm$ 16,52*#	45,67 $\pm$ 29,51*#	26,78 $\pm$ 10,79#	25,12 $\pm$ 12,96
НА, нмоль/сут. NA, nmol/day	n	19	75	31	30
	M $\pm$ SD	148,93 $\pm$ 41,33#	141,96 $\pm$ 76,89#	98,72 $\pm$ 38,80#	115,40 $\pm$ 59,53
А/НА A/NA	n	19	75	31	30
	M $\pm$ SD	0,27 $\pm$ 0,07*	0,31 $\pm$ 0,07*	0,29 $\pm$ 0,11*	0,22 $\pm$ 0,006
С, нмоль/мл S, nmol/ml	n	19	75	31	30
	M $\pm$ SD	0,88 $\pm$ 0,37*	0,84 $\pm$ 0,39*	0,78 $\pm$ 0,40	0,65 $\pm$ 0,30
К, нмоль/л C, nmol/l	n	19	44	23	30
	M $\pm$ SD	749,42 $\pm$ 366,99*	646,59 $\pm$ 261,34	586,41 $\pm$ 277,49	532,01 $\pm$ 265,47
Г, мкМ/л H, μ M/l	n	19	75	31	30
	M $\pm$ SD	1,25 $\pm$ 0,31*	1,32 $\pm$ 0,31*	1,32 $\pm$ 0,25*	0,99 $\pm$ 0,31

Примітки / Notes:

- * – вірогідне розходження з групою порівняння ($p < 0,01$),
- # – вірогідні відмінності обстежених груп між собою ($p < 0,03-0,01$).
- * – significant difference with the comparison group ($p < 0.01$),
- # – significant differences between the examined groups ($p < 0.03-0.01$).

Середні рівні серотоніну, за винятком дівчаток з надлишковою масою тіла, і гістаміну перевищували аналогічні показники у дівчат без порушень менструальної функції ($p < 0,01$), проте не мали суттєвої різниці при порівнянні обстежених груп між собою. Середній вміст кортизолу не відрізнявся від групи порівняння у підлітків з фізіологічними значеннями маси тіла і її надлишком. У дівчат з дефіцитом маси тіла середній рівень кортизолу перевищував аналогічний показник у групі порівняння ($p < 0,01$).

Підвищення рівня адреналіну в крові діагностувалося в абсолютній більшості дівчат з дефіцитом маси тіла і його фізіологічними коливаннями (рис. 1), причому майже у третини обстежених це збільшення перевищувало 90 перцентилів. У підлітків з надлишковою масою тіла і ожирінням високі значення А виявлені значно рідше ($p_1 < 0,017$; $p_2 < 0,02$) і вони не виходили за рівень 90 перцентилів. Зниження концентрації А реєструвалося в поодиноких випадках (6,7%) незалежно від набутості маси тіла.

The average levels of S in girls with excess body weight and histamine were higher than the same values in girls without menstrual dysfunction ($p < 0.01$), despite no significant differences when the quilting of the groups is equal to each other. Average C level did not differ from the comparison group in patients with physiological values of body weight and excess weight. In girls with a deficiency of body mass, the average level of C was higher than in the comparison group ($p < 0.01$).

An increase in the level of A in the blood was diagnosed in the absolute majority of girls with a deficiency of body mass and other physiological deviations (Fig. 1), and in a third the increase was more than 90 percent. In children with excess body weight and obesity, high values of A were significantly lower ($p_1 < 0.017$; $p_2 < 0.02$) and the smell did not go beyond 90 percent. A decrease in the concentration of A was recorded in isolated cases (6.7%) independent of body mass.

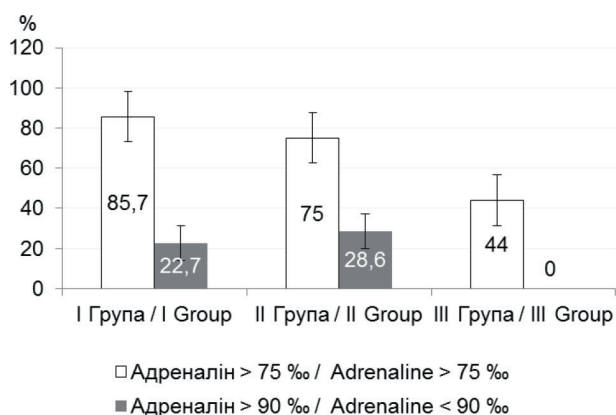


Рис. 1. Питома вага дівчат з підвищеними рівнями адреналіну
Fig. 1. Percentage of girls with increased A levels

Підвищення НА відбувалося рідше, ніж А, проте зберігалася така сама тенденція – частіше збільшення рівня НА простежувалося у дівчат з дефіцитом маси тіла і його нормативними значеннями (рис. 2). Найрідше підвищені цифри НА визначалися у хворих з надлишковою масою тіла і ожирінням, і вони не виходили за межі 90 перцентилів, на відміну від дівчат двох інших груп.

An increase in NA occurred less frequently than in A, but the same trend remained – an increase in NA levels was observed more often in girls with a deficit of body weight and its normative values (Fig. 2). The least often increased NA numbers were determined in patients with excess body weight and obesity and they did not exceed the 90th percentile, unlike girls in the other two groups.

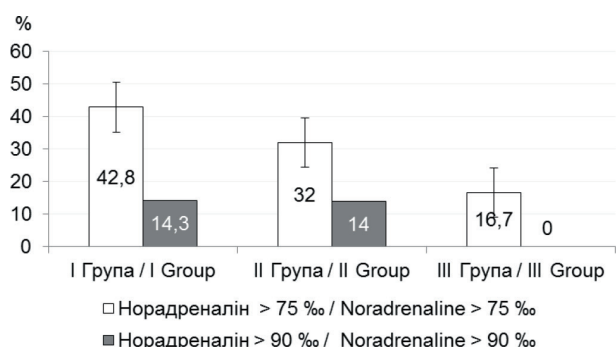


Рис. 2. Питома вага дівчат з підвищеними рівнями норадреналіну
Fig. 2. Percentage of girls with elevated NA levels

Ми порівняли як часто підвищення рівня А збірається з підйомом НА (рис. 3)

We compared how often an increase in A levels coincides with an increase in NA (Fig. 3)

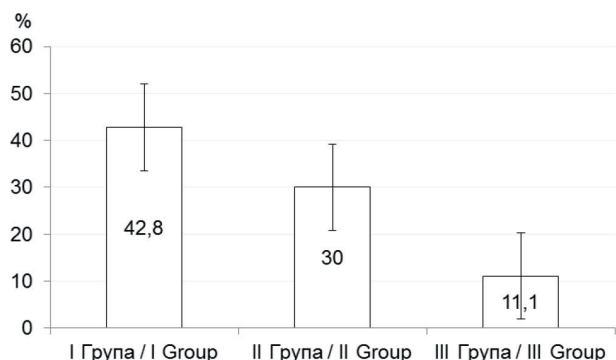


Рис. 3. Збіг підвищених рівнів адреналіну і норадреналіну
Fig. 3. Coincidence of elevated levels of A and NA

Найрідше це спостерігається серед дівчат з надлишковою масою тіла і ожирінням ($p_{1,2} < 0,04$). Визначення кореляційних зв'язків між А і НА виявило високу залежність між ними у всіх обстежених групах дівчат. У підлітків з нормативним ІМТ $r = 0,93$

This is least observed among girls with excess body weight and obesity ($p_{1,2} < 0.04$). Determination of correlations between A and NA revealed a high dependence between them in all groups of girls examined. In adolescents with a normative BMI $r = 0.93$ ($p < 0.0000$),

($p < 0,0000$), при його дефіциті $r = 0,92$ ($p < 0,0037$). У дівчат з надлишковою масою тіла і ожирінням кореляційний зв'язок зменшується: $r = 0,43$ ($p < 0,07$).

Для порівняльної оцінки медіаторної та гормональної ланки, а також оцінки реактивності організму використовують коефіцієнт адреналін/норадреналін (A/NA, рис. 4).

with its deficiency $r = 0.92$ ($p < 0.0037$). In girls with excess body weight and obesity, the correlation decreases $r = 0.43$ ($p < 0.07$). For a comparative assessment of the mediator and hormonal link, as well as an assessment of the body's reactivity, the adrenaline/noradrenaline ratio (A/NA, Fig. 4) is used.

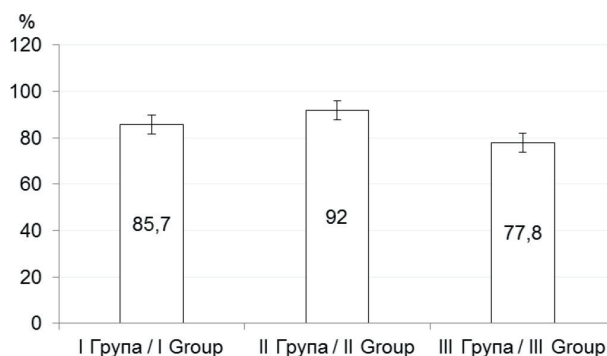


Рис. 4. Питома вага дівчат з високими значеннями співвідношення А/НА (> 90 ‰)
Fig. 4. Percentage of girls with high values of A/NA ratio (> 90 ‰)

Аналіз взаємовідношень катехоламінів виявив збільшення цього співвідношення у всіх групах хворих. Тобто у пацієток на момент кровотечі переважає гормональна ланка симпатоадреналової системи.

Більше ніж у третини всіх дівчат з АМК відмічався підвищений рівень серотоніну, який не мав різниці в залежності від групи спостереження (I гр. – 36,8%, II гр. – 38,5% і III гр. – 37,9%).

Стосовно гістаміну, то його збільшення виявлене у більшості дівчат з АМК (рис. 5). Зниження його вмісту відмічалось в поодиноких випадках.

Analysis of catecholamine relationships revealed an increase in this ratio in all groups of patients. That is, in patients at the time of bleeding, the hormonal link of SAS prevails. More than a third of all girls with AUB had an increased level of S, which did not differ depending on the observation group (I gr. – 36.8%, II gr. – 38.5% and III gr. – 37.9%).

As for H, its increase was observed in most girls with AUB (Fig. 5). A decrease in its content was noted in isolated cases.

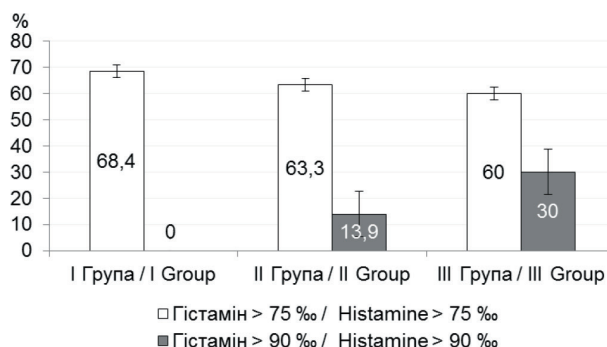


Рис. 5. Відсоток дівчат з АМК з підвищеним рівнем гістаміну
Fig. 5. Percentage of girls with AUB with elevated H levels

Підсумовуючи дані об'єктивного обстеження хворих на АМК, варто зазначити, що у цих дівчат було виявлено варіабельність лабораторних показників залежно від маси тіла.

З метою вивчення міжгрупових розбіжностей проведено математичний аналіз, який дозволив виділити набір ознак, характерних для тієї чи іншої групи хворих. За допомогою дискримінантного аналізу було побудовано математичну модель розподілу об'єктів на три класи, що описуються двома дискримінантними функціями. Як змінну, що об'єднує, використовували ІМТ, а змінними, для пошуку відмінностей між групами були катехоламіни, серотонін, гістамін, кортизол. Статистичні параметри цієї моделі наведені в табл. 2. Було обчислено найбільш інформативні змінні, що увійшли

Summarizing the data of the objective examination of patients with AUB, it should be noted that these girls showed variability in laboratory parameters depending on the body weight.

In order to study intergroup differences, a mathematical analysis was performed, which allowed us to identify a set of features characteristic of a particular group of patients. Using discriminant analysis, a mathematical model of the distribution of objects into three classes described by two discriminant functions was constructed. BMI was used as a grouping variable, and catecholamines, S, H, C were used as variables to search for differences between groups. The statistical parameters of this model are presented in Table 2. The most informative variables were calculated, which were included in two canonical

до двох канонічних дискримінантних функцій. Різницю груп можна простежити за величиною коефіцієнта канонічної кореляції. Що вищий цей коефіцієнт, то більш вірогідні відмінності і кращі для інтерпретації даних. За результатами виділених п'яти параметрів дискримінація складена з точністю 96%.

discriminant functions. The difference between groups can be judged by the value of the canonical correlation coefficient. The higher the coefficient, the more likely the differences are and the better for data interpretation. According to the results of the selected five parameters, discrimination occurred with 96% accuracy.

Таблиця 2. Статистична характеристика моделі класифікації об'єктів
Table 2. Statistical characteristics of the object classification model

Дискримінантна функція / Discriminant function	Інформативність, % / Informativeness, %	Канонічна кореляція / Canonical correlation	Критерій χ^2 квадрат / Criterion χ^2 squared	P
ДФ1 / DF1	96	0,99	29,18	0,009
ДФ2 / DF2	4	0,80	6,22	0,045

Виділені дискримінантні функції статистично значуще описують процес розподілу хворих із АМК на групи.

Виходячи з табл. 2, перша дискримінантна функція (ДФ1) із статистичною значущістю ($p = 0,009$) розподіляє об'єкти (хворих із АМК) на три класи. Друга дискримінантна функція (ДФ2) вносить додаткову інформацію в статистичні властивості моделі.

The selected discriminant functions statistically significantly describe the process of dividing patients with AUB into groups.

Based on Table 2, the first discriminant function (DF1) with statistical significance ($p = 0.009$) divides objects (patients with AUB) into three classes. The second discriminant function (DF2) adds additional information to the statistical properties of the model.

Таблиця 3. Координати центрів розташування груп об'єктів у просторі дискримінантних функцій
Table 3. Coordinates of the centers of location of group's of objects in the space of discriminant functions

Групи обстежених / Groups of subjects	Координати центрів / Coordinates of centroids	
	ДФ1 / DF1	ДФ2 / DF2
I гр. / I group	-9,28	-0,78
II гр. / II group	4,91	-0,62
III гр. / III group	-0,54	2,02

Відповідно до таблиці 3 пацієнти із I гр. знаходяться у нижній лівій частині площини, підлітки з II гр. – у нижній правій частині, а дівчатка з III гр. займають верхню частину дискримінантних функцій. Інтерпретувати таке розташування груп можна, використовуючи таблицю стандартизованих коефіцієнтів дискримінації.

Визначення змінних, що мають найбільший внесок у розподіл об'єктів на три класи, здійснюється на основі стандартизованих коефіцієнтів дискримінації, наведених у таблиці 4.

According to table 3, patients from group I are located in the lower left part of the plane, adolescents from group II are located in the lower right part, and girls from group III occupy the upper part of the discriminant functions. The interpretation of this arrangement of groups can be given using the table of standardized discrimination coefficients.

Which variables make the greatest contribution to the distribution of objects into three classes can be judged by the standardized discrimination coefficients given in table 4.

Таблиця 4. Стандартизовані коефіцієнти дискримінантних функцій
Table 4. Standardized coefficients of discriminant functions

Показники / Indicators	Стандартизовані коефіцієнти / Standardized coefficients	
	ДФ1 / DF1	ДФ2 / DF2
A / A	-28,42	-39,21
HA / NA	26,55	36,03
A/HA / A/NA	13,61	14,91
C / S	4,53	0,008
K / C	0,50	-1,74

Знак та абсолютна величина стандартизованого коефіцієнта дискримінації забезпечують розташування у площині дискримінантних функцій. Розташування I гр. визначає кластер підвищеного рівня A, HA, K, C, що може свідчити про напругу у системі САС. З іншого боку високі цифри кортизолу і серотоніну вказують на відповідну реакцію на стрес у системі

The sign and absolute value of the standardized discrimination coefficient provide the location in the plane of discriminant functions. The position of group I determines the cluster of increased levels of A, NA, C, S, which may indicate tension in the SAS system. On the other hand, high levels of C and S indicate an appropriate response to stress in the adaptation system. Serotonin

адаптації. Серотонін належить до стреслімітуючих факторів, і його підвищення в цьому випадку можна розглядати як процес, що забезпечує підтримку гомеостазу, що стримує стресорну реакцію. На периферії ж він чинить утеротонічний і гемостатичний вплив, що здійснюється не тільки за рахунок підвищення механічної активності матки, але й у результаті спазму гладкої мускулатури [19].

Об'єкти з другої групи мають високі рівні А, НА, С та найвище співвідношення А/НА. Стресорний вплив змінює діяльність різних ефекторних систем: крім гіпоталамо-гіпофізарно-адrenокортикальної системи важливим медіатором стресових реакцій є САС. Збільшення індексу А/НА вказує на переважання гормональної ланки в діяльності САС цього контингенту хворих. Активна реакція симпатoadреналової системи, що є необхідним елементом фізіологічної реакції захисно-приспосовувальних механізмів, в даному випадку виконує не тільки саногенетичну, але і патогенетичну роль і, відповідно, може розглядатися як важливий фактор розвитку патологічних станів.

Для об'єктів III гр. характерний кластер найнижчих рівнів катехоламінів, С, К. Це підлітки з надмірною масою тіла та ожирінням. НА та С беруть участь у регуляції харчової поведінки та подають сигнали про насичення. Вважається, що С модулює шляхи гіпоталамічного енергетичного балансу, бере участь у процесах короткострокового насичення. Зниження продукції НА і С, певною мірою, може підтримувати надмірну масу тіла у цієї групи хворих та сприяти збільшенню споживання продуктів харчування. Вважається, що серотонінова недостатність може призводити до підвищеного споживання високо вуглеводної їжі для досягнення емоційного комфорту. С має різні рецептори, від їх активації залежить його дія, яка може викликати як орексигенний ефект, що призводить до ожиріння, так і зворотний ефект [20].

ОБГОВОРЕННЯ

На сьогодні вже не визиває сумніву, що порушення менструальної функції асоціюються зі стресом [21–23]. У відповідь на стрес активується САС, яка спирається на дію нейротрансмітерів, таких як А, НА, С, Г для виконання низки біологічних функцій. Вироблення цих катехоламінів перебуває під подвійним регулюванням як нервових компонентів симпатичної нервової системи, так і гормональних механізмів, включно з віссю гіпоталамус-гіпофіз-надниркової залози. Тобто в основі спільного функціонування нервової та ендокринної системи є взаємодія хімічних сигнальних речовин, нейромедіаторів і нейрогормонів [24].

Дія нейротрансмітерів в організмі багатогранна, вони мають високу біологічну активність, сприяють багатьом різноманітним фізіологічним процесам і є біомаркерами стресу. Активація синтезу катехоламінів – типова реакція на стрес, їхня роль полягає в мобілізації організму, швидкого запуску процесів, які підвищують вірогідність виходу зі стресової ситуації. Перед усім активується симпатoadреналова і гіпофізарно-надниркова системи [25].

Адреналін є важливим метаболічним гормоном, він підвищує проникність клітинних мембран для глюкози,

belongs to stress-limiting factors, and its increase in this case can be considered as a process that ensures the maintenance of homeostasis, which restrains the stress response. On the periphery, it has a uterotonic and hemostatic effect, which is carried out not only by increasing the mechanical activity of the uterus, but also as a result of smooth muscle spasm [19].

Objects from the second group have high levels of A, NA, S and the highest A/NA ratio. Stressful influence changes the activity of various effector systems: in addition to the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system, an important mediator of stress reactions is the SAS. An increase in the A/NA index indicates the predominance of the hormonal link in the activity of the SAS of this contingent of patients. The active reaction of the SAS, which is a necessary element of the physiological reaction of protective and adaptive mechanisms, in this case performs not only a sanogenetic, but also a pathogenetic role and, accordingly, can be considered as an important factor in the development of pathological conditions.

Objects of group III are characterized by a cluster of the lowest levels of catecholamines, S and C. These are adolescents with excess body weight and obesity. Noradrenaline and S are involved in the regulation of eating behavior and provide satiety signals. It is believed that serotonin modulates the pathways of hypothalamic energy balance, participates in the processes of short-term satiety. A decrease in the production of NA and S, to some extent, can maintain excess body weight in this group of patients and contribute to increased food consumption. It is believed that serotonin deficiency can lead to increased consumption of high-carbohydrate foods to achieve emotional comfort. Serotonin has various receptors, its action depends on their activation, which can cause both an orexigenic effect, leading to obesity, and the opposite effect [20].

DISCUSSION

Today, there is no doubt that menstrual disorders are associated with stress [21–23]. In response to stress, the SAS is activated, which relies on the action of neurotransmitters such as A, NA, S, H to perform a number of biological functions. The production of these catecholamines is under dual regulation of both the neural components of the sympathetic nervous system and hormonal mechanisms that include the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. That is, the basis of the joint functioning of the nervous and endocrine systems is the interaction of chemical signaling substances, neurotransmitters and neurohormones [24].

The action of neurotransmitters in the body is multifaceted, they have high biological activity, contribute to many different physiological processes and are biomarkers of stress. Activation of catecholamine synthesis is a typical response to stress, their role is to mobilize the body, quickly launch processes that increase the likelihood of overcoming a stressful situation. First of all, the sympatho-adrenal and pituitary-adrenal systems are activated [25].

Adrenaline is an important metabolic hormone, it increases the permeability of cell membranes for

посилює розпад вуглеводів (глікогену) та жирів, спричиняє звуження судин органів черевної порожнини, шкіри та слизових оболонок; розширює судини скелетної мускулатури. Артеріальний тиск, частота серцевих скорочень під дією адреналіну підвищуються. Він відіграє дуже важливу роль в серцево-судинній системі і є медіатором реакції «бий або біжи» [26, 27].

Норадреналін асоціюють з «гормоном люті». Його секреція та викид у кров посилюються при стресі, кровотечах та інших ситуаціях, що вимагають швидкої перебудови організму, оскільки НА має сильну судиннозвужувальну дію, його викид у кров відіграє ключову роль у регуляції швидкості та об'єму кровотоку [28, 29].

У дівчат з АМК, особливо з фізіологічними значеннями ІМТ і при дефіциті маси тіла відбувається значне підвищення А і НА (в І гр. – у 85,7%; в ІІ гр. – у 72%). Вірогідно збільшується індекс А/НА (в І гр. – у 85,7%; в ІІ гр. – у 92%). Порушення обміну катехоламінів, які чинять фізіологічну дію на судинну стінку та викликають активацію метаболічних та нейрорефлекторних процесів, безсумнівно, відіграє певну роль у процесах гемостазу при АМК у періоді пубертату. Збільшення рівня А стосовно НА свідчить про дисоціацію в активності ланок САС, превалювання гормональної ланки і підвищення функціональних можливостей забезпечення адаптаційних реакцій організму. У підлітків з надлишковою масою тіла реакція САС значно менша, тобто адаптаційні можливості на стресову ситуацію порушення менструального циклу, знижені.

Серотонін відіграє важливу роль у механізмах гіпоталамічної регуляції гормональної функції гіпофіза. Він також бере участь у регуляції судинного тону, у процесах згортання крові. Серотонін підвищує функціональну активність тромбоцитів та їх схильність до агрегації та утворення тромбів [30, 31]. Стимулюючи специфічні серотонінові рецептори у печінці, С викликає збільшення синтезу печінкою факторів згортання крові. Серотонін відіграє важливу роль у паракринній регуляції скоротливості матки та маткових труб, модулює емоції і настрої. Серотонін часто називають «гормоном щастя» [19]. Окрім своєї периферійної дії на судини і систему згортання С впливає на функцію секреції гонадотропінрелізінг гормону, і його відносять до стреслімітуючої системи. Підвищення С майже у 40% хворих на АМК може свідчити про активацію захисних механізмів у відповідь на стрес.

Гістамін регулює широкий спектр фізіологічних процесів, є важливим нейрорегулятором репродуктивної осі, впливає на секрецію ЛГ на рівні центральної нервової системи. Він регулює харчову поведінку і є мішенню для лептину, впливає на цикли сну та неспання, пам'ять та ін. Його головне завдання створити оптимальні умови для функціонування організму та зчинити тривогу у разі виникнення реальної загрози для здоров'я. Зниження Г може призводити до вищих рівнів тривоги. Локально Г викликає збільшення кровотоку і, як наслідок, змінюючи кровотік через репродуктивні органи, бере участь у процесах, що відбуваються в яєчнику під час зростання, дозрівання та регресії фолікулів. Гістамін має також і утеротонічну дію [32, 33]. У більшості хворих на АМК реєструється підвищення рівня Г (І гр. – 68,4%; ІІ гр. – 63,3%; ІІІ гр. – 60%). Причому, якщо збільшення екскреції

glucose, enhances the breakdown of carbohydrates (glycogen) and fats, causes constriction of the vessels of the abdominal cavity, skin and mucous membranes; dilates the vessels of skeletal muscles. Blood pressure, heart rate under the influence of A increase. It plays a very important role in the cardiovascular system and is a mediator of the «fight or flight» reaction [26, 27].

Noradrenaline is associated with the «anger hormone». Its secretion and release into the blood are increased during stress, bleeding and other situations that require rapid restructuring of the body, since NA has a strong vasoconstrictor effect, its release into the blood plays a key role in regulating the speed and volume of blood flow [28, 29].

In girls with AUB, especially with physiological BMI values and with a deficit of body weight, there is a significant increase in A and NA (in group I – in 85.7%; in group II – in 72%). The A/NA index probably increases (in group I – in 85.7%; in group II – in 92%). Disturbance of catecholamine metabolism, which has a physiological effect on the vascular wall and causes activation of metabolic and neuroreflex processes, undoubtedly plays a certain role in the processes of hemostasis in AUB during puberty. An increase in the level of A relative to NA indicates a dissociation in the activity of the links of the SAS, the prevalence of the hormonal link and an increase in the functional capabilities of ensuring the body's adaptive reactions. In adolescents with excess body weight, the response of the SAS is significantly lower, that is, the adaptive capabilities to the stressful situation of menstrual cycle disorders are reduced.

Serotonin plays an important role in the mechanisms of hypothalamic regulation of the hormonal function of the pituitary gland. It also participates in the regulation of vascular tone and blood clotting processes. Serotonin increases the functional activity of platelets and their tendency to aggregation and thrombus formation [30, 31]. By stimulating specific S receptors in the liver, S causes an increase in the synthesis of blood clotting factors by the liver. Serotonin plays an important role in the paracrine regulation of uterine and fallopian tube contractility, and modulates emotions and mood. Serotonin is often called the «happiness hormone» [19]. In addition to its peripheral effect on the vessels and the coagulation system, S affects the function of gonadotropin-releasing hormone secretion, and it is attributed to the stress-limiting system. An increase in S in almost 40% of patients with AUB may indicate the activation of protective mechanisms in response to stress.

Histamine regulates a wide range of physiological processes, is an important neuroregulator of the reproductive axis, affects the secretion of LH at the level of the central nervous system. It regulates eating behavior and is a target for leptin, affects sleep-wake cycles, memory, etc. Its main task is to create optimal conditions for the functioning of the body and raise anxiety in the event of a real threat to health. A decrease in H can lead to higher levels of anxiety. Locally, H causes an increase in blood flow and, as a result, changing the blood flow through the reproductive organs, participates in the processes occurring in the ovary during the growth, maturation and regression of follicles. Histamine also has a uterotonic effect [32, 33]. In most patients with AUB, an increase

А і НА більше 90 перцентилів виявлене у хворих з нормативним ІМТ і його дефіцитом, то підвищення Г більше як 90 перцентилів, в основному, відмічалось у дівчат з надмірною масою тіла. Останніми роками з'явилися публікації, що одним із терапевтичних підходів у лікуванні ожиріння, є пошук активного гістаміну H.3 рецептор- ліганду [34].

Отже, результати проведених досліджень засвідчили, що при АМК відбувається активація катехоламінів, що позначається підвищенням вмісту С, Г у крові та виділенням із сечею А, НА, що можна розцінювати переважно захисною дією. Проте ці реакції більш притаманні дівчатам з фізіологічними параметрами ІМТ і її дефіцитом. Для хворих з надлишковою масою тіла відхилення в продукції катехоламінів можуть свідчити про зниження адаптації. На наш погляд, це може бути пов'язаним з тим, що надлишкова маса тіла і ожиріння, найчастіше є наслідком змін функціональної організації гіпоталамічних структур, відповідальних за харчову поведінку. У зв'язку з цим реакція на порушення менструальної функції різниться з результатами дівчат-підлітків з нормативними параметрами ІМТ та її дефіцитом.

Для підтвердження існування міжгрупових розходжень стосовно визначених нейротрансмітерів була створена модель, яка дала змогу чітко визначитися щодо розподілу хворих на АМК на групи в залежності від ІМТ. Дискримінація цієї моделі склала 96% і визначила характерні патерни вмісту моноамінів у дівчат з АМК і різною масою тіла.

Таким чином, аномальні маткові кровотечі за умов різної маси тіла характеризуються патогенетичною гетерогенністю. Кожному клінічному варіанту властиві свої особливості взаємовідношень центральних ланок регуляції менструального циклу, що треба враховувати при вирішенні питання призначення лікувально-профілактичних заходів.

ВИСНОВКИ

Визначені особливості взаємовідношень катехоламінів при аномальних маткових кровотечах з різною масою тіла. Для дівчат з фізіологічними параметрами маси тіла і її дефіцитом більш характерна активація симпатoadреналової системи, підвищені рівні С, Г. У підлітків з надлишковою масою тіла реакція симпатoadреналової системи значно менша, тобто адаптаційні можливості на стресову ситуацію порушення менструального циклу, знижені.

Розроблено математичну модель, що доводить існування відмінностей нейротрансмітерів у забезпеченні аномальних маткових кровотеч, які залежать від розподілу дівчат-підлітків із АМК в залежності від ІМТ, на якому має перебіг аномальна маткова кровотеча.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sopher A. B., Oberfield S. E., Witchel S. F. Disorders of Puberty in Girls. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2022. №40 (01/02). P. 003–105. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735892>
2. Abou El Ella S. S., Barseem N. F., Tawfik M. A., et al. BMI relationship to the onset of puberty: assessment of growth parameters and sexual

in H levels is recorded (I group – 68.4%; II group – 63.3%; III group – 60%). Moreover, if the increase in the excretion of A and NA more than 90 percent was registered in patients with a normative BMI and its deficiency, then the increase in histamine more than 90 percent was mainly observed in girls with excess body weight. In recent years, publications have appeared that one of the therapeutic approaches in the treatment of obesity is the search for an active H H.3 receptor ligand [34].

Thus, the results of the conducted studies showed that in AUB, catecholamines are activated, which is expressed by an increase in the content of S, H in the blood and the excretion of A, NA in the urine, which can be considered mainly a protective effect. However, these reactions are more characteristic of girls with physiological parameters of BMI and its deficiency. For patients with excess body weight, deviations in the production of catecholamines may indicate a decrease in adaptation. In our opinion, this may be due to the fact that excess body weight and obesity most often occur against the background of changes in the functional organization of hypothalamic structures responsible for eating behavior. In this regard, the reaction to menstrual dysfunction differs from the results of adolescent girls with normative parameters of BMI and its deficiency. To confirm the existence of intergroup differences in relation to certain neurotransmitters, a model was created that made it possible to clearly determine the distribution of patients with AUB into groups depending on BMI. The discrimination of this model was 96% and identified characteristic patterns of monoamine content in girls with AUB and different body weights.

Summarizing all of the above, we can say that abnormal uterine bleeding, which occurs against the background of different body weights, is characterized by pathogenetic diversity. Each clinical variant has its own peculiarities of the relationship between the central links of menstrual cycle regulation, which must be taken into account when deciding on the appointment of therapeutic and preventive measures.

CONCLUSIONS

The peculiarities of the relationship between catecholamines in abnormal uterine bleeding with different body weights have been determined. Activation of the SAS, increased levels of S, H are more typical for girls with physiological parameters of body weight and its deficiency. In adolescents with excess body weight, the reaction of the SAS is much lower, that is, the adaptive capabilities to the stressful situation of menstrual cycle disorders are reduced.

It has been developed the mathematical model, that proves the existence of differences in neurotransmitter levels depending on BMI in adolescent girls with abnormal uterine bleeding.

REFERENCES

1. Sopher AB, Oberfield SE, Witchel SF. Disorders of Puberty in Girls. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2022. №40 (01/02). P. 003–105. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735892>
2. Abou El Ella SS, Barseem NF, Tawfik MA, Ahmed AF. BMI relationship to the onset of puberty: assessment of growth parameters

- maturity changes in Egyptian children and adolescents of both sexes. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2020. №33 (1). P. 121–128. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpem-2019-0119>
3. Syrjälä E., Niinikoski H., Virtanen H. E., et al. Determining the timing of pubertal onset via a multicohort analysis of growth. *PLoS One*. 2021. №16 (11). P. e0260137. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260137>
4. Thiyagarajan D. K., Basit H., Jeanmonod R. Physiology, Menstrual Cycle. *StatPearls*. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500020/>
5. Sacher J., Zsido R. G., Barth C., et al. Increase in Serotonin Transporter Binding in Patients With Premenstrual Dysphoric Disorder Across the Menstrual Cycle: A Case-Control Longitudinal Neuroreceptor Ligand Positron Emission Tomography Imaging Study. *Biological Psychiatry*. 2023. №93 (12). P. 1081–1088. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.12.023>
6. Saei Ghare Naz M., Rostami Dovom M., Ramezani Tehrani F. The Menstrual Disturbances in Endocrine Disorders: A Narrative Review. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2020. №18 (4). P. e106694. DOI: <https://doi.org/10.5812/ijem.106694>
7. Skakkebaek N. E., Lindahl-Jacobsen R., Levine H., et al. Environmental factors in declining human fertility. *Nature Reviews Endocrinology*. 2022. №18 (3). P. 139–157. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00598-8>
8. Bala R., Singh V., Rajender S. Environment, Lifestyle, and Female Infertility. *Reproductive Sciences*. 2021. №28 (3). P. 617–638. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>
9. Alauddin N. Assessment of Various Etiological Factors of Puberty Menorrhagia. *Indian Journal of Public Health Research and Development*. 2022. №13 (4). P. 165–169. DOI: <https://doi.org/10.37506/ijphrd.v14i4.18576>
10. Varadarajan R., Yoganarasimha S. Treatment modalities in the management of cases of puberty menorrhagia admitted in a tertiary care center. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2023. №13 (12). P. 2393–2396. DOI: <https://doi.org/10.5455/njppp.2023.13.04229202302052023>
11. Klusmann H., Schulze L., Engel S., et al. HPA axis activity across the menstrual cycle – a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2022. №66. P. 100998. PMID: 35597328 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.100998>
12. Berga S. L. The Menstrual Cycle and Related Disorders. *Female Reproductive Dysfunction*. 2020. P. 23–37. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-14782-2_2
13. Tang K. J., Zhao Y., Tao X., et al. Catecholamine Derivatives: Natural Occurrence, Structural Diversity, and Biological Activity. *Journal of Natural Products*. 2023. №86 (11). P. 2592–2619. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00465>
14. Moretti C. Menstrual Disorders Related to Endocrine Diseases. *Female Reproductive Dysfunction*. 2020. P. 1–21. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03594-5_4-1
15. Lu S., Wei F., Li G. The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell Stress*. 2021. №5 (6). P. 76–85. DOI: <https://doi.org/10.15698/cst2021.06.250>
16. Kazakou P., Nicolaides N. C., Chrousos G. P. Basic Concepts and Hormonal Regulators of the Stress System. *Hormone Research in Paediatrics*. 2023. №96 (1). P. 8–16. DOI: <https://doi.org/10.1159/000523975>
17. Kruk J., Kotarska K., Aboul-Enein B. H. Physical exercise and catecholamines response: benefits and health risk: possible mechanisms. *Free Radical Research*. 2020. №54 (2-3). P. 105–125. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1726343>
18. Gilbrech K. I. The Impact of Stress on the Menstrual Cycle. *The Eleanor Mann School of Nursing Undergraduate Honors Theses*. 2020. URL: <https://scholarworks.uark.edu/nursuht/102>
19. Redelinguys C. Serotonin/5-hydroxytryptamine (5-HT) physiology. *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia*. 2020. №26 (6). P. 149–152. DOI: <https://doi.org/10.36303/SAJAA.2020.26.6.S3.2561>
20. Kanova M., Kohout P. Serotonin-Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22 (9). P. 4837. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22094837>
21. Maurya P., Meher T., Muhammad T. Relationship between depressive symptoms and self-reported menstrual irregularities during adolescence: evidence from UDAYA, 2016. *BioMed Central Public Health*. 2022. №22. P. 758. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13196-8>
22. Vannuccini S., Fondelli F., Clemenza S., et al. Dysmenorrhea and Heavy Menstrual Bleeding in Elite Female Athletes: Quality of Life and Perceived Stress. *Reproductive Sciences*. 2020. №27. P. 888–894. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00092-7>
- and sexual maturity changes in Egyptian children and adolescents of both sexes. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2020;33(1):121–8. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpem-2019-0119>
3. Syrjälä E, Niinikoski H, Virtanen HE, Ilonen J, Knip M, Hutri-Kähönen N, et al. Determining the timing of pubertal onset via a multicohort analysis of growth. *PLoS One*. 2021;16(11):e0260137. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260137>
4. Thiyagarajan DK, Basit H, Jeanmonod R. Physiology, Menstrual Cycle. *StatPearls*. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500020/>
5. Sacher J, Zsido RG, Barth C, Zientek F, Rullmann M, Luthardt J, et al. Increase in Serotonin Transporter Binding in Patients With Premenstrual Dysphoric Disorder Across the Menstrual Cycle: A Case-Control Longitudinal Neuroreceptor Ligand Positron Emission Tomography Imaging Study. *Biological Psychiatry*. 2023;93(12):1081–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.12.023>
6. Saei Ghare Naz M, Rostami Dovom M, Ramezani Tehrani F. The Menstrual Disturbances in Endocrine Disorders: A Narrative Review. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2020;18(4):e106694. DOI: <https://doi.org/10.5812/ijem.106694>
7. Skakkebaek NE, Lindahl-Jacobsen R, Levine H, Andersson AM, Jørgensen N, Main KM, et al. Environmental factors in declining human fertility. *Nature Reviews Endocrinology*. 2022;18(3):139–57. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00598-8>
8. Bala R, Singh V, Rajender S, Singh K. Environment Lifestyle, and Female Infertility. *Reproductive Sciences*. 2021;28(3):617–38. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00279-3>
9. Alauddin N. Assessment of Various Etiological Factors of Puberty Menorrhagia. *Indian Journal of Public Health Research and Development*. 2022;13(4):165–9. DOI: <https://doi.org/10.37506/ijphrd.v14i4.18576>
10. Varadarajan R, Yoganarasimha S. Treatment modalities in the management of cases of puberty menorrhagia admitted in a tertiary care center. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2023;13(12):2393–6. DOI: <https://doi.org/10.5455/njppp.2023.13.04229202302052023>
11. Klusmann H, Schulze L, Engel S, et al. HPA axis activity across the menstrual cycle – a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2022;66:100998. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.100998>
12. Berga SL. The Menstrual Cycle and Related Disorders. *Female Reproductive Dysfunction*. 2020:23–37. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-030-14782-2_2
13. Tang KJ, Zhao Y, Tao X, Li J, Chen Y, Holland DC, et al. Catecholamine Derivatives: Natural Occurrence, Structural Diversity, and Biological Activity. *Journal of Natural Products*. 2023;86(11):2592–619. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00465>
14. Moretti C. Menstrual Disorders Related to Endocrine Diseases. *Female Reproductive Dysfunction*. 2020:1–21. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-03594-5_4-1
15. Lu S, Wei F, Li G. The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell Stress*. 2021;5(6):76–85 DOI: <https://doi.org/10.15698/cst2021.06.250>
16. Kazakou P, Nicolaides NC, Chrousos GP. Basic Concepts and Hormonal Regulators of the Stress System. *Hormone Research in Paediatrics*. 2023;96(1):8–16. DOI: <https://doi.org/10.1159/000523975>
17. Kruk J, Kotarska K, Aboul-Enein BH. Physical exercise and catecholamines response: benefits and health risk: possible mechanisms. *Free Radical Research*. 2020;54(2-3):105–25. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1726343>
18. Gilbrech KI. The Impact of Stress on the Menstrual Cycle. *The Eleanor Mann School of Nursing Undergraduate Honors Theses*. 2020. URL: <https://scholarworks.uark.edu/nursuht/102>
19. Redelinguys C. Serotonin/5-hydroxytryptamine (5-HT) physiology. *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia*. 2020;26(6):149–52. DOI: <https://doi.org/10.36303/SAJAA.2020.26.6.S3.2561>
20. Kanova M, Kohout P. Serotonin-Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(9):4837. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22094837>
21. Maurya P, Meher T, Muhammad T. Relationship between depressive symptoms and self-reported menstrual irregularities during adolescence: evidence from UDAYA, 2016. *BioMed Central Public Health*. 2022;22(1):758.DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13196-8>
22. Vannuccini S, Fondelli F, Clemenza S, Galanti G, Petraglia F. Dysmenorrhea and Heavy Menstrual Bleeding in Elite Female Athletes: Quality of Life and Perceived Stress. *Reproductive Sciences*. 2020;27:888–94. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00092-7>

23. Gilbrech K. I. The Impact of Stress on the Menstrual Cycle. *The Eleanor Mann School of Nursing Undergraduate Honors Theses*. 2020. URL: <https://scholarworks.uark.edu/nursuht/102>
24. Leach S., Suzuki K. Adrenergic Signaling in Circadian Control of Immunity. *Frontiers in Immunology*. 2020. №11. 1235. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01235>
25. Leistner C., Menke A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress. *Handbook of Clinical Neurology*. 2020. №175. P. 55–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64123-6.00004-7>
26. Gorain B., Dutta S., Nandy U., et al. Pharmacology of Adrenaline, Noradrenaline, and Their Receptors. *Frontiers in Pharmacology of Neurotransmitters*. 2020. P. 107–142. URL: https://doi.org/10.1007/978-981-15-3556-7_4
27. Sluga N., Križančić Bombek L., Kerčmar J., et al. Physiological levels of adrenaline fail to stop pancreatic beta cell activity at unphysiologically high glucose levels. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 1013697. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1013697>
28. Theodoraki K., Hadzilia S., Valsamidis D., et al. Prevention of hypotension during elective cesarean section with a fixed-rate norepinephrine infusion versus a fixed-rate phenylephrine infusion. A double-blinded randomized controlled trial. *International Journal of Surgery*. 2020. №84. P. 41–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2020.10.006>
29. Murala S., Bollu P. C. Norepinephrine. *Neurochemistry in Clinical Practice*. 2022. P. 165–179. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-07897-2_9
30. Narayan R., Beran B. D. Abnormal Uterine Bleeding. *Sex- and Gender-Based Women's Health*. 2020. P.99–116. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-50695-7_7
31. Matthey Z. A., Fields A. T., Nunez-Garcia B., et al. Importance of catecholamine signaling in the development of platelet exhaustion after traumatic injury. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2022. №20 (9). P. 2109–2118. DOI: <https://doi.org/10.1111/jth.15763>
32. Azadi N., Boroujeni N. B., Hormozi M., et al. Effect of progesterone administration on tissue mast cell population and histamine content in mice uterus after ovulation induction. *JBRA Assisted Reproduction*. 2023. №27 (3). P. 436–441. DOI: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20230004>
33. Sezgin Y., Ahmedali A. A comparison of pain scores in dysmenorrheic patients with or without dyspeptic symptoms. *Cureus*. 2021. №13 (4). P. e14437. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.14437>
34. Mika K., Szafarz M., Bednarski M., et al. Metabolic benefits of novel histamine H3 receptor ligands in the model of excessive eating: The importance of intrinsic activity and pharmacokinetic properties. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021. №142. P. 111952. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111952>
23. Gilbrech K. I. The Impact of Stress on the Menstrual Cycle. *The Eleanor Mann School of Nursing Undergraduate Honors Theses*. 2020. URL: <https://scholarworks.uark.edu/nursuht/102>
24. Leach S., Suzuki K. Adrenergic Signaling in Circadian Control of Immunity. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:1235. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01235>
25. Leistner C., Menke A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress. *Handbook of Clinical Neurology*. 2020;175:55–64. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64123-6.00004-7>
26. Gorain B., Dutta S., Nandy U., Sengupta P., Choudhury H. Pharmacology of Adrenaline, Noradrenaline, and Their Receptors. *Frontiers in Pharmacology of Neurotransmitters*. 2020;107–42. URL: https://doi.org/10.1007/978-981-15-3556-7_4
27. Sluga N., Križančić Bombek L., Kerčmar J., Sarikas S., Postić S., Pfabe J., et al. Physiological levels of adrenaline fail to stop pancreatic beta cell activity at unphysiologically high glucose levels. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:1013697. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1013697>
28. Theodoraki K., Hadzilia S., Valsamidis D., Stamatakis E. Prevention of hypotension during elective cesarean section with a fixed-rate norepinephrine infusion versus a fixed-rate phenylephrine infusion. A double-blinded randomized controlled trial. *International Journal of Surgery*. 2020;84:41–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2020.10.006>
29. Murala S., Bollu P. C. Norepinephrine. *Neurochemistry in Clinical Practice*. 2022:165–79. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-07897-2_9
30. Narayan R., Beran BD. Abnormal Uterine Bleeding. *Sex- and Gender-Based Women's Health*. 2020:99–116. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-50695-7_7
31. Matthey ZA, Fields AT, Nunez-Garcia B, Park JJ, Jones C, Leligdowicz A, et al. Importance of catecholamine signaling in the development of platelet exhaustion after traumatic injury. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2022;20(9):2109–18. DOI: <https://doi.org/10.1111/jth.15763>
32. Azadi N, Boroujeni NB, Hormozi M, Narimani L, Tavafi M, Anbari K, et al. Effect of progesterone administration on tissue mast cell population and histamine content in mice uterus after ovulation induction. *JBRA Assisted Reproduction*. 2023;27(3):436–41. DOI: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20230004>
33. Sezgin Y, Ahmedali A. A comparison of pain scores in dysmenorrheic patients with or without dyspeptic symptoms. *Cureus*. 2021;13(4):e14437. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.14437>
34. Mika K, Szafarz M, Bednarski M, Kuder K, Szczepańska K, Pocięcha K, et al. Metabolic benefits of novel histamine H3 receptor ligands in the model of excessive eating: The importance of intrinsic activity and pharmacokinetic properties. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;142:111952. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111952>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Перш за все, дослідження виконане в одному центрі і на відносно обмеженій вибірці пацієнток, із нерівномірним розподілом на групи за індексом маси тіла, зокрема невеликою чисельністю дівчат із дефіцитом маси тіла. Це могло вплинути на статистичну точність порівнянь та стійкість побудованої математичної моделі. По-друге, поперечний дизайн дослідження не дає змоги встановити причинно-наслідкові взаємозв'язки між рівнями катехоламінів, серотоніну, гістаміну та формуванням аномальних маткових кровотеч, а лише виявити асоціативні залежності, які лягли в основу зроблених висновків.

Незважаючи на зазначені обмеження, отримані результати та розроблена математична модель дозволяють поглибити уявлення про роль нейротрансмітерних механізмів у патогенезі аномальних маткових кровотеч у підлітків із різним індексом маси тіла та можуть слугувати основою для подальших проспективних, багатоцентрових і динамічних досліджень.

Перспективи подальших досліджень

У результаті проведених досліджень і аналізу виявлених порушень визначені особливості реакцій на стресові ситуації

Limitations of the study

The authors of the manuscript consciously acknowledge that the presented study has limitations due to its design and implementation. First, the study was conducted at a single center and involved a relatively limited sample of patients, with an uneven distribution into groups according to body mass index, particularly a small number of girls with body weight deficiency. This could have affected the statistical accuracy of comparisons and the robustness of the developed mathematical model. Second, the cross-sectional design of the study does not allow us to establish cause-and-effect relationships between the levels of catecholamines, serotonin, histamine and the formation of abnormal uterine bleeding, but only to identify associative dependencies that formed the basis of the conclusions drawn. Despite the above limitations, the obtained results and the developed mathematical model contribute to a deeper understanding of the role of neurotransmitter mechanisms in the pathogenesis of abnormal uterine bleeding in adolescents with different body mass indices and may serve as a basis for further prospective, multicenter, and longitudinal studies.

Prospects for further research

As a result of the research and analysis of the identified violations, the peculiarities of reactions to stressful situations in girls with

у дівчат з надлишковою масою тіла і ожирінням, які потребують подальшого вивчення.

overweight and obesity, which require further study, have been determined

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Дослідження схвалене Комісією з питань етики та біоетики Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» (витяг з протоколу № 8 від 05 грудня 2022 р.). Пацієнти або їх батьки надали письмову поінформовану згоду на участь у цьому дослідженні

Ethics statement

The authors of the manuscript explicitly confirm that the study was conducted using data from primary medical records. The research was carried out in accordance with the ethical standards of the World Medical Association's Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research involving human subjects, the Directive 86/609/EEC of the European Society on the participation of humans in biomedical research, as well as Order № 690 of the Ministry of Health of Ukraine dated September 23, 2009. The study was approved by the Ethics and Bioethics Committee of the State Institution «Institute of Child and Adolescent Health of the National Academy of Medical Sciences» (Extract from protocol № 8 dated December 5, 2022). Patients or their parents provided written informed consent to participate in this study.

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту (ШІ) для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors certify that no generative artificial intelligence (AI) tools or services were used in the course of conducting this research or preparing the manuscript for any of the tasks listed in the Generative AI Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work from conceptualization to final editing were carried out exclusively by the authors without the involvement of generative AI.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that the results of their own clinical studies were used in this work. They were systematized and analyzed by the authors. The primary data include generalized patient indicators, laboratory results, protocols and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the archive of the research group and can be provided upon a reasonable request to the corresponding author, taking into account the requirements of confidentiality and ethical norms.

Інформація про фінансування

Робота виконана в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України» «Вивчити механізми формування коморбідної патології у дівчат-підлітків з порушеннями менструальної функції (первинною олігоменореєю) і аномальними матковими кровотечами», номер державної реєстрації: 0121U114425, прикладна, термін виконання: 2022–2023 рр., керівник – заступниця директора з наукової роботи, доктор медичних наук В.О. Динник.

Funding information

The work was carried out as part of the budget funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine under the research plan of the State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» «To study the mechanisms of comorbid pathology formation in adolescent girls with menstrual disorders (primary oligomenorrhea) and abnormal uterine bleeding», state registration number: 0121U114425, applied, deadline: 2022–2023, head – Deputy Director for Research, Doctor of Medical Sciences V.O. Dynnik.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Динник Вікторія Олександрівна – доктор медичних наук, заступниця директора з наукової роботи Державної установи «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків Національної академії медичних наук України»; просп. Ювілейний, буд. 52-А, м. Харків, Україна, 61153;

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Dynnik Victoria Oleksandrivna – Doctor of Medical Sciences, Deputy Director for Research of the State Institution «Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; 52A Yuvileinyi Ave., Kharkiv, Ukraine, 61153;

е-mail: viktoriadynnik@gmail.com

моб.: +38 (050) 973-63-61

Внесок автора: статистичний аналіз даних, вивчення літератури, аналіз літературних джерел, концепція та дизайн дослідження, написання тексту, редагування україномовного варіанта статті.

Диннік Олександра Олексіївна – кандидат медичних наук, асистентка кафедри акушерства, гінекології та репродуктології Національного технічного університету «Харківський політехнічний інститут» Міністерства освіти і науки України; вул. Кирпичова, буд. 2, м. Харків, Україна, 61002;

е-mail: dynunja15@gmail.com

моб.: +38 (050) 593-85-42

Внесок автора: збір і обробка матеріалу, комп'ютерна морфометрія, аналіз літературних джерел, написання тексту, обговорення отриманих результатів, редагування англomовного варіанта статті.

е-mail: viktoriadynnik@gmail.com

tel.: +38 (050) 973-63-61

Author's contribution: statistical analysis, study of literature, analysis of literary sources, concept and design of the study, writing of the text, editing of the Ukrainian versions of the article.

Dynnik Oleksandra Oleksiivna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine of the National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute» of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 2, Kyrpychova str., Kharkiv, Ukraine, 61002;

е-mail: dynunja15@gmail.com

tel.: +38 (050) 593-85-42

Author's contribution: data collection and processing, computer morphometry, analysis of literary sources, writing of the text, discussion of results, editing of the English versions of the article.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
28.06.2025

Отримано після рецензування
Received after review
14.08.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-12>
УДК: 616.127-005.8-036.1:616.12-005.4-06-07:577.112



Прогностичне значення щоденної динаміки тропоніну-T при гострому інфаркті міокарда: аналіз із використанням змішаних моделей

Кіпоть А.О.^{1,2}, <https://orcid.org/0009-0003-4792-2133>, e-mail: kipot.md@gmail.com
Колесник Т.В.², <https://orcid.org/0000-0002-6571-3904>, e-mail: dr.tvkolesnik@gmail.com

¹Державне некомерційне підприємство

«Інститут серця Міністерства охорони здоров'я України», Київ, Україна

²Дніпровський державний медичний університет

Міністерства охорони здоров'я України, Дніпро, Україна

Prognostic value of day-by-day troponin-T dynamics in acute myocardial infarction: a mixed-effects model analysis

Kipot A.O.^{1,2}, <https://orcid.org/0009-0003-4792-2133>, e-mail: kipot.md@gmail.com
Kolesnyk T.V.², <https://orcid.org/0000-0002-6571-3904>, e-mail: dr.tvkolesnik@gmail.com

¹State Non-Commercial Enterprise

«Heart Institute of the Ministry of Health of Ukraine», Kyiv, Ukraine

²Dnipro State Medical University

of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Ключові слова:

тропонін, гострий інфаркт міокарда, реперфузія, фракція викиду, серцевий індекс, ішемічна хвороба серця.

Для кореспонденції:

Кіпоть Артем Олегович

Державне некомерційне підприємство «Інститут серця Міністерства охорони здоров'я України», відділення гострого коронарного синдрому та інфаркту міокарда;

вул. Братиславська, буд. 5-А, м. Київ, Україна, 02166;

e-mail: kipot.md@gmail.com

© Кіпоть А.О., Колесник Т.В., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Побудова щодобової траєкторії високочутливого тропоніну Т (hs-cTnT) у пацієнтів під час гострого періоду інфаркту міокарда (ГІМ) потенційно краще відображає розмір некрозу та успішність реперфузії, ніж поодинокі вимірювання; однак зв'язок із госпітальними наслідками залишається недостатньо вивченим.

Мета роботи – оцінити взаємозв'язок між добовими траєкторіями hs-cTnT, часом досягнення піку та клінічними наслідками госпітального періоду у пацієнтів з ГІМ.

Матеріали та методи. Одноцентрове когортне клінічне дослідження. У дослідження включені пацієнти з ГІМ (n=191), у яких рівні hs-cTnT вимірювалися кожні 24 години протягом стаціонарного лікування. Випадки без ознак некрозу міокарда не включалися. Реперфузійною стратегією для всієї когорти без винятків було раннє (до 1 години від моменту госпіталізації) черезшкірне коронарне втручання (ЧКВ). Визначення hs-cTnT виконували на аналізаторі Roche Elecsys s100 (високочутливий тест hs-cTnT). Значення, що перевищували верхню межу вимірювання тесту (26 нг/мл), враховувалися як максимально можливі (26 нг/мл) у статистичному аналізі. Для аналізу траєкторій hs-cTnT використовували змішані лінійні моделі (випадковий інтерцепт пацієнта) з фіксованими ефектами «час від індивідуального піку (день 1)», «бінарна подія» (внутрішньолікарняна смерть, інвазивна штучна вентиляція легень, зниження фракції викиду лівого шлуночка, зниження серцевого індексу, багатосудинні ураження) та «часхподія». Окремі моделі побудовано для кожної клінічної події. Вторинно аналізували групи за днем піку (1/2/3/4; підмножина n=154) і тертилі Δhs-cTnT (різниця між піковим рівнем та мінімальним після піковим до виписки). Програмне забезпечення – R, версія 4.4.2.

Результати. Середній вік пацієнтів за медіаною становив 64,0 (55,0; 71,0) роки. Більшість досліджуваних – чоловіки (83,2%). Багатосудинні ураження коронарних артерій зареєстровано у 64,4% випадків. Упродовж госпітального періоду концентрація hs-cTnT достовірно знижувалася з кожною добою ($\beta = -1,24$; SE 0,10; $t = -12,32$; $p < 0,001$). Водночас у пацієнтів, які померли, цей спад був помітно повільнішим (взаємодія часхсмерть: $\beta = +1,23$; SE 0,34; $t = 3,68$; $p < 0,001$). Для інших подій таких як інвазивна ШВЛ, зниження фракції викиду, серцевого індексу або наявність множинних судинних уражень, темп зниження тропоніну демонструє тенденції, які необхідно верифікувати. Пік hs-cTnT найчастіше спостерігався на 2-гу добу (59,1%). Пацієнти, у яких пік припадав на 1-шу або 3-тю добу, мали тенденцію до поступового зниження швидкості клубочкової фільтрації, що може свідчити про супутнє погіршення перфузії нирок. Аналіз за тертилями Δhs-cTnT показав, що нижчі значення цього показника

супроводжувалися довшим строком госпіталізації, тяжчими стадіями кардіогенного шоку (за класифікацією SCAI) та нижчою кінцевою фракцією викиду ($p=0,02$). Отже, зважаючи на тенденції взаємодій із більшістю клінічних подій, саме характер поведінки після пікової динаміки hs-cTnT виявився ключовим. Повільне зниження тропоніну після піку було пов'язане з летальністю, тоді як швидкий спад корелював зі стабільними показниками фракції викиду та серцевого індексу.

Висновки. У пацієнтів з гострим інфарктом міокарда повільніший спад hs-cTnT після піку асоціюється з підвищенням ризику внутрішньолікарняної смерті, тоді як швидкий спад корелює зі сприятливою гемодинамікою. Час до максимального піку підйому та тертили Δ hs-cTnT можна розглядати як потенційні маркери ризику, які потребують подальшої валідації у більших когортних дослідженнях.

Для цитування:

Кіпоть А.О., Колесник Т.В. Прогностичне значення щоденної динаміки тропоніну-Т при гострому інфаркті міокарда: аналіз із використанням змішаних моделей. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33 № 5(56). С. 840–856. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-12>

Keywords:

troponin, acute myocardial infarction, reperfusion, ejection fraction, cardiac index, ischemic heart disease.

For correspondence:

Kipot Artem Olehovich
State Non-Commercial Enterprise
«Heart Institute of the Ministry of Health
of Ukraine», Department of Acute
Coronary Syndrome and Myocardial
Infarction;
5-A Bratyslavskaya Str., Kyiv, Ukraine,
02166;
e-mail: kipot.md@gmail.com

© Kipot A.O., Kolesnyk T.V., 2025

ABSTRACT

Background. Modeling daily trajectories of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) in patients during the acute phase of myocardial infarction (MI) may better reflect infarct size and reperfusion success than single-point measurements. However, its association with in-hospital outcomes remains insufficiently explored.

Purpose – To evaluate the relationship between daily hs-cTnT trajectories, time-to-peak, and clinical outcomes during the hospital phase in patients with acute MI.

Materials and Methods. This single-center study included patients with acute myocardial infarction (AMI, $n = 191$), in whom high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) levels were measured every 24 hours during hospitalization. Cases without biochemical evidence of myocardial necrosis were not included. The reperfusion strategy for the entire cohort was uniform: early percutaneous coronary intervention performed within 1 hour from hospital admission. Measurements were performed using the Roche Elecsys s100 analyzer (high-sensitivity hs-cTnT assay). Values exceeding the upper measurement limit of the test (26 ng/ml) were treated as the maximal measurable value (26 ng/ml) for statistical analysis. Trajectory analysis was performed using linear mixed-effects models with a random intercept for each patient and fixed effects for «time since individual peak (day 1)», «binary event» (in-hospital death, invasive mechanical ventilation, reduced left-ventricular ejection fraction, reduced cardiac index, multivessel disease), and the interaction «time × event». Separate models were fitted for each clinical event. Secondary analyses included grouping by day of peak (1/2/3/4; subset $n = 154$) and tertiles of Δ hs-cTnT (difference between peak and lowest post-peak value before discharge). All analyses were conducted in R version 4.4.2.

Results. The median age of patients was 64.0 (55.0–71.0) years; most were men (83.2%), and multivessel coronary disease was present in 64.4%. During hospitalization, hs-cTnT concentrations significantly decreased over time ($\beta = -1.24$; SE 0.10; $t = -12.32$; $p < 0.001$). However, the decline was markedly slower in patients who died (time × death interaction: $\beta = +1.23$; SE 0.34; $t = 3.68$; $p < 0.001$). In other events – including invasive mechanical ventilation, reduced ejection fraction, decreased cardiac index, or multivessel disease – the rate of troponin decrease demonstrated patterns that should be confirmed in future studies. The troponin peak most commonly occurred on the 2nd day (59.1%). Patients whose peak occurred on the 1st or 3rd day tended to show a gradual decline in glomerular filtration rate (eGFR), possibly reflecting concomitant impairment of renal perfusion. Analysis by Δ hs-cTnT tertiles showed that lower Δ hs-cTnT values were associated with longer hospital stays, more advanced stages of cardiogenic shock (according to the SCAI classification), and lower final left-ventricular ejection fraction ($p=0.02$). Therefore, considering the interaction trends with most clinical events, the pattern of post-peak hs-cTnT dynamics proved decisive. A slower post-peak troponin decline was associated with higher in-hospital mortality, whereas a faster decline was associated with more stable left-ventricular ejection fraction and cardiac index.

Conclusions. Among patients with acute myocardial infarction, a slower post-peak decline in hs-cTnT was associated with an increased risk of in-hospital mortality, while a faster decline was associated with more favorable hemodynamic profiles. Time-to-peak and Δ hs-cTnT tertiles may serve as potential risk markers and warrant further validation in larger cohort studies.

For citation:

Kipot AO, Kolesnyk TV. Prognostic value of day-by-day troponin-T dynamics in acute myocardial infarction: a mixed-effects model analysis. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)): 840-856. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-12>

ВСТУП

Гострий інфаркт міокарда залишається провідною причиною смертності та інвалідизації у світі, незважаючи на істотний прогрес у реперфузійній терапії та вторинній профілактиці [1–8]. За даними сучасних європейських та американських реєстрів, частота ускладнень і летальність після інфаркту міокарда з елевациєю сегмента ST суттєво знизилися, однак прогноз у значної частини пацієнтів залишається несприятливим [1–9]. Одним із ключових напрямків сучасної кардіології є точна стратифікація ризику та своєчасне виявлення пацієнтів, у яких очікується зниження фракції викиду (ФВ) лівого шлуночка, розвиток серцевої недостатності або повторні ішемічні події. У цьому контексті особливу роль відіграють біомаркери ушкодження міокарда, зокрема серцеві тропоніни високої чутливості, які є золотим стандартом діагностики інфаркту міокарда [4–8, 10–12].

У клінічній практиці зазвичай використовують окремий показник – пікове значення тропоніну Т для оцінки обсягу некрозу та прогнозу наслідків [9–14]. Однак численні дослідження останніх років демонструють, що динамічні траєкторії тропоніну можуть не лише точніше відобразити ступінь пошкодження міокарда, а й частково відображати ефективність реперфузії, порушення мікроциркуляції та швидкість відновлення кровопостачання [13–17]. Разом із тим, більшість досліджень спираються на поодинокі або обмежені вимірювання, тоді як щоденні серійні визначення тропоніну залишаються недостатньо вивченими. Як саме характер спаду тропоніну після його піку пов'язаний із показниками гемодинаміки, фракцією викиду, серцевим індексом (CI) та загальними клінічними наслідками, досі не має однозначної відповіді [9, 17].

Ішемічна хвороба серця в гострих проявах є неоднорідною: навіть за умов успішної реперфузії результати можуть істотно відрізнятися. Це зумовлено різним ступенем ушкодження міокарда, порушеннями мікроциркуляції та індивідуальною реакцією організму на ішемічно-реперфузійне ушкодження [9, 13–17]. Тому виявлення патернів подовгової динаміки тропоніну Т може дати додаткову інформацію для розуміння патофізіології гострого інфаркту міокарда та розкриття механізмів, що зумовлюють несприятливий перебіг, зокрема зниження насосної функції серця.

Новизна нашого дослідження полягає в тому, що ми застосували статистичні методи, які дозволяють враховувати індивідуальні відмінності та повторні вимірювання протягом госпітального періоду, моделі зі змішаними ефектами. Це дозволило оцінити не лише абсолютні рівні тропоніну, а й швидкість після пікового спаду як потенційний маркер успішності реперфузії та клінічного прогнозу.

Мета роботи – оцінити асоціацію між індивідуально вирівняними за піком (день 1) траєкторіями тропоніну Т та госпітальними клінічними наслідками у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда, а також дослідити прогностичну цінність часу до піку і після пікової різниці тропоніну Т (тертили Δ) щодо показників функції лівого шлуночка та серцевого індексу.

INTRODUCTION

Acute myocardial infarction remains a major cause of death and long-term disability worldwide, even with ongoing progress in reperfusion therapy and secondary prevention [1–8]. Recent European and U.S. registry data show lower complication rates and mortality after ST-segment elevation myocardial infarction, yet a substantial subgroup of patients still experiences poor outcomes [1–9]. A key goal of modern cardiology is accurate risk stratification and early identification of patients at risk of reduced left ventricular ejection fraction, heart failure, or recurrent ischemic events. In this context, biomarkers of myocardial injury are particularly important, especially high-sensitivity cardiac troponins, which are considered the diagnostic gold standard for myocardial infarction [4–8, 10–12].

In routine clinical practice, a single measure, the peak troponin T value, is commonly used to estimate infarct size and predict outcomes [9–14]. However, many recent studies suggest that troponin trajectories over time may not only reflect the extent of myocardial injury more accurately, but may also, at least partly, capture reperfusion effectiveness, microvascular dysfunction, and the speed of perfusion recovery [13–17]. Nevertheless, most previous works have focused on single or limited measurements, whereas daily serial assessments remain insufficiently explored. The question of how the pattern of post-peak troponin decline relates to hemodynamic parameters, left-ventricular ejection fraction, cardiac index (CI), and overall clinical outcomes still lacks a clear answer [9, 17].

Ischemic heart disease in its acute forms is heterogeneous, and even after successful primary reperfusion, outcomes vary considerably depending on the degree of myocardial injury, presence of microvascular dysfunction, and systemic response to ischemia-reperfusion damage [9, 13–17]. Therefore, identifying patterns of daily troponin T dynamics may provide additional insights into the pathophysiology of acute myocardial infarction and clarify mechanisms underlying adverse in-hospital courses, including deterioration of cardiac pump function.

The novelty of our study lies in the application of statistical approaches capable of accounting for individual variability and repeated in-hospital measurements, specifically mixed-effects modeling. This approach allowed us to evaluate not only absolute troponin levels but also the rate of post-peak decline as a potential marker of reperfusion success and clinical prognosis.

Objective – to assess the association between individually peak-aligned (day 1) troponin T trajectories and in-hospital clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction, and to evaluate the prognostic value of time-to-peak and post-peak troponin T difference (Δ -tertiles) in relation to left-ventricular function and cardiac index.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В одноцентрове когортне клінічне дослідження було включено 191 пацієнт із гострим інфарктом міокарда (з підйомом ST або без підйому ST) на госпітальному етапі лікування в кардіоцентрі, в яких було щонайменше 3 і не більше 10 серійних вимірювань тропоніну Т з інтервалом 24 години. Перше доступне значення тропоніну Т обов'язково мало перевищувати референтну межу для встановлення діагнозу гострого інфаркту міокарда. Записи, що не відповідали цим критеріям, виключали. Усі хворі з підозрою на гострий коронарний синдром, незалежно від ЕКГ патерну STEMI/non-STEMI, отримували однакоvu реперфузійну стратегію, а саме раннє черезшкірне коронарне втручання на інфаркт-залежній артерії, яке виконували протягом однієї години від моменту госпіталізації. Тромболізис, як первинний метод реперфузії, а також відтерміновані планові втручання на етапі гострої події, не застосовувалися. Хворих з рівнем hs-cTnT на момент госпіталізації менше ніж 0,3 нг/мл виключали з аналізу. Таким чином, пацієнти з ЕКГ патерном як з елевацією ST, так і без елевації ST, лікувалися за однотипним інвазивним протоколом. Це дозволило свідомо відмовитися від поділу за ЕКГ і розглядати їх у межах єдиної когорти для аналізу некрозу міокарда та пошуку потенційного прогностичного маркера за ступенем некрозу.

Експозиції та кінцеві точки. Первинна експозиція: траєкторія тропоніну Т, вирівняна за індивідуальним піком (день 1). Вторинні експозиції: (I) день піку (1/2/3/4); (II) Δ тропоніну Т = «піковий рівень – мінімальний післяпіковий рівень до виписки», категоризована за тертилями. Первинні бінарні події: внутрішньолікарняна смерть, потреба в інвазивній штучній вентиляції легень, зниження фракції викиду лівого шлуночка, зниження серцевого індексу, багатосудинне ураження за даними коронарографії.

Критерії включення: вік ≥ 18 років; гострий інфаркт міокарда (з підйомом ST або без підйому ST), підтверджений клініко-лабораторно-інструментально; наявні ≥ 3 і ≤ 10 серійних вимірів тропоніну Т з інтервалом 24 год. під час госпіталізації, перше значення hs-cTnT на момент госпіталізації не менше ніж 0,3 нг/мл.

Критерії виключення: аортокоронарне шунтування < 30 днів до індексної події; діагностований міокардит; відсутність мінімально необхідних 3-х серій тропоніну Т.

Статистичний аналіз. Перед аналізом перевіряли характер розподілу кількісних даних за тестом Шапіро–Уїлка; з огляду на непараметричність основних показників описували їх як медіану (Q1; Q3). Міжгрупові порівняння: для незалежних вибірок – критерій Краскела–Уолліса, для пов'язаних вибірок – критерій Вілкоксона; для категоріальних змінних – абсолютні значення і частки n (%), χ^2 Пірсона; для парних бінарних – критерій Мак-Немара; для категорій з ≥ 3 рівнями – критерій Стюарта–Максвелла. Аналіз траєкторій: змішані лінійні моделі (lme4) з випадковим інтерсептом пацієнта; фіксовані ефекти: час від індивідуального піку (день 1), група, взаємодія час $\times$ група; значущість інтерпретували за t -статистиками ($\approx |t| > 1,96 \rightarrow p < 0,05$). Δ hs-cTnT визначали як піковий

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

This single-center cohort clinical study included 191 patients with acute myocardial infarction (with or without ST-segment elevation) during the in-hospital phase of treatment at a cardiac center, in whom at least 3 and no more than 10 serial measurements of cardiac troponin T were obtained at 24-hour intervals. The first available troponin T value was required to exceed the upper reference limit to establish the diagnosis of acute myocardial infarction. Records that did not meet these criteria were excluded. All patients with suspected acute coronary syndrome, regardless of ECG pattern (STEMI/non-STEMI), underwent the same reperfusion strategy, namely early percutaneous coronary intervention (PCI) of the infarct-related artery performed within 1 hour of hospital admission. Thrombolysis as a primary reperfusion method and delayed elective interventions during the acute phase were not used. Patients with an hs-cTnT level at the time of admission below 0.3 ng/mL were excluded from the analysis. Thus, patients with ECG patterns both with and without ST-segment elevation were treated according to a uniform invasive protocol, which allowed us to deliberately abandon ECG-based stratification and to consider them as a single cohort for the analysis of myocardial necrosis and for the search of a potential prognostic marker based on the extent of necrosis.

Exposures and endpoints. Primary exposure: troponin T trajectory aligned to the individual peak (day 1).

Secondary exposures: (I) day of peak (1/2/3/4); (II) Δ troponin T = «peak level – lowest post-peak level before discharge,» categorized into tertiles.

Primary binary outcomes: in-hospital death, need for invasive mechanical ventilation, reduced left-ventricular ejection fraction, reduced cardiac index, and multivessel coronary disease on angiography.

Inclusion criteria: Age ≥ 18 years; acute myocardial infarction (with or without ST-segment elevation) confirmed by clinical, laboratory, and instrumental findings; availability of ≥ 3 and ≤ 10 serial troponin T measurements at 24-hour intervals during hospitalization; first hs-cTnT value at admission of at least 0.3 ng/mL.

Exclusion criteria: Coronary artery bypass grafting within < 30 days before the index event; diagnosed myocarditis; fewer than three serial troponin T measurements.

Statistical analysis. The distribution of quantitative variables was assessed using the Shapiro–Wilk test. Owing to the predominantly non-parametric nature of the data, continuous variables were described as median (Q1; Q3). Between-group comparisons: for independent samples – the Kruskal–Wallis test; for paired samples – the Wilcoxon signed-rank test. Categorical variables were presented as absolute numbers and percentages n (%); differences were tested using Pearson's χ^2 test, McNemar's test for paired binary data, and the Stuart–Maxwell test for variables with ≥ 3 categories. Trajectory analysis was performed using linear mixed-effects models (package lme4) with a random intercept for each patient. Fixed effects included time since individual peak (day 1), group, and the interaction

мінус мінімальний постпіковий рівень до виписки, та формували тертилі. Пропуски – виключали (listwise deletion). Програмне забезпечення: R, версія 4.4.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria); пакети стандартної екосистеми (зокрема lme4).

time × group. Statistical significance was interpreted using t-statistics ($\approx |t| > 1.96 \rightarrow p < 0.05$). Δ hs-cTnT was defined as the peak minus the lowest post-peak level before discharge, and tertiles were formed accordingly. Missing data were handled by listwise deletion. All analyses were conducted in R (version 4.4.2; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) using standard ecosystem packages, including lme4.

РЕЗУЛЬТАТИ

Характеристика вибірки. До аналізу включено 191 пацієнта із гострим інфарктом міокарда (з підйомом ST або без підйому ST) на госпітальному етапі лікування. Середній вік за медіаною становив 64,0 (55,0–71,0) роки. Чоловіки склали 159 (83,2%) когорти дослідження, жінки – 32 (16,8%). На момент госпіталізації рівень систолічного АТ за медіаною становив 132,0 (116,0–144,5) мм рт. ст.; діастолічного – 79,0 (68,0–89,0) мм рт. ст. Нормотензія визначена у 128 (67,4%) пацієнтів; артеріальна гіпертензія (АГ) 1/2/3 ступеня – у 20,0%/8,4%/4,2% відповідно. Багатосудинне ураження встановлено у 123 (64,4%) досліджених. Інфаркт-залежна артерія: ПМШГ – 92 (48%), ПКА – 52 (27%), ОГ – 32 (17%), стовбур ЛКА (9) 5%. Штучна вентиляція легень (ШВЛ) застосовувалась у 32 (16,8%). За медіаною індекс маси тіла (ІМТ) визначено 29,4 (26,2–32,4) кг/м², тривалість госпіталізації в середньому склала 5,0 (3,0–8,0) днів. Госпітальна смертність – 12 (7,6%).

Первинний аналіз. Концентрація hs-cTnT зменшувалася з часом ($\beta = -1,24$ за добу; SE = 0,10; $t = -12,32$; $p < 0,001$). Взаємодія день×смерть була позитивною ($\beta = +1,23$; SE = 0,34; $t = 3,68$; $p < 0,001$), що відображає повільніший спад у пацієнтів, які померли, (рис. 1, табл. 1). Інші взаємодії демонстрували відповідні тенденції: День×ШВЛ ($t = 1,32$) (рис. 2, табл. 2); День×зниження ФВ ($t = 0,35$) (рис. 3, табл. 3); День×зниження CI ($t = 0,58$) (рис. 4, табл. 4), та день×багатосудинні ураження ($t = 0,26$) (рис. 5, табл. 5), (усі $p > 0,05$).

RESULTS

Baseline characteristics. A total of 191 patients with acute myocardial infarction (with or without ST-segment elevation) were included in the analysis during the in-hospital phase of treatment. The median age was 64.0 (55.0–71.0) years. Men accounted for 159 (83.2%) of the cohort and women for 32 (16.8%). At admission, the median systolic blood pressure was 132.0 (116.0–144.5) mm Hg, and the median diastolic pressure was 79.0 (68.0–89.0) mm Hg. Normotension was observed in 128 (67.4%) patients, while arterial hypertension of grades 1, 2, and 3 was recorded in 20.0%, 8.4%, and 4.2% of cases, respectively.

Multivessel coronary disease was present in 123 (64.4%) patients. The infarct-related artery was the left anterior descending artery in 92 (48%), the right coronary artery in 52 (27%), the circumflex artery in 32 (17%), and the left main coronary artery in 9 (5%). Mechanical ventilation was required in 32 (16.8%) patients. The median body mass index was 29.4 (26.2–32.4) kg/m². The median length of hospital stay was 5.0 (3.0–8.0) days. In-hospital mortality was 12 (7.6%).

Primary analysis. The concentration of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) decreased significantly over time ($\beta = -1.24$ per day; SE = 0.10; $t = -12.32$; $p < 0.001$). The time × death interaction was positive ($\beta = +1.23$; SE = 0.34; $t = 3.68$; $p < 0.001$), indicating a slower decline among patients who died (Figure 1, Table 1). Other time-interaction terms showed similar trends:

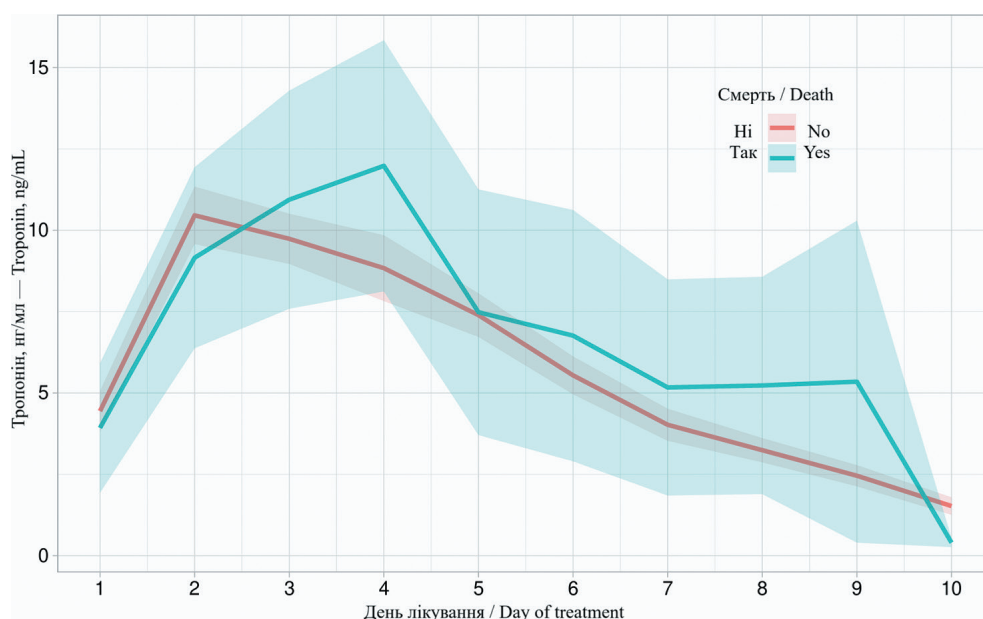


Рис. 1. Середні значення тропоніну в динаміці залежно від виживання пацієнтів протягом терміну спостереження
Fig. 1. Mean hs-cTnT values over time according to patient survival status during hospitalization

time $\times$ mechanical ventilation ($t = 1.32$; Figure 2, Table 2);
time $\times$ reduced ejection fraction ($t = 0.35$; Figure 3, Table 3);
time $\times$ reduced cardiac index ($t = 0.58$; Figure 4, Table 4);
and time $\times$ multivessel disease ($t = 0.26$; Figure 5, Table 5), all $p > 0.05$.

Таблиця 1. Результати лінійної моделі зі змішаними ефектами для дослідження асоціації динаміки тропоніну та виживання протягом терміну спостереження

Table 1. Results of the linear mixed-effects model examining the association between troponin dynamics and survival during hospitalization

Параметр Parameter	Коефіцієнт регресії (β) Regression coefficient (β)	Стандартна похибка Standard error (SE)	Значення t t-value
Інтерсепт / Intercept	10,57	0,64	16,64
Смерть (так/ні) / In-hospital death (yes/no)	-2,58	2,24	-1,15
День лікування / Day of hospitalization	-1,24	0,10	-12,32
Смерть (так/ні): День лікування (взаємодія) In-hospital death (yes/no): Day (interaction)	1,23	0,34	3,68

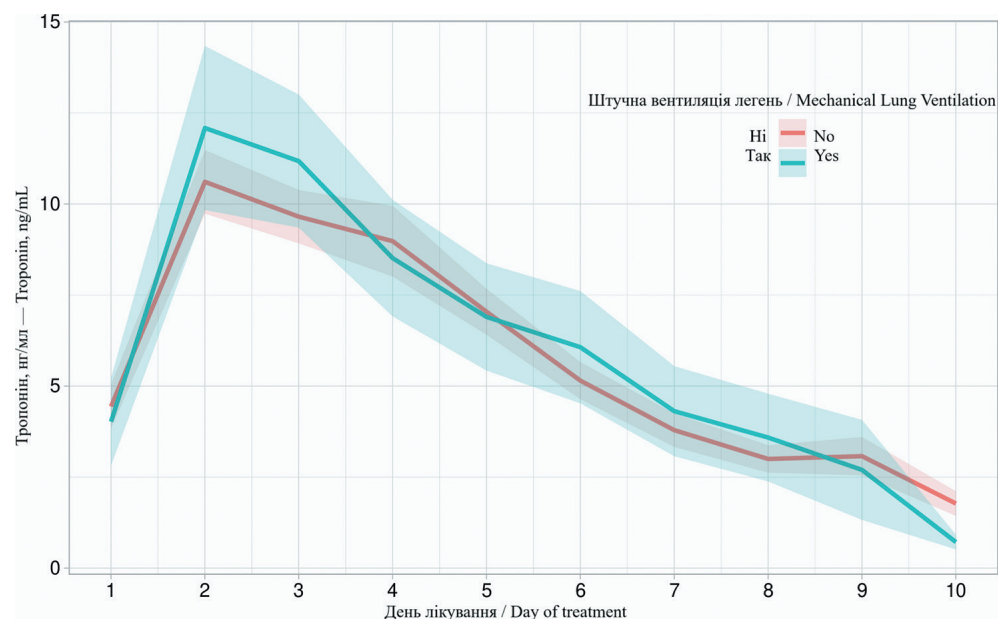


Рис. 2. Середні значення тропоніну в динаміці залежно від проведення ШВЛ протягом терміну спостереження
Fig. 2. Mean troponin values over time according to the use of mechanical ventilation during hospitalization

Таблиця 2. Результати лінійної моделі зі змішаними ефектами для дослідження асоціації динаміки тропоніну та проведення ШВЛ протягом терміну спостереження

Table 2. Results of the linear mixed-effects model examining the association between troponin dynamics and mechanical ventilation during hospitalization

Параметр Parameter	Коефіцієнт регресії (β) Regression coefficient (β)	Стандартна похибка Standard error (SE)	Значення t t-value
Інтерсепт / Intercept	10,55	0,62	17,08
ШВЛ (так/ні) / Mechanical Ventilation (yes/no)	0,43	1,44	0,30
День лікування / Day of hospitalization	-1,24	0,10	-11,88
ШВЛ (так/ні): День лікування (взаємодія) Mechanical Ventilation (yes/no): Day of treatment (interaction)	0,25	0,20	1,32

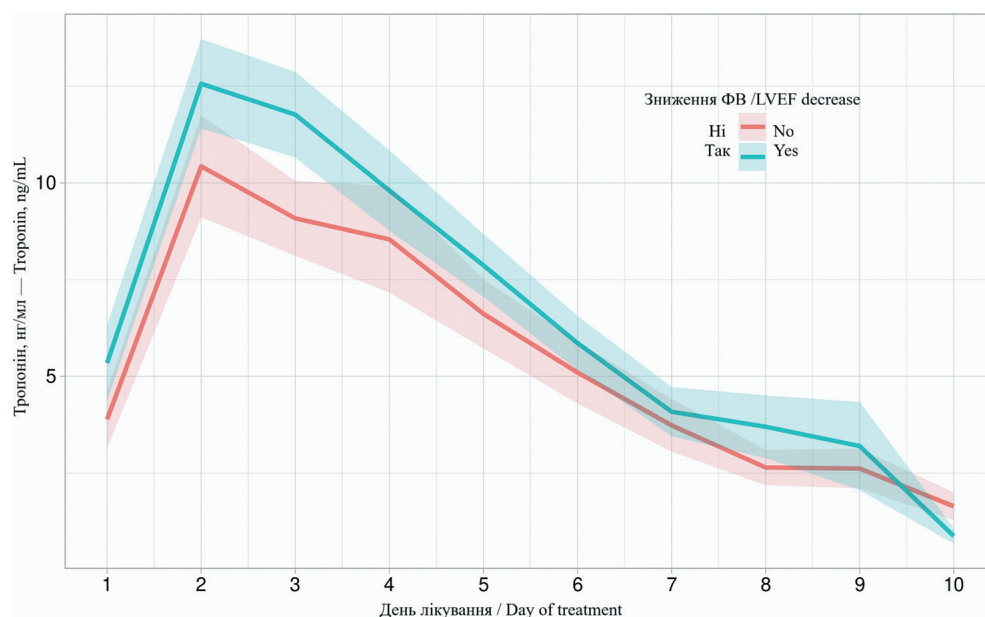


Рис. 3. Середні значення тропоніну в динаміці залежно від зниження ФВ протягом терміну спостереження
Fig. 3. Mean troponin values over time according to reduced ejection fraction during hospitalization

Примітка / Note: ФВ – фракція викиду лівого шлуночка / LVEF – left-ventricular ejection fraction.

Таблиця 3. Результати лінійної моделі зі змішаними ефектами для дослідження асоціації динаміки тропоніну та зниження ФВ протягом терміну спостереження
Table 3. Results of the linear mixed-effects model examining the association between troponin dynamics and reduced ejection fraction during hospitalization

Параметр Parameter	Коефіцієнт регресії (β) Regression coefficient (β)	Стандартна похибка Standard error (SE)	Значення t t-value
Інтерсепт / Intercept	10,16	0,80	12,67
Зниження ФВ (так/ні) / LVEF decrease (yes/no)	1,96	1,19	1,65
День лікування / Day of hospitalization	-1,17	0,13	-9,11
Зниження ФВ (так/ні): День лікування (взаємодія) LVEF decrease (yes/no): Day of hospitalization (interaction)	-0,07	0,19	0,35

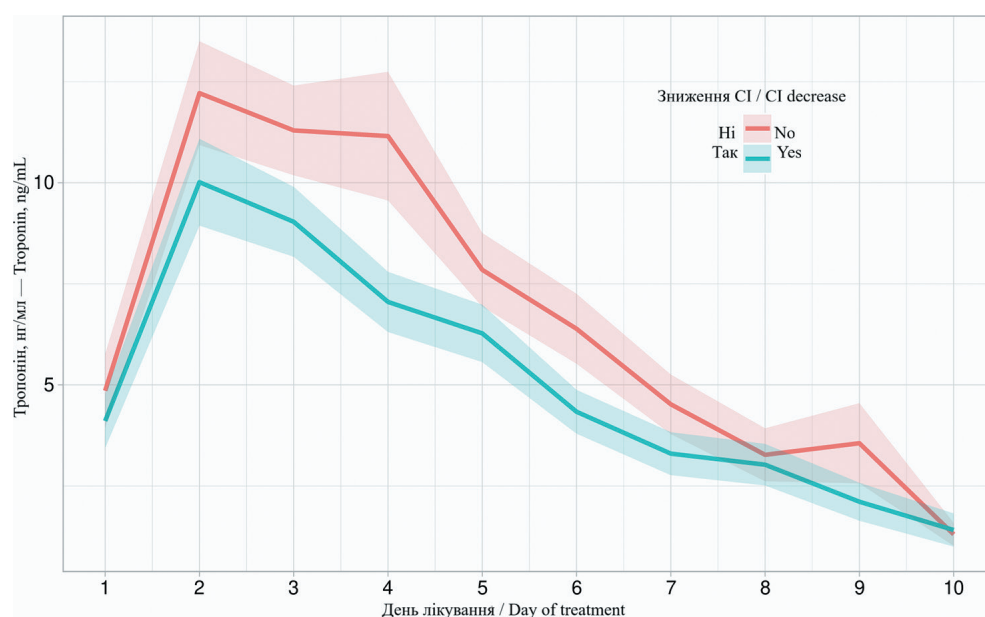


Рис. 4. Середні значення тропоніну в динаміці залежно від зниження CI протягом терміну спостереження
Fig. 4. Mean troponin values over time according to reduced cardiac index during hospitalization

Примітка / Note: CI – серцевий індекс / CI – cardiac index.

Таблиця 4. Результати лінійної моделі зі змішаними ефектами для дослідження асоціації динаміки тропоніну та зниження CI протягом терміну спостереження
Table 4. Results of the linear mixed-effects model examining the association between troponin dynamics and reduced cardiac index during hospitalization

Параметр Parameter	Коефіцієнт регресії (β) Regression coefficient (β)	Стандартна похибка Standard error (SE)	Значення t t-value
Інтерсепт / Intercept	12,13	0,85	14,32
Зниження CI (так/ні) / CI decrease (yes/no)	-2,60	1,12	-2,32
День лікування / Day of hospitalization	-1,23	0,13	-9,77
Зниження CI (так/ні):День лікування (взаємодія) CI decrease (yes/no): Day of treatment (interaction)	0,11	0,18	0,58

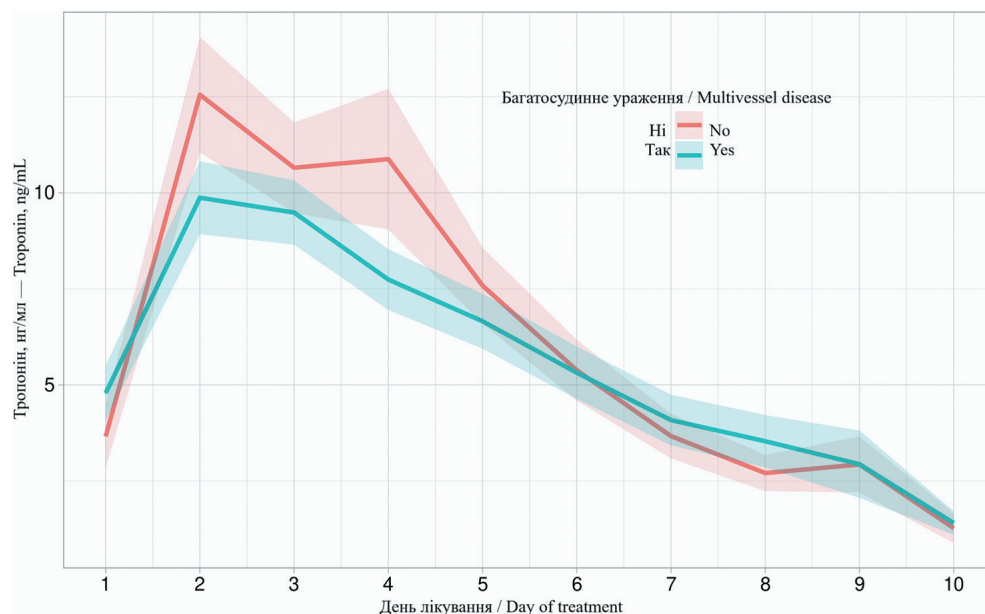


Рис. 5. Середні значення тропоніну в динаміці залежно від наявності багатосудинного ураження протягом терміну спостереження
Fig. 5. Mean troponin values over time according to the presence of multivessel coronary disease during hospitalization

Таблиця 5. Результати лінійної моделі зі змішаними ефектами для дослідження асоціації динаміки тропоніну та наявності багатосудинного ураження протягом терміну спостереження
Table 5. Results of the linear mixed-effects model examining the association between troponin dynamics and multivessel coronary disease during hospitalization

Параметр Parameter	Коефіцієнт регресії (β) Regression coefficient (β)	Стандартна похибка Standard error (SE)	Значення t t-value
Інтерсепт / Intercept	11,19	0,91	12,32
Багатосудинне ураження (так/ні) Multivessel disease (yes/no)	-1,02	1,15	-0,89
День лікування / Day of hospitalization	-1,20	0,14	-8,36
Багатосудинне ураження (так/ні):День лікування (взаємодія) Multivessel disease (yes/no): Day of treatment (interaction)	0,05	0,18	0,26

Вторинні аналізи: **(I) Час до піку** ($n = 154$). Пік hs-cTnT найчастіше припадав на 2-гу добу (91/154; 59,1%), далі – 3-тю (36/154; 23,4%), 1-шу (20/154; 13,0%) і 4-ту (7/154; 4,5%). У підгрупах з піком на 1-шу та 3-тю добу спостерігали зниження ШКФ у динаміці (обидва $p < 0,01$). Пацієнти з піком на 3-тю добу були старшими; також відзначено вищу частоту цукрового діабету 2-го типу ($p = 0,01$) і тенденцію до більшої частки багатосудинних уражень ($p = 0,05$). Деталі наведено в табл. 6 та рис. 6.

Secondary analyses: **(I) Time-to-peak** ($n = 154$). The troponin T peak most frequently occurred on day 2 (91/154; 59.1%), followed by day 3 (36/154; 23.4%), day 1 (20/154; 13.0%), and day 4 (7/154; 4.5%). In subgroups with peaks on days 1 and 3, a decline in estimated glomerular filtration rate (eGFR) over time was observed (both $p < 0.01$). Patients with a day 3 peak were older and showed a higher prevalence of type 2 diabetes ($p = 0.01$) and a trend toward more frequent multivessel coronary disease ($p = 0.05$). Details are presented in Table 6 and Figure 6.

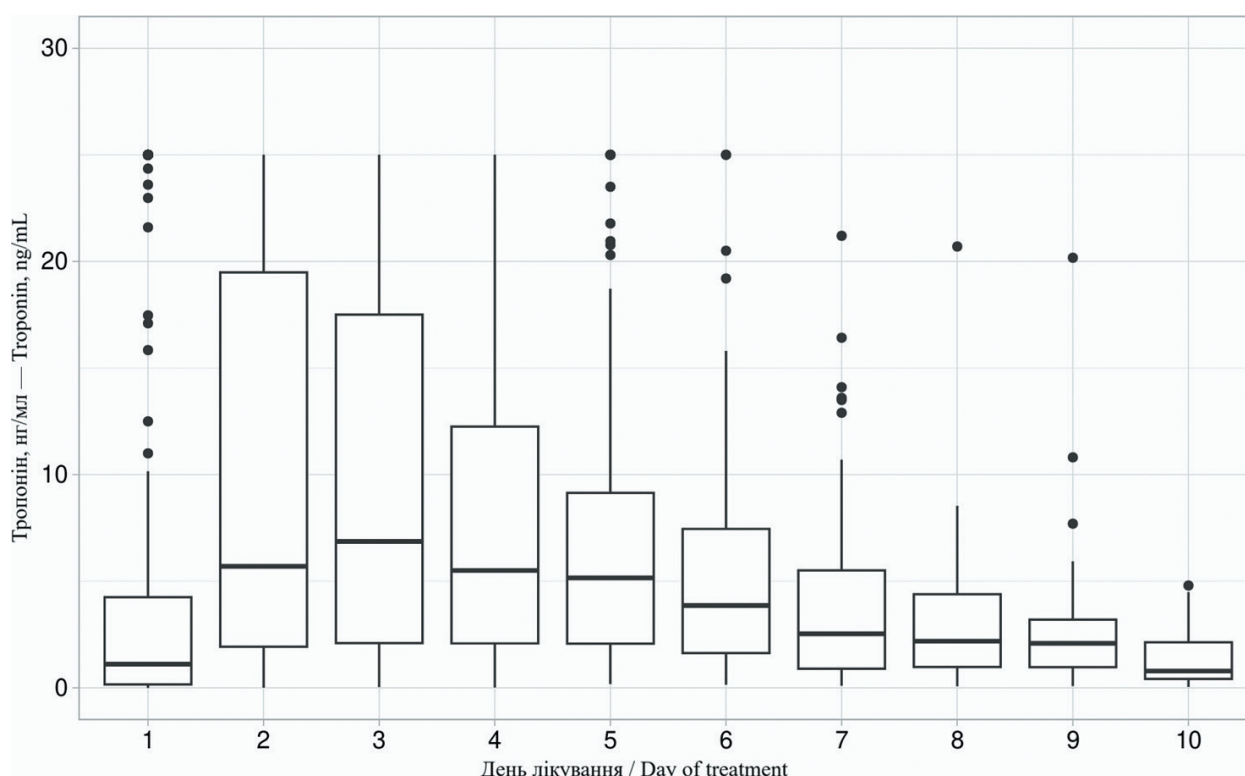


Рис. 6. Медіани рівня тропоніну у пацієнтів у дослідженні на кожний день госпітального лікування
Fig. 6. Median troponin levels in patients during each day of hospitalization

Таблиця 6. Характеристика коморбідності пацієнтів залежно від часу досягнення пікового рівня тропоніну
Table 6. Comorbidity characteristics of patients according to time-to-peak troponin

Параметр Parameter	Пацієнти у дослідженні Patients in the study (n=154)	Пік на день 1 Peak on day 1 (n=20)	Пік на день 2 Peak on day 2 (n=91)	Пік на день 3 Peak on day 3 (n=36)	Пік на день 4 Peak on day 4 (n=7)	Pval p-value
Вік, роки Age, years	63,5 (55,0;71,0)	60,5 (55,8;66,5)	62,0 (54,0;71,0)	68,0 (62,0;73,2)	69,0 (63,0;72,5)	0,02 0,98
ІМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²	29,7 (26,5;32,7)	29,9 (25,4;33,3)	29,5 (26,9;31,8)	29,1 (25,8;33,4)	31,1 (27,9;32,1)	
Тривалість госпіталізації, дні Length of hospital stay, days	5,0 (3,0; 8,0)	3,0 (2,0; 4,0)	6,0 (3,5; 9,0)	4,5 (3,0; 6,0)	7,0 (5,5; 8,0)	<0,01
Померли, n (%) Deceased, n (%)	10 (7,8)	0 (0,0)	5 (6,8)	3 (9,7)	2 (33,3)	0,07
ШКФ (початок) eGFR at admission	76,1 (59,5; 90,8)	67,5 (59,8; 85,8)	77,6 (63,4; 91,8)	77,6 (59,9; 89,5)	53,8 (31,6; 73,6)	0,24
ШКФ (завершення) eGFR at discharge	76,6 (56,7; 90,5)	78,0 (67,3; 90,5)*	81,1 (58,5; 93,2)	73,6 (54,9; 84,8)**	51,9 (25,4;63,1)	0,06
ЦД 2-го типу, n (%) Type 2 diabetes mellitus, n (%)	38 (24,7)	3 (15,0)	17 (18,7)	14 (38,9)	4 (57,1)	0,01
Багатосудинне ураження, n (%) Multivessel disease, n (%)	96 (62,3)	16 (80,0)	49 (53,8)	27 (75,0)	4 (57,1)	0,05

Примітки / Notes:

ШКФ (початок/завершення) – розрахована швидкість клубочкової фільтрації за формулою СКД-EPI (без расового коефіцієнта), одиниці мл/хв/1,73 м²; «початок» – перше доступне значення під час госпіталізації, «завершення» – останнє значення перед випискою або подією.

eGFR (start/end) – estimated glomerular filtration rate calculated using the CKD-EPI formula (without race coefficient), expressed in mL/min/1.73 m²; «start» – the first available value at admission; «end» – the last value before discharge or clinical event.

(II) Тертілі Δhs-cTnT. T1 – найнижчі Δ; T3 – найвищі Δ.

Тривалість госпіталізації зростала у вищих тертілях: T1 3,0 (3,0–4,0), T2 6,0 (5,0–9,2), T3 8,0 (7,0–10,0) днів; $p < 0,01$. Внутрішньолікарняна смертність відрізнялася між тертілями ($p = 0,04$), з найвищим показником у T2 (16,7%). За більших Δ частіше фіксували вищі рівні лактату ($p = 0,05$) та лейкоцитів ($p < 0,01$) і нижчу кінцеву ФВ ($p = 0,02$). У групі T1 відзначено тенденцію до зниження КСО та CI у динаміці ($p = 0,06$ і $p = 0,22$ відповідно). Деталі в табл. 7 та рис. 7.

(II) Δhs-cTnT tertiles T1 = lowest Δ; T3 = highest Δ.

The duration of hospitalization increased across tertiles: T1 3.0 (3.0–4.0), T2 6.0 (5.0–9.2), T3 8.0 (7.0–10.0) days ($p < 0.01$). In-hospital mortality differed between tertiles ($p = 0.04$), with the highest rate in T2 (16.7%). Higher Δ values were associated with higher lactate levels ($p = 0.05$), higher leukocyte counts ($p < 0.01$), and lower final ejection fraction ($p = 0.02$). In T1 patients, a trend toward decreases in end-systolic volume (ESV) and cardiac index was observed ($p = 0.06$ and $p = 0.22$, respectively). Details are presented in Table 7 and Figure 7.

Таблиця 7. Характеристика пацієнтів залежно від різниці між максимальним і мінімальним постпіковим рівнем тропоніну
Table 7. Patient characteristics according to the difference between maximum and minimum post-peak troponin T levels

Параметр Parameter	Пацієнти у дослідженні Patients in the study (n=191)	Різниця між максимальним і мінімальним постпіковим рівнем тропоніну Difference between the maximum and minimum post-peak troponin levels			pval p-value
		0-2,87 нг/мл / ng/mL (n=57)	3,08-16,3 нг/мл / ng/ mL (n=56)	16,34+ нг/мл / ng/ mL (n=57)	
Тривалість госпіталізації, дні Length of hospital stay, days	5,0 (3,0; 8,0)	3,0 (3,0; 4,0)	6,0 (5,0; 9,2)	8,0 (7,0;10,0)	<0,01
Померли, n (%) Deceased, n (%)	12 (7,6)	2 (3,8)	6 (14,0)	1 (2,1)	0,04
Лактат (початок), ммоль/л Lactate (admission), mmol/L	2,0 (1,4;2,6)	1,7 (1,4;2,3)	2,0 (1,4;2,5)	2,2 (1,5;2,9)	0,05
Лейкоцити (початок), 10 ⁹ /л Leukocytes (admission), 10 ⁹ /L	9,4 (7,8;12,0)	8,2 (7,6; 9,4)	9,6 (7,3;12,0)	11,5 (9,3;14,6)	<0,01
ФВ (завершення), % LVEF (discharge), %	49,0 (43,0;54,0)	52,0 (45,0;57,0)	48,0 (42,0;54,0)	46,0 (40,8;51,2)	0,02
КСО (завершення), мл ESV (discharge), mL	62,0 (49,0; 79,0)	54,0 (43,0; 71,0)	65,0 (50,2; 81,0)	66,0 (52,0; 79,5)	0,06
CI (завершення), л/хв/м ² CI (discharge), L/min/m ²	2,1 (1,8;2,5)	1,9 (1,7;2,6)	2,2 (1,9;2,6)	2,2 (1,9;2,5)	0,22
SCAI: A, n(%)	106 (55,8)	37 (64,9)	29 (51,8)	24 (42,9)	0,01
SCAI: B, n(%)	55 (28,9)	17 (29,8)	18 (32,1)	16 (28,6)	
SCAI: C, n(%)	25 (13,2)	1 (1,8)	8 (14,3)	15 (26,8)	
SCAI: D, n(%)	3 (1,6)	2 (3,5)	1 (1,8)	0 (0,0)	
SCAI: E, n(%)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,8)	

Примітки / Notes:

ФВ – фракція викиду лівого шлуночка;

КСО – кінцево-сistolічний об'єм;

CI – серцевий індекс;

SCAI – класифікація стадій кардіогенного шоку за Society for Cardiovascular Angiography and Interventions.

LVEF – left-ventricular ejection fraction;

ESV – end-systolic volume;

CI – cardiac index;

SCAI – Society for Cardiovascular Angiography and Interventions classification of cardiogenic-shock stages.

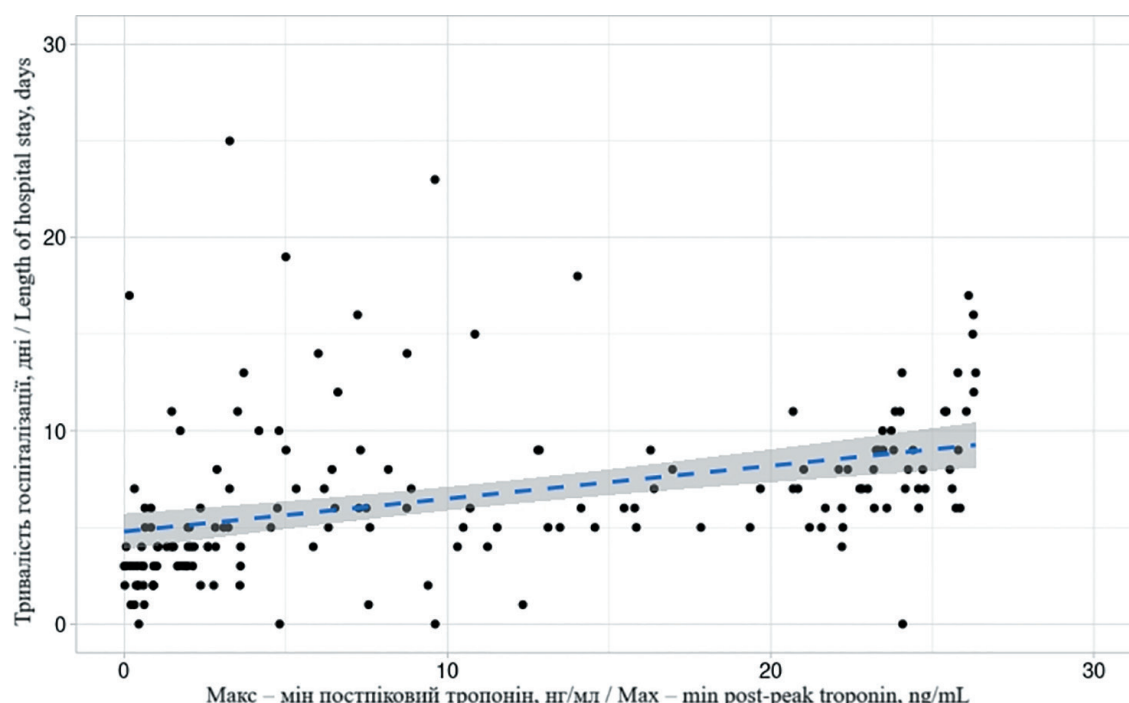


Рис. 7. Взаємозв'язок між різницею максимального і мінімального постпікового тропоніну та тривалістю госпіталізації
Fig. 7. Relationship between the difference between maximum and minimum post-peak troponin T levels and hospital stay duration

Примітки / Notes:

Синя пунктирна лінія – лінійний тренд, забарвлена синя смуга – 95 % довірчий інтервал для тренду. $y = 5,95 + 0,14x$ ($p=0,02$).
The blue dashed line represents the linear trend; the shaded blue area indicates the 95% confidence interval for the trend. $y = 5.95 + 0.14x$ ($p = 0.02$).

ОБГОВОРЕННЯ

У нашому дослідженні було застосовано змішані лінійні моделі з «вирівнюванням» добових траєкторій hs-cTnT за індивідуальним піком. Такий підхід дозволив оцінити перебіг некрозу/реперфузії поза межами поодиноких вимірювань та виділити клінічно релевантні патерни: (I) типовий післяпіковий спад hs-cTnT протягом госпітального періоду; (II) повільніший піковий спад у пацієнтів, які не вижили (значуща взаємодія час×смерть); (III) наявність тенденцій у взаємодії зі зниженням ФВ та CI у змішаних моделях; (IV) варіації часу до піку та градація за Δ hs-cTnT, пов'язані з низкою госпітальних показників.

Однією з принципових особливостей роботи є аналіз змішаної когорти пацієнтів з інфарктом міокарда з елевацією сегмента ST та без елевації ST, що було свідомим методологічним рішенням. Усі включені хворі отримували однакову інвазивну реперфузійну стратегію, а саме – раннє черезшкірне коронарне втручання на інфаркт-залежній артерії протягом першої години від моменту госпіталізації, без використання тромболізу як первинної тактики та без відтермінованих планових втручань на етапі гострої події. За таких уніфікованих умов ведення, патофізіологічні механізми некрозу та реперфузійного ушкодження можна розглядати як спільні для STEMI і NSTEMI, а центральний акцент у цьому дослідженні був зроблений саме на кількісних характеристиках маркера некрозу за hs-cTnT, а не на відмінностях ЕКГ-патернів. Це дозволяє розглядати траєкторії

DISCUSSION

In this study, we applied linear mixed-effects models, aligning daily hs-cTnT trajectories to each patient's individual peak. This approach enabled the evaluation of necrosis and reperfusion dynamics beyond isolated measurements and allowed identification of clinically relevant patterns:

(I) a typical post-peak decline of hs-cTnT during hospitalization; (II) a slower decline among non-survivors (significant time $\times$ death interaction); (III) observable trends of interaction with reduced LVEF and CI in mixed models; and (IV) variations in time-to-peak and Δ hs-cTnT gradation associated with several in-hospital parameters.

One of the key features of our study is the analysis of a mixed cohort of patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) and non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI). This was a deliberate methodological decision. All included patients received a uniform invasive reperfusion strategy: early primary percutaneous coronary intervention on the infarct-related artery within the first hour after hospital admission, without the use of thrombolysis as the primary strategy and without delayed elective interventions during the acute phase. Under these standardized management conditions, the pathophysiological mechanisms of necrosis and reperfusion injury are shared between STEMI and NSTEMI, and the central focus of this study was placed on the quantitative characteristics of necrosis as reflected by hs-cTnT rather than on differences in ECG patterns. This approach allowed us to treat

hs-cTnT як універсальний маркер некрозу в популяції зі стандартизованою реперфузією, але не виключає вірогідної наявності специфічних відмінностей між STEMI та NSTEMI, які потребують окремого аналізу в майбутніх роботах [2, 4, 9].

Повільніший спад hs-cTnT після піку у померлих пацієнтів вірогідно відображає персистенцію ушкодження міокарда (неповна або пізня реперфузія, мікросудинна обструкція, повторні ішемічні епізоди) або сповільнений кліренс біомаркера, що відповідає більш тяжкому перебігу. Ці спостереження узгоджуються з даними, де тривале підвищення/повільний спад тропоніну асоціювалися з більшим об'ємом некрозу та несприятливими наслідками [3, 4, 10, 13, 14].

Наші спостереження про типову динаміку hs-cTnT після піку та її прогностичну цінність, співзвучні із роботами, в яких кінетика тропоніну є додатковим джерелом інформації у порівнянні з одиничними чи піковими значеннями. Зокрема, Wereski та співавт. показали, що пороги та часові характеристики підйому/спаду допомагають відрізнити міокардіальне ушкодження від інфаркту [3]. Arnadóttir та співавт. описали темп і форму вивільнення hs-cTnT/hs-cTnI після відновлення кровотоку, підкресливши діагностичну цінність часових патернів [14]. Дані Hartikainen та співавт. щодо «другого піку» hs-cTnT після ІМ підтверджують, що особливості траєкторії (а не лише пік) несуть прогностичну цінність [13]. A Biener та співавт. показали зв'язок серійних значень hs-cTnT з масою інфаркту за MPT, що підтримує використання динаміки тропоніну разом з MPT візуалізацією для визначення обсягу некрозу [10]. Огляд Thomas та співавт. зводить механізми реперфузійно-ішемічного ушкодження у випадках STEMI та пропонує концепцію, чому повільний післяпиковий спад може відображати тривале ураження чи мікросудинну обструкцію [4].

У більш широкому контексті пролонгований характер динаміки тропоніну корелює з підвищеним ризиком серцево-судинної смертності, що було продемонстровано у великому популяційному дослідженні Kimenai та співавт., та опосередковано підтверджує припущення про прогностичну значущість форми відповідної кривої [2]. Рекомендації ESC 2023 стосовно гострого коронарного синдрому підтверджують основну роль високочутливих тропонінів у діагностиці та стратифікації ризику [5, 6]. У свою чергу SCAI стандартизує градації кардіогенного шоку, які ми використали для клінічного зіставлення з траєкторіями [7]. Додатково, роботи зі серійними вимірюваннями (зокрема з періодами забору 0–1 чи 2–3 години) підкреслюють цінність змін тропоніну в часі для клінічних рішень [9, 15, 16, 19, 20]. Хоча вони здебільшого фокусуються на ранній діагностиці, тоді як наша робота, на стаціонарній післяпиковій динаміці. Нарешті, важливість проблеми підкреслюють дані ВООЗ щодо провідної ролі ІХС/ІМ у глобальній смертності, а сучасні дослідження, що підтримують прагнення інтегрувати біомаркери та дані візуалізації у єдині прогностичні моделі [1, 8, 17].

Крім цього, сучасні дані Kristensen та співавт. на когорті пацієнтів зі STEMI, яким виконували первинне ЧКВ, показали, що реальний період напіввиведення високочутливих тропонінів становить

hs-cTnT trajectories as a universal marker of necrosis in a standardized-reperfusion population, but it does not exclude the possibility of specific differences between STEMI and NSTEMI, which require dedicated analysis in future studies [2, 4, 9].

The slower post-peak decline of hs-cTnT observed in patients who died likely reflects persistent myocardial injury (incomplete or delayed reperfusion, microvascular obstruction, or recurrent ischemic episodes) or delayed biomarker clearance, both consistent with a more severe clinical course. These findings align with previous evidence showing that prolonged elevation or a slow fall of troponin is associated with larger infarct size and worse outcomes [3, 4, 10, 13, 14].

Our observations of a characteristic post-peak hs-cTnT pattern and its prognostic value are consistent with studies demonstrating that troponin kinetics provide incremental information beyond single or peak values. Wereski et al. reported that the timing and magnitude of troponin rise and fall help differentiate myocardial injury from infarction [3]. Arnadóttir et al. described the release pattern of hs-cTnT/hs-cTnI after balloon occlusion in a human ischemia-reperfusion model, emphasizing the diagnostic value of temporal trajectories [14]. Data from Hartikainen and colleagues on a «second peak» of hs-cTnT after myocardial infarction support the idea that trajectory features, not only the peak value, carry prognostic information [13]. Biener and colleagues demonstrated an association between serial hs-cTnT measurements and infarct mass on cardiac MRI, supporting the use of troponin dynamics together with MRI imaging to estimate the extent of myocardial necrosis [10]. A review by Thomas and colleagues summarizes mechanisms of ischemia-reperfusion injury in STEMI and proposes a conceptual explanation for why a slower post-peak decline may reflect persistent injury or microvascular obstruction [4].

In a broader context, long-term troponin trajectories have been linked to cardiovascular mortality, as shown in the large population study by Kimenai et al. [2], indirectly supporting the concept that the curve shape itself has prognostic meaning. The 2023 ESC Guidelines for Acute Coronary Syndromes and the 2020 ESC for NSTEMI reaffirm the central diagnostic and prognostic role of high-sensitivity troponins [5, 6], while the SCAI consensus provides a standardized classification of cardiogenic shock stages used in our analysis [7]. Furthermore, diagnostic algorithms based on serial measurements (including 0/1-hour and 2–3-hour protocols) highlight the importance of temporal troponin changes for clinical decision-making [9, 15, 16, 19, 20]. However, these studies mainly focus on early emergency department assessment, whereas our work examines in-hospital post-peak kinetics.

Finally, WHO data confirms the leading role of coronary heart disease and myocardial infarction in global mortality, while recent research on predicting microvascular obstruction using non-invasive markers supports integrating biomarkers and imaging indicators into unified prognostic models [1, 8, 17].

Additionally, contemporary data from Kristensen et al., in a cohort of STEMI patients undergoing primary PCI, showed that the actual half-life of high-sensitivity cardiac troponins is approximately 12–17 hours depending on the

приблизно 12–17 годин залежно від застосованого тесту, а відмінності між різними hs-cTn-аналізами щодо траєкторії, часу до піку та періоду напіввиведення є мінімальними [21]. Це підтримує інтерпретацію, що повільний спад hs-cTnT, який ми спостерігали на рівні добових вимірювань, у першу чергу відображає тривале вивільнення маркера з ушкодженого міокарда (персистенцію некрозу/реперфузійного ушкодження, мікросудинну обструкцію), а не ізольоване зниження швидкості його елімінації з плазми.

Пік на 2-гу добу був найпоширенішим, «пізніший» пік (день 3) частіше траплявся в старших пацієнтів і супроводжувався більшою часткою ЦД2 та тенденцією до багатосудинних уражень. У підгрупах з піком на 1-шу та 3-тю добу спостерігали зниження ШКФ у динаміці. Це вказує, що вік/коморбідність і ниркова функція можуть модифікувати форму траєкторії hs-cTnT. Практично це виділяє когорту «пізнього піку» як групу підвищеної уваги; однак дані гіпотезо-генерувальні та потребують проспективної валідації [2, 3, 9].

Вищі Δ hs-cTnT асоціювалися з довшою госпіталізацією, гіршими стадіями шоку за SCAI, вищими стартовими/максимальними лейкоцитами та лактатом, а також нижчою кінцевою ФВ. Це узгоджується з ідеєю, що велика «післяпік-мінімум» різниця частіше відбиває масивніше початкове ушкодження (високий пік) з подальшим «вимиванням» маркера у пацієнтів із більш тяжким станом. Особливу увагу привертає немонотонна залежність летальності, з піком у середньому тертілі: це може відображати неоднорідність механізмів (поєднання некрозу, мікросудинної дисфункції та ниркового кліренсу), що впливають на Δ hs-cTnT [7, 9, 10, 13, 14, 17].

Можлива практична інтеграція

Щоденний «контроль зміни hs-cTnT»: може бути індикатором «швидкого/повільного спаду» → посилений моніторинг, оцінка реперфузії/анти тромботичної тактики.

Інтерпретація Δ hs-cTnT із поправкою на ШКФ: при зниженій ШКФ очікувано менші Δ за однакового ступеня ушкодження; це слід урахувати, щоб уникати хибних висновків.

Час до піку: пізній пік (день 3/4) асоціювався зі старшим віком і частішими випадками багатосудинних уражень/ЦД2, а також із зниженням ШКФ у динаміці у групах день-1 і день-3; це може прогнозувати складніший перебіг і потребу в більш пильному спостереженні, а також це потенційний маркер для раннього планування ресурсів (довша госпіталізація).

Супутні маркери стресу (лактат, лейкоцити) разом із Δ hs-cTnT допомагають ідентифікувати пацієнтів з системною відповіддю та потенційною мікроциркуляторною дисфункцією.

ВИСНОВКИ

Післяпіковий спад hs-cTnT має прогностичне значення: за змішаними моделями повільніший щодобовий спад асоціювався з вищою внутрішньолікарняною смертністю.

Дельта hs-cTnT відображає тяжкість перебігу: вищі тертілі Δ hs-cTnT пов'язані з довшою госпіталізацією, важчими стадіями шоку за SCAI, вищими рівнями

assay used, and that differences between various hs-cTn assays in terms of trajectory, time to peak, and half-life are minimal [21]. This supports the interpretation that the slow decline in hs-cTnT observed at the level of daily measurements primarily reflects prolonged release of the biomarker from injured myocardium (persistent necrosis/reperfusion injury, microvascular obstruction) rather than an isolated reduction in its plasma clearance.

The peak most commonly occurred on day 2, a «later» peak (day 3) was more frequent in older patients and associated with a higher prevalence of type 2 diabetes and a trend toward multivessel disease. Subgroups peaking on days 1 and 3 showed a decline in eGFR over time. These findings suggest that age, comorbidities, and renal function may modify hs-cTnT trajectory shape. Clinically, the «late-peak» group may represent a higher-risk cohort, although the data remain hypothesis-generating and require prospective validation [2, 3, 9].

Higher Δ hs-cTnT values were associated with longer hospital stay, worse SCAI shock stages, higher baseline/peak leukocyte counts and lactate levels, as well as lower final left ventricular ejection fraction. This is consistent with the concept that a larger «post-peak to minimum» difference more often reflects more extensive initial injury (a higher peak) followed by greater «washout» of the marker in patients with more severe clinical status. Of particular interest is the non-monotonic relationship with mortality, with a peak in the middle tertile; this may indicate heterogeneity of underlying mechanisms (a combination of necrosis, microvascular dysfunction, and renal clearance) that influence Δ hs-cTnT [7, 9, 10, 13, 14, 17].

Possible practical integration

Daily hs-cTnT trend monitoring: this may serve as an indicator of a «fast» versus «slow» decline, prompting intensified monitoring and reassessment of reperfusion status and antithrombotic strategy.

Interpretation of Δ hs-cTnT adjusted for eGFR: with reduced eGFR, smaller Δ values are expected for the same degree of injury; this should be considered to avoid misleading conclusions.

Time to peak: a late peak (day 3–4) was associated with older age and more frequent multivessel disease/type 2 diabetes, and with a decline in eGFR over time in the day-1 and day-3 groups; this may indicate a more complex clinical course and the need for closer surveillance, and it may also be a useful marker for early resource planning (longer hospitalization).

Concurrent stress markers (lactate, leukocytes): when assessed together with Δ hs-cTnT, they may help identify patients with a systemic stress response and potential microcirculatory dysfunction.

CONCLUSIONS

The post-peak decline of hs-cTnT has prognostic significance: according to mixed-effects models, a slower daily decrease was associated with higher in-hospital mortality.

Δ hs-cTnT reflects disease severity: higher Δ hs-cTnT tertiles were associated with longer hospitalization, more advanced SCAI shock stages, higher leukocyte

лейкоцитів/лактату та нижчою кінцевою ФВ; інтерпретацію Δ hs-cTnT слід виконувати з урахуванням ШКФ.

Час до піку: простий фенотиповий маркер: пік на 2-гу добу найчастіший; «пізній» пік (день 3) асоціюється зі старшим віком і більшою часткою багатосудинних уражень/ЦД2; у групах день-1 та день-3 спостерігали зниження ШКФ у динаміці.

Практичне впровадження: доцільно використовувати щодобовий моніторинг hs-cTnT, як індикатор «повільного» спаду для ранньої ескалації нагляду та оцінювати Δ hs-cTnT враховуючи ниркову функцію та маркери системного стресу.

Отримані результати стосуються змішаної ЕКГ когорти STEMI/NSTEMI з однотиповим інвазивним протоколом лікування; подальші дослідження мають оцінити, наскільки описані траєкторії hs-cTnT та пов'язані з ними ризики, відрізняються між окремими ЕКГ підтипами інфаркту міокарда.

and lactate levels, and lower final LVEF. Interpretation of Δ should account for renal function (eGFR).

Time-to-peak serves as a simple phenotypic marker: the day-2 peak was the most common, while a «later» peak (day 3) was associated with older age and a higher prevalence of multivessel disease and type 2 diabetes. Subgroups with day-1 and day-3 peaks showed a decline in eGFR over time.

Practical implications: daily monitoring of hs-cTnT can be used as an indicator of a «flat or slow» decline to trigger early escalation of surveillance; Δ hs-cTnT should be interpreted together with renal function and systemic stress markers.

These findings related to a mixed ECG-defined cohort of STEMI and NSTEMI patients treated with a uniform invasive management protocol; future studies should assess to what extent the described hs-cTnT trajectories and their associated risks differ between individual ECG-defined myocardial infarction subtypes.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. The top 10 causes of death. *World Health Organization*. 2024. URL: <https://surl.lu/jzkyi>
2. Kimenai D. M., Anand A., de Bakker M., et al. Trajectories of cardiac troponin in the decades before cardiovascular death: a longitudinal cohort study. *BMC Medicine*. 2023. №21. P. 216. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-023-02921-8>
3. Wereski R., Kimenai D. M., Taggart C., et al. Cardiac troponin thresholds and kinetics to differentiate myocardial injury and myocardial infarction. *Circulation*. 2021. №144 (7). P. 528–538. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.054302>
4. Thomas K. S., Puthooran D. M., Edpuganti S. Reperfusion injury in STEMI: a double-edged sword. *The Egyptian Heart Journal*. 2025. №77. P. 83. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43044-025-00683-7>
5. Byrne R. A., Rossello X., Coughlan J. J., et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2023. №44 (38). P. 3720–3826. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad191>
6. Collet J. P., Thiele H., Barbato E., et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2021. №42 (14). P. 1289–1367. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa575>
7. Naidu S. S., Baran D. A., Jentzer J. C., et al. SCAI SHOCK Stage Classification Expert Consensus Update. *Journal of the American College of Cardiology*. 2022. №79 (9). P. 933–946. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.01.018>
8. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) – Key facts. 2025. URL: <https://surl.li/cpwbkv>
9. Leite L., Baptista R., Leitão M., et al. High sensitivity troponins: A potential biomarkers of cardiovascular risk for primary prevention. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022. №9. P. 1054959. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1054959>
10. Biener M., Giannitsis E., Hegenbarth A., et al. Correlation of serial high-sensitivity cardiac troponin T values to infarct mass determined by cardiac magnetic resonance imaging. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2023. №12 (Supplement 1). P. zuad036.044. DOI: <https://doi.org/10.1093/ehjacc/zuad036.044>
11. O'Rielly C., Andruchow J., McRae A. LO17: Major adverse cardiac events in patients ruled-out by a validated high-sensitivity troponin algorithm for acute myocardial infarction. *Canadian Journal of Emergency Medicine*. 2020. №22 (S1). P. S13–S13. DOI: <https://doi.org/10.1017/cem.2020.73>
12. Hickling T. S., Sanfilippo N. A., Cullen L., et al. Transitioning to high-sensitivity troponin: 1-year mortality outcomes in patients with suspected acute coronary syndrome presenting to emergency

REFERENCES

1. The top 10 causes of death. *World Health Organization*. 2024. URL: <https://surl.lu/jzkyi>
2. Kimenai DM, Anand A, de Bakker M, Shipley M, Fujisawa T, Lyngbakken MN, et al. Trajectories of cardiac troponin in the decades before cardiovascular death: a longitudinal cohort study. *BMC Medicine*. 2023;21:216. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-023-02921-8>
3. Wereski R, Kimenai DM, Taggart C, Doudesis D, Lee KK, Lowry MTH, et al. Cardiac troponin thresholds and kinetics to differentiate myocardial injury and myocardial infarction. *Circulation*. 2021;144(7):528–38. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.054302>
4. Thomas KS, Puthooran DM, Edpuganti S, Reddem AL, Jose A, Akula SSM. Reperfusion injury in STEMI: a double-edged sword. *The Egyptian Heart Journal*. 2025;77:83. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43044-025-00683-7>
5. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2023;44(38):3720–826. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad191>
6. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2021;42(14):1289–367. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa575>
7. Naidu SS, Baran DA, Jentzer JC, Hollenberg SM, van Diepen S, Basir MB, et al. SCAI SHOCK Stage Classification Expert Consensus Update. *Journal of the American College of Cardiology*. 2022;79(9):933–46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.01.018>
8. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) – Key facts. 2025. URL: <https://surl.li/cpwbkv>
9. Leite L, Baptista R, Leitão M, Espírito-Santo C, Rodríguez-Padial L, Rodrigues F, et al. High sensitivity troponins: A potential biomarkers of cardiovascular risk for primary prevention. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:1054959. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1054959>
10. Biener M, Giannitsis E, Hegenbarth A, Mueller-Hennessen M, Andre F, Katus HA, et al. Correlation of serial high-sensitivity cardiac troponin T values to infarct mass determined by cardiac magnetic resonance imaging. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2023;12(Supplement 1):zuad036.044. DOI: <https://doi.org/10.1093/ehjacc/zuad036.044>
11. O'Rielly C, Andruchow J, McRae A. LO17: Major adverse cardiac events in patients ruled-out by a validated high-sensitivity troponin algorithm for acute myocardial infarction. *Canadian Journal of Emergency Medicine*. 2020;22(S1):S13–S13. DOI: <https://doi.org/10.1017/cem.2020.73>
12. Hickling TS, Sanfilippo NA, Cullen L, Chew DP, Hillis GS, Fatovich DM, et al. Transitioning to high-sensitivity troponin: 1-year mortality outcomes in patients with suspected acute coronary syndrome

- departments. *Heart*. 2025. №111 (2). P. 159–165. DOI: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2024-324959>
13. Hartikainen T. S., Goßling A., Sørensen N. A., et al. Prognostic Implications of a Second Peak of High-Sensitivity Troponin T After Myocardial Infarction. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022. №8. P. 780198. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.780198>
 14. Arnadóttir A., Pedersen S., Bo Hasselbalch R., et al. Temporal Release of High-Sensitivity Cardiac Troponin T and I After Induced Balloon Occlusion in Humans. *Circulation*. 2020. №143 (11). P. 1095–1104. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.04657>
 15. Kim J. W., Kim H., Yun Y. M., et al. Absolute Change in High-Sensitivity Cardiac Troponin I at Three Hours After Presentation is Useful for Diagnosing Acute Myocardial Infarction in the Emergency Department. *Annals of Laboratory Medicine*. 2020. №40 (6). P. 474–480. DOI: <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.6.474>
 16. Burgos L. M., Trivi M., Costabel J. P. Performance of the European Society of Cardiology 0/1-hour algorithm in the diagnosis of myocardial infarction with high-sensitivity cardiac troponin: Systematic review and meta-analysis. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2021. №10 (3). P. 279–286. DOI: <https://doi.org/10.1177/2048872620935399>
 17. Brado J., Schmitt R., Hein M., et al. Predicting MRI-diagnosed microvascular obstruction and its long-term impact after acute myocardial infarction. *Clinical Research in Cardiology*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00392-025-02709-1>
 18. Стецюк Л. Р., Стецюк І. О., Кіпоть А. О., та ін. Аналіз виникнення та перебігу вторинної ішемічної мітральної регургітації у пацієнтів із гострим інфарктом міокарда. *Одеський медичний журнал*. 2025. №1. P. 48–52. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-1-9>
 19. Vimalaratnam G., Alazrag W. A., Idris H. I., et al. Fastidious adherence to 0/1-hour high-sensitivity troponin T testing reduces emergency department length of stay in patients presenting with suspected acute coronary syndromes. *European Heart Journal*. 2024. №45 (Supplement 1). P. ehae666.1594. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae666.1594>
 20. Biener M., Giannitsis E., Hogrefe K., et al. Prognostic value of changes in high-sensitivity cardiac troponin T beyond biological variation in stable outpatients with cardiovascular disease: a validation study. *Clinical Research in Cardiology*. 2021. №110 (2). P. 333–342. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00392-021-01952-6>
 21. Kristensen J. H., Wistisen Koczulab C. A., Frandsen E. A., et al. Kinetics of cardiac troponin and other biomarkers in patients with ST elevation myocardial infarction. *International Journal of Cardiology: Heart & Vasculture*. 2023. №48. P. 101250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2023.101250>
 - presenting to emergency departments. *Heart*. 2025;111(2):159–65. DOI: <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2024-324959>
 13. Hartikainen TS, Goßling A, Sørensen NA, Lehmacher J, Neumann JT, Blankenberg S, et al. Prognostic Implications of a Second Peak of High-Sensitivity Troponin T After Myocardial Infarction. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;8:780198. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.780198>
 14. Arnadóttir A, Pedersen S, Bo Hasselbalch R, Goetze JP, Friis-Hansen LJ, Bloch-Münster AM, et al. Temporal Release of High-Sensitivity Cardiac Troponin T and I After Induced Balloon Occlusion in Humans. *Circulation*. 2020;143(11):1095–104. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.04657>
 15. Kim JW, Kim H, Yun YM, Lee KR, Kim HJ. Absolute Change in High-Sensitivity Cardiac Troponin I at Three Hours After Presentation is Useful for Diagnosing Acute Myocardial Infarction in the Emergency Department. *Annals of Laboratory Medicine*. 2020;40(6):474–80. DOI: <https://doi.org/10.3343/alm.2020.40.6.474>
 16. Burgos LM, Trivi M, Costabel JP. Performance of the European Society of Cardiology 0/1-hour algorithm in the diagnosis of myocardial infarction with high-sensitivity cardiac troponin: Systematic review and meta-analysis. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*. 2021;10(3):279–86. DOI: <https://doi.org/10.1177/2048872620935399>
 17. Brado J, Schmitt R, Hein M, Valina C, Steinhauer C, Soschynski M, et al. Predicting MRI-diagnosed microvascular obstruction and its long-term impact after acute myocardial infarction. *Clinical Research in Cardiology*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00392-025-02709-1>
 18. Stetsiuk LR, Stetsiuk IO, Kipot AO, Zaviyskyi VI. Analysis of the occurrence and course of secondary ischemic mitral regurgitation in patients with acute myocardial infarction. *The Odesa Medical Journal*. 2025;1:48–52. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2025-1-9>
 19. Vimalaratnam G, Alazrag WA, Idris HI, Juergens CP, Ferguson IMC, Middleton PM, et al. Fastidious adherence to 0/1-hour high-sensitivity troponin T testing reduces emergency department length of stay in patients presenting with suspected acute coronary syndromes. *European Heart Journal*. 2024;45(Supplement 1):ehae666.1594. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae666.1594>
 20. Biener M, Giannitsis E, Hogrefe K, Mueller-Hennessen M, Fröhlich H, Katus HA, et al. Prognostic value of changes in high-sensitivity cardiac troponin T beyond biological variation in stable outpatients with cardiovascular disease: a validation study. *Clinical Research in Cardiology*. 2021;110(2):333–42. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00392-021-01952-6>
 21. Kristensen JH, Wistisen Koczulab CA, Frandsen EA, Bo Hasselbalch R, Strandkjær N, Jørgensen N, et al. Kinetics of cardiac troponin and other biomarkers in patients with ST elevation myocardial infarction. *International Journal of Cardiology: Heart & Vasculture*. 2023;48:101250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2023.101250>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і методологією. Одноцентровий характер не дозволяє робити причинно-наслідкові висновки та зберігає ризик селекційного зміщення і залишкової змішувальної дії, попри застосування багатофакторного аналізу. Значення hs-cTnT, що перевищували верхню межу вимірювання (26 нг/мл), було цензуровано як максимальні, а також інтервалу 24 години між заборами, могло призвести до певної втрати точності при моделюванні динаміки. Відсутність візуалізації розміру інфаркту (МРТ або скінтиграфія) та маркерів мікросудинної обструкції обмежує повноту оцінки анатомічного субстрату ушкодження. Не всі потенційні змішані чинники (час до реперфузії, стратегія реваскуляризації, ниркова функція) були враховані у фінальних моделях. У змішаних моделях використано випадковий інтерсепт без випадкового схилу, що могло вплинути на відображення індивідуальної варіабельності. Узагальнюваність результатів обмежена контекстом вибірки та особливостями ведення пацієнтів у межах одного центру. Отримані результати потребують підтвердження в проспективних мультицентрових дослідженнях із більшою чисельністю вибірки, розширеною фенотипізацією, зовнішньою валідацією та дотриманням принципів Належної клінічної практики (Good Clinical Practice – GCP).

Limitations of the study

The authors acknowledge that the present study has several limitations related to its design and methodology. The single-center nature precludes causal inference and carries a risk of selection bias and residual confounding despite multivariable adjustment. Troponin-T values exceeding the upper analytical limit (26 ng/mL) were censored as maximal, and the 24-hour interval between blood draws, might have reduced the precision of trajectory modeling. The absence of infarct size assessment by MRI/scintigraphy and microvascular obstruction markers limits the anatomical characterization of injury. Some potential confounders (time to reperfusion, revascularization strategy, renal function) were not fully adjusted for. Mixed-effects models used a random intercept without a random slope, potentially underrepresenting inter-individual variability. Therefore, the generalizability of findings is constrained by the single-center context and patient management specifics. The results warrant confirmation in larger prospective multicenter studies with extended phenotyping, external validation, and adherence to Good Clinical Practice (GCP) standards.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження доцільно спрямувати на валідацію траєкторних індикаторів ушкодження міокарда – швидкості спаду, абсолютної зміни (Δ hs-cTnT) та часу до піку – у зв'язку з магнітно-резонансними (МРТ-похідними) показниками, зокрема об'ємом інфаркту та наявністю мікросудинної обструкції. Перспективним є також поєднання біомаркерної динаміки з гемодинамічними параметрами та швидкістю клубочкової фільтрації у межах багатопараметричних прогностичних моделей. Окремим напрямком має стати визначення клінічно релевантних порогових значень зміни hs-cTnT для підтримки прийняття рішень у гострому періоді інфаркту міокарда.

Конфлікт інтересів

Всі автори подали до редакції заповнену Єдину форму розкриття конфлікту інтересів Міжнародного комітету редакторів медичних журналів «ICMJE» (International Committee of Medical Journal Editors). 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.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Дослідження схвалено локальною комісією з питань біоетики Державної установи «Інститут серця Міністерства охорони здоров'я України» (протокол № 9 від 15.10.2025 р.). З огляду на повну деперсоналізацію даних, інформована згода пацієнтів не вимагалася. Роботу виконано з дотриманням принципів належної клінічної практики (Good Clinical Practice – GCP) та міжнародних етичних стандартів.

Використання штучного інтелекту

Автори свідомо декларують використання інструментів генеративного штучного інтелекту під час підготовки цього рукопису. Відповідно до таксономії GAIDeT (Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy), під повним людським наглядом було делеговано завдання мовної вичитки, стилістичного редагування та перевірки перекладу. Для цього використовувався ChatGPT (OpenAI, версія від листопада 2025 р.). Усі результати, отримані за допомогою цього інструмента, були ретельно перевірені, відредаговані та затверджені авторами, які несуть повну відповідальність за зміст і висновки публікації. Інструменти генеративного ШІ не зазначаються як автори та не несуть відповідальності за кінцеві результати.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних клінічних досліджень, що були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні

Prospects for further research

Future research should focus on validating trajectory-based indicators of myocardial injury – including rate of decline, absolute change (Δ hs-cTnT), and time-to-peak – in correlation with MRI-derived markers such as infarct volume and microvascular obstruction. Integration of biomarker kinetics with hemodynamic parameters and glomerular filtration rate into multiparametric prognostic models represents another promising direction. Additionally, establishing clinically relevant hs-cTnT change thresholds for decision-making in the acute phase of myocardial infarction should be prioritized.

Conflict of interest

All authors have submitted the completed ICMJE Uniform Disclosure Form for Potential Conflicts of Interest (International Committee of Medical Journal Editors). The authors explicitly declare that they have no actual or potential conflicts of interest related to this work with any pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, or other organizations whose products, services, or financial support may be associated with the subject matter of the presented research.

Ethics statement

The authors confirm that the study was conducted using data derived from primary medical records. The research was performed in accordance with the ethical standards of the World Medical Association Declaration of Helsinki on ethical principles for medical research involving human subjects, the European Directive 86/609/EEC on the participation of humans in biomedical research, and the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 dated September 23, 2009. The study was approved by the Local Ethics Committee of the State Institution «Heart Institute of the Ministry of Health of Ukraine» (Protocol No. 9, dated October 15, 2025). Considering full data anonymization, individual informed consent was not required. The study was conducted in compliance with the principles of Good Clinical Practice (GCP) and international ethical standards.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors explicitly declare the use of generative artificial intelligence tools during the preparation of this manuscript. In accordance with the GAIDeT (Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy), tasks related to language proofreading, stylistic editing, and translation checking were delegated under full human supervision. For this purpose, ChatGPT (OpenAI, November 2025 version) was used. All outputs generated with this tool were carefully reviewed, edited, and approved by the authors, who take full responsibility for the content and conclusions of the publication. Generative AI tools are not listed as authors and bear no responsibility for the final results.

Data availability statement

The authors confirm that the study utilized results of their own clinical research, which were systematized and analyzed by the authors themselves. The primary dataset includes aggregated

дані включають узагальнені показники пацієнтів, лабораторні результати, протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням вимог конфіденційності та етичних норм.

patient characteristics, laboratory results, procedural records, and derived quantitative indicators. All materials are securely stored in the research group's archive and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, subject to confidentiality and ethical requirements.

Інформація про фінансування

Фінансування виконання дослідження та процесу підготовки публікації відсутнє. Автори засвідчують, що роботу виконано без цільової фінансової підтримки з боку державних, комерційних чи приватних структур, зокрема без зовнішнього грантового або інституційного фінансування.

Funding information

No funding was received for the execution of this study or for the preparation of the manuscript. The authors declare that the work was carried out without any targeted financial support from governmental, commercial, or private sources, including external grants or institutional funding.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Кіпоть Артем Олегович – завідувач відділення гострого коронарного синдрому та інфаркту міокарда Державного некомерційного підприємства «Інститут серця Міністерства охорони здоров'я України»; вул. Братиславська, буд. 5-А, м. Київ, Україна, 02166;

е-mail: kipot.md@gmail.com

моб.: +38 (067) 162-30-91

Внесок автора: концепція дослідження, збір даних, написання початкового варіанту статті, редагування та доопрацювання.

Колесник Тетяна Володимирівна – доктор медичних наук, професор кафедри пропедевтики внутрішньої медицини Дніпровського державного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; вул. Володимира Вернадського, буд. 9, м. Дніпро, Україна, 49044;

е-mail: dr.tvkolesnik@gmail.com

моб.: +38 (067) 635-78-01

Внесок автора: наукове керівництво, адміністрування проекту, остаточне затвердження рукопису.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Kipot Artem Olehovich – Head of the Department of Acute Coronary Syndrome and Myocardial Infarction of the State Non-Commercial Enterprise «Heart Institute of the Ministry of Health of Ukraine»; 5-A Bratyslavskia Str., Kyiv, Ukraine, 02166;

е-mail: kipot.md@gmail.com

tel.: +38 (067) 162-30-91

Author's contribution: conception, investigation, data collection, drafting of the manuscript, editing, and revision.

Kolesnyk Tetiana Volodymyrivna – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine of the Dnipro State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 9 Volodymyra Vernadskoho Str, Dnipro, Ukraine 49044;

е-mail: dr.tvkolesnik@gmail.com

tel.: +38 (067) 635-78-01

Author's contribution: scientific supervision, project administration, and final approval of the manuscript.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
12.08.2025

Отримано після рецензування
Received after review
16.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-13>

УДК: 618.11-006.2:616-055.2-053



Діагностика та лікування кіст яєчників у дівчат

Коноплицький В.С.¹,  <https://orcid.org/0000-0001-9525-1547>, e-mail: vkonoptytsky@gmail.com

Лойко Є.Є.¹,  <https://orcid.org/0000-0003-3719-186X>, e-mail: Loikoe@gmail.com

Гончарук В.Б.²,  <https://orcid.org/0009-0005-7593-4515>, e-mail: dxirurgiya2@gmail.com

Коробко Ю.Є.¹,  <https://orcid.org/0000-0002-3299-878X>, e-mail: lundqist@gmail.com

Сасюк А.І.¹,  <https://orcid.org/0000-0001-7454-2986>, e-mail: spchirurg1976@gmail.com

Дуб А.С.¹,  <https://orcid.org/0009-0001-9240-0743>, e-mail: anastasiadub2002@gmail.com

¹Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Міністерства охорони здоров'я України, Вінниця, Україна

²Комунальне некомерційне підприємство «Вінницька обласна дитяча клінічна лікарня
Вінницької обласної ради», Вінниця, Україна

Diagnosis and treatment of ovarian cysts in girls

Konoplytskyi V.S.¹,  <https://orcid.org/0000-0001-9525-1547>, e-mail: vkonoptytsky@gmail.com

Loiko Ye.Ye.¹,  <https://orcid.org/0000-0003-3719-186X>, e-mail: Loikoe@gmail.com

Honcharuk V.B.²,  <https://orcid.org/0009-0005-7593-4515>, e-mail: dxirurgiya2@gmail.com

Korobko Yu.Ye.¹,  <https://orcid.org/0000-0002-3299-878X>, e-mail: lundqist@gmail.com

Sasiuk A.I.¹,  <https://orcid.org/0000-0001-7454-2986>, e-mail: spchirurg1976@gmail.com

Dub A.S.¹,  <https://orcid.org/0009-0001-9240-0743>, e-mail: anastasiadub2002@gmail.com

¹National Pirogov Memorial Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, Ukraine

²Communal non-commercial enterprise «Vinnytsia Regional Pediatric Clinical Hospital
of the Vinnytsia Regional Council», Vinnytsya, Ukraine

Ключові слова:

кісти яєчників, оперативне лікування,
дитяча хірургія, ультразвукова діагнос-
тика, ускладнення.

Для кореспонденції:

Коробко Юрій Євгенійович
Вінницький національний медичний
університет ім. М.І. Пирогова Мініс-
терства охорони здоров'я України,
кафедра дитячої хірургії;
вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця,
Україна, 21018;
e-mail: lundqist747@gmail.com

© Коноплицький В.С., Лойко Є.Є.,
Гончарук В.Б., Коробко Ю.Є.,
Сасюк А.І., Дуб А.С., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Кістозні ураження яєчників та придатків матки посідають одне з провідних місць серед патологій, що виявляються у дівчат дитячого та підліткового віку. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я, частота таких захворювань у структурі дитячої гінекологічної хірургічної патології становить від 2,6% до 5%. У країнах із високим рівнем розвитку систем охорони здоров'я, таких як Сполучені Штати Америки, Велика Британія та Німеччина, цей показник може досягати 3–6%.

Мета роботи – визначити основні особливості формування патології, діагностики та лікування кіст яєчників у різних вікових групах дітей на основі даних літератури та власному досвіді.

Матеріали та методи. У межах проведеного дослідження було виконано аналіз актуальних наукових публікацій, відібраних із провідних медичних інформаційних платформ, зокрема Scopus, PubMed, MEDLINE та Google Scholar за 2008–2025 роки за ключовими словами: «ovarian cysts», «complicated ovarian cysts», «surgical treatment», «gynecological ultrasound diagnostics».

Результати. Аналіз літературних даних та клінічного досвіду показує, що підхід до діагностики та лікування кіст яєчників у дітей залишається неоднорідним. У країнах Європейського Союзу переважає тактика максимально консервативного ведення, тоді як в Україні частіше застосовується раннє оперативне втручання. Це зумовлює необхідність пошуку оптимальної стратегії, яка б поєднувала світовий досвід із національними особливостями. Таким чином, робота має наукову новизну у вигляді систематизації факторів ризику та клінічних проявів у різних вікових групах дітей, що дозволяє розробити алгоритм практичних дій для педіатричних хірургів і гінекологів. Кістозні ураження яєчників та придатків матки у дітей мають чітку вікову залежність, при цьому найбільша частка випадків припадає на підліткову вікову групу, що пов'язано з інтенсивними гормональними перебудовами в період статевого дозрівання. Основними факторами ризику розвитку цієї патології є порушення ендокринної регуляції, а також спадкова схильність до гормонозалежних новоутворень. Золотим стандартом діагностики на сьогодні залишається ультразвукове дослідження з доплерографічною оцінкою кровотоку у поєднанні

з визначенням рівня гормонів і пухлинних маркерів. У новонароджених та дітей раннього віку раннє виконання пункційних втручань під контролем ультразвукової діагностики або лапароскопічних операцій дозволяє запобігти розвитку тубарних ускладнень, таких як атрофія, склероз чи самоампутація придатків.

Висновки. Практичне значення дослідження полягає в тому, що систематизовані у роботі дані можуть бути використані для створення клінічних протоколів ведення дівчат із кістами яєчників. Автори акцентують увагу на доцільності поєднання сучасних методів ультразвукової діагностики з лабораторними тестами, що підвищує точність діагнозу й зменшує кількість необґрунтованих операцій. Кісти яєчників найчастіше діагностуються у підлітків, це пов'язано з гормональними змінами в організмі. Основними факторами, що сприяють їх розвитку, є ендокринні порушення, вплив материнських гормонів під час внутрішньоутробного розвитку та запальні процеси в органах малого таза. Виявлення цих утворень можливе завдяки комплексному підходу, який включає ультразвукову діагностику та лабораторні аналізи.

Для цитування:

Коноплицький В.С., Лойко Є.Є., Гончарук В.Б., Коробко Ю.Є., Сасюк А.І., Дуб А.С. Діагностика та лікування кіст яєчників у дівчат. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33 № 5(56). С. 857–876. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-13>

Keywords:

ovarian cysts, surgical treatment, pediatric surgery, ultrasound diagnostics, complications.

For correspondence:

Korobko Yurii Yevheniiyovych
National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pediatric Surgery;
56 Pyrohova Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;
e-mail: lundqist747@gmail.com

© Konoplytskyi V.S., Loiko Ye.Ye.,
Honcharuk V.B., Korobko Yu.Ye.,
Sasiuk A.I., Dub A.S., 2025

ABSTRACT

Background. Cystic lesions of the ovaries and uterine appendages occupy one of the leading places among the pathologies detected in girls of childhood and adolescence. According to estimates by the World Health Organization, the frequency of such diseases in the structure of pediatric gynecological surgical pathology is from 2.6% to 5%. In countries with a high level of development of health care systems, such as the United States of America, Great Britain and Germany, this figure can reach 3–6%.

Purpose – to determine the main features of the formation of pathology, diagnosis and treatment of ovarian cysts in different age groups of children based on literature data and personal experience.

Materials and methods. The study analyzed current scientific publications selected from leading medical information platforms, including Scopus, PubMed, MEDLINE, and Google Scholar for 2008–2025 by keywords: «ovarian cysts», «complicated ovarian cysts», «surgical treatment», «gynecological ultrasound diagnostics».

Results. Analysis of literature data and clinical experience shows that the approach to the diagnosis and treatment of ovarian cysts in children remains heterogeneous. In the European Union countries, the tactics of maximum conservative management prevail, while in Ukraine early surgical intervention is more often used. This necessitates the search for an optimal strategy that would combine world experience with national characteristics. Thus, the work has scientific novelty in the form of systematization of risk factors and clinical manifestations in different age groups of children, which allows developing an algorithm of practical actions for pediatric surgeons and gynecologists. Cystic lesions of the ovaries and uterine appendages in children have a clear age dependence, with the largest proportion of cases occurring in the adolescent age group, which is associated with intense hormonal changes during puberty. The main risk factors for the development of this pathology are endocrine dysfunction, as well as a hereditary predisposition to hormone-dependent neoplasms. The gold standard for diagnosis today remains ultrasound with Doppler assessment of blood flow in combination with determination of hormone levels and tumor markers. In newborns and young children, early puncture interventions under ultrasound control or laparoscopic operations can prevent the development of tubal complications, such as atrophy, sclerosis, or self-amputation of the appendages.

Conclusions. The practical significance of the study is that the data systematized in the work can be used to create clinical protocols for the management of girls with ovarian cysts. The authors emphasize the feasibility of combining modern methods of ultrasound diagnostics with laboratory tests, which increases the accuracy of the diagnosis and reduces the number of unjustified operations. Ovarian cysts are most often diagnosed in adolescents, this is due to hormonal changes in the body. The main factors contributing to their development are endocrine disorders, the influence of maternal hormones during intrauterine development and inflammatory processes in the pelvic organs. Detection of these formations is possible thanks to a comprehensive approach, which includes ultrasound diagnostics and laboratory tests.

For citation:

Konoplytskyi VS, Loiko YeYe, Honcharuk VB, Korobko YuYe, Sasiuk AI, Dub AS. Diagnosis and treatment of ovarian cysts in girls. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):857-876. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-13>

ВСТУП

Жіноча репродуктивна система зазнає змін протягом життя, починаючи з періоду внутрішньоутробного розвитку і завершуючи зрілим віком. Ці зміни зумовлені на морфологічному та функціональному рівнях, де важливу роль відіграє гормональна регуляція. Одним із напрямків, що потребує детального вивчення, є утворення кіст яєчників, які зумовлені фізіологічними особливостями розвитку репродуктивної системи та зовнішніми факторами, що впливають на організм в різних вікових групах. На етапі внутрішньоутробного розвитку починається закладка основних структур жіночої статеві системи. Формування статевих органів дівчинки починається на ранніх стадіях гестації. На 4–5-му тижні гестації закладаються гоноцити, які мігрують до майбутніх гонад, з яких будуть розвиватися яєчники. У цей період мюллерові протоки починають формуватися і в подальшому дають початок розвитку матки, фаллопієвих труб і верхній частині піхви. На 8–12-му тижні відбувається активне ділення ооцитів. Максимальна кількість ооцитів (6–7 мільйонів) досягається до 20-го тижня вагітності [1]. Проте, після 32–36-го тижня вагітності починається атрезія частини фолікулів, зменшується їх кількість до 1–2 мільйонів до моменту народження [2]. У періоді новонародженості статеві система новонародженої дівчинки перебуває під впливом гормонального фону матері, що зумовлює тимчасові зміни в анатомії статевих органів. Яєчники активно містять примордіальні фолікули, але вони не функціонують на цьому етапі розвитку. Згодом рівень естрогенів знижується, що призводить до поступової інволюції тимчасових кіст, які могли виникнути в результаті гормональної гіперстимуляції. Будова статеві системи в цей період характеризується наявністю окремих органів, таких як матка і яєчники, але ця структура ще не виконує свою репродуктивну функцію. Яєчники мають багато примордіальних фолікулів, але їх активність мінімальна [3].

У період раннього дитинства статеві система дівчинки перебуває в стані функціонального спокою. Яєчники не зазнають значної гормональної стимуляції, і тому в них не міститься активного фолікулогенезу. Структурно яєчники залишаються малого розміру, із примордіальними фолікулами, які не продовжують свій розвиток. Матка має невеликі розміри. Зміни в статевих органах мінімальні, а гормональна активність обмежується лише незначними флуктуаціями, які не викликають суттєвих змін [4].

Будова статевих органів характеризується наявністю статевих органів, що знаходяться на стадії раннього розвитку. Яєчники залишаються структурно недиференційованими, а органи репродуктивної системи перебувають у стані спокою. У період передстатевого дозрівання починається активізація гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничової осі. Це супроводжується збільшенням розмірів яєчників, початком росту фолікулів. Яєчники розвиваються, і їхня структура стає більш диференційованою. У цей період збільшується кількість фолікулів, проте вони ще не досягають повної зрілості. Матка також збільшується в розмірах, і її будова набуває ознак, характерних для періоду

INTRODUCTION

The female reproductive system undergoes changes throughout life, starting from the period of intrauterine development and ending with adulthood. These changes are determined at the morphological and functional levels, where hormonal regulation plays an important role. One of the areas that requires detailed study is the formation of ovarian cysts, which is due to the physiological features of the development of the reproductive system and external factors that affect the body in different age groups. At the stage of intrauterine development, the laying of the main structures of the female reproductive system begins. The formation of the female genital organs begins in the early stages of gestation. At 4–5 weeks of gestation, gonocytes are laid, which migrate to the future gonads, from which the ovaries will develop. During this period, the Mullerian ducts begin to form and subsequently give rise to the development of the uterus, fallopian tubes and upper part of the vagina. At 8–12 weeks, active division of oocytes occurs. The maximum number of oocytes (6–7 million) is reached by the 20th week of pregnancy [1]. However, after 32–36 weeks of pregnancy, atresia of some follicles begins, reducing their number to 1–2 million by the time of birth [2]. During the neonatal period, the reproductive system of a newborn girl is under the influence of the mother's hormonal background, which causes temporary changes in the anatomy of the genital organs. The ovaries actively contain primordial follicles, but they do not function at this stage of development. Over time, the level of estrogens decreases, which leads to the gradual involution of temporary cysts that could have arisen as a result of hormonal hyperstimulation. The structure of the reproductive system during this period is characterized by the presence of separate organs, such as the uterus and ovaries, but this structure does not yet perform its reproductive function. The ovaries have many primordial follicles, but their activity is minimal [3].

During early childhood, the female reproductive system is in a state of functional quiescence. The ovaries do not undergo significant hormonal stimulation, and therefore there is no active folliculogenesis in them. Structurally, the ovaries remain small, with primordial follicles that do not continue their development. The uterus is small. Changes in the genitals are minimal, and hormonal activity is limited to only minor fluctuations that do not cause significant changes [4].

The structure of the genitals is characterized by the presence of genitals that are at an early stage of development. The ovaries remain structurally undifferentiated, and the organs of the reproductive system are in a state of rest. During the period of prepubescence, the hypothalamic-pituitary-ovarian axis begins to be activated. This is accompanied by an increase in the size of the ovaries, the beginning of follicle growth. The ovaries develop, and their structure becomes more differentiated. During this period, the number of follicles increases, but they have not yet reached full maturity. The uterus also increases in size, and its structure acquires features characteristic of the period of maturation. The first signs of hormonal activity appear, which can contribute to the formation of functional ovarian cysts [5].

дозрівання. Виникають перші ознаки гормональної активності, що може сприяти утворенню функціональних кіст яєчників [5].

Особливості статеві системи на цьому етапі включають наявність дозріваючих фолікулів у яєчниках та початок структурних змін у матці, яка готується до наступного етапу статевого дозрівання. Підлітковий період є періодом інтенсивного статевого дозрівання, коли статеві системи дівчини зазнає значних змін. У яєчниках спостерігається більш виражена структурна диференціація, збільшується кількість зрілих фолікулів, а також починається регулярний фолікулогенез. Гормональні коливання сприяють утворенню функціональних кіст, зокрема фолікулярних та лютеїнових, які можуть виникати через порушення процесу овуляції [6, 7].

Після досягнення статевого дозрівання система дівчини стабілізується, встановлюється регулярний менструальний цикл, що є ознакою репродуктивної зрілості. Яєчники функціонують стабільно, з регулярною овуляцією та нормальним фолікулогенезом. Матка має добре розвинену структуру, готову до здійснення репродуктивної функції. Особливості статеві системи на цьому етапі полягають у стабільності та зрілості органів, з можливістю виконання репродуктивних функцій, проте з наявністю певних ризиків розвитку патологічних змін у яєчниках [2].

Мета роботи – визначити основні особливості формування патології, діагностики та лікування кіст яєчників у різних вікових групах дітей на основі даних літератури та власного досвіду.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У межах проведеного дослідження було виконано аналіз актуальних наукових публікацій, відібраних із провідних медичних інформаційних платформ, зокрема Scopus, PubMed, MEDLINE та Google Scholar за 2008–2025 роки за ключовими словами: «ovarian cysts», «complicated ovarian cysts», «surgical treatment», «gynecological ultrasound diagnostics». Використання літературних джерел дало змогу сформувати цілісне уявлення про сучасні підходи до діагностики, лікування та ведення пацієнток із патологіями придатків матки у дитячому віці.

РЕЗУЛЬТАТИ

Аналіз літературних даних та клінічного досвіду показує, що підхід до діагностики та лікування кіст яєчників у дітей залишається неоднорідним. У країнах ЄС переважає тактика максимально консервативного ведення, тоді як в Україні частіше застосовується раннє оперативне втручання. Це зумовлює необхідність пошуку оптимальної стратегії, яка б поєднувала світовий досвід із національними особливостями. Таким чином, робота має наукову новизну у вигляді систематизації факторів ризику та клінічних проявів у різних вікових групах дітей, що дозволяє розробити алгоритм практичних дій для педіатричних хірургів і гінекологів.

Кістозні утворення яєчників у дітей – це патологічні порожнинні структури, заповнені рідинним вмістом, які можуть мати як вроджене, так і набуте походження.

Features of the reproductive system at this stage include the presence of maturing follicles in the ovaries and the beginning of structural changes in the uterus, which is preparing for the next stage of puberty. Adolescence is a period of intense puberty, when the reproductive system of a girl undergoes significant changes. The ovaries show more pronounced structural differentiation, the number of mature follicles increases, and regular folliculogenesis begins. Hormonal fluctuations contribute to the formation of functional cysts, in particular follicular and luteal, which can occur due to impaired ovulation [6, 7].

After reaching puberty, the girl's system stabilizes, a regular menstrual cycle is established, which is a sign of reproductive maturity. The ovaries function stably, with regular ovulation and normal folliculogenesis. The uterus has a well-developed structure, ready to perform the reproductive function. The features of the reproductive system at this stage are the stability and maturity of the organs, with the ability to perform reproductive functions, but with the presence of certain risks of developing pathological changes in the ovaries [2].

Objective – to determine the main features of the formation of pathology, diagnosis and treatment of ovarian cysts in different age groups of children based on literature data and personal experience.

MATERIALS AND METHODS

The study analyzed current scientific publications selected from leading medical information platforms, including Scopus, PubMed, MEDLINE, and Google Scholar for 2008–2025 by keywords: «ovarian cysts», «complicated ovarian cysts», «surgical treatment», «gynecological ultrasound diagnostics». The use of literary sources made it possible to form a holistic picture of modern approaches to the diagnosis, treatment and management of patients with pathologies of the uterine appendages in childhood.

RESULTS

Analysis of literature data and clinical experience shows that the approach to the diagnosis and treatment of ovarian cysts in children remains heterogeneous. In the EU countries, the tactics of maximum conservative management prevail, while in Ukraine early surgical intervention is more often used. This necessitates the search for an optimal strategy that would combine world experience with national characteristics. Thus, the work has scientific novelty in the form of systematization of risk factors and clinical manifestations in different age groups of children, which allows developing an algorithm of practical actions for pediatric surgeons and gynecologists.

Cystic ovarian formations in children are pathological cavity structures filled with liquid contents, which can have both congenital and acquired origin. Depending

Залежно від механізму розвитку вони поділяються на функціональні та органічні. Основними факторами, що сприяють їх формуванню, є порушення процесів фолікулогенезу, дисфункція овуляції або патологічна проліферація тканин. У більшості випадків кісти мають безсимптомний перебіг, проте за певних обставин можуть провокувати больовий синдром, ендокринні розлади та спричиняти ускладнення, зокрема розрив або перекут, що потребують невідкладного медичного втручання [8].

Формування кістозних утворень у яєчниках є багатфакторним процесом, що залежить від вікового періоду розвитку та гормонального стану організму [9].

У антенатальному періоді відмічається порушення розвитку гонад – генетичні аномалії, гіпоксія, порушення васкуляризації; гіперстимуляція гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничкової осі – надмірна дія плацентарних гонадотропінів; вплив материнських гормонів – підвищена концентрація естрогенів та гонадотропінів, що сприяє персистенції фолікулів. Неонатальний період характеризується гормональною перебудовою – різким зниження впливу материнських гормонів, гіперстимуляцією яєчників – короткочасною дією залишкових естрогенів, що може провокувати тимчасові фолікулярні кісти [1]. У дошкільному та шкільному віці характерним є відсутність активної гонадотропної стимуляції – низький рівень гормонів зменшує ризик утворення функціональних кіст. За даними джерел літератури у даному періоді часто відмічаються прояви вроджених аномалій яєчників – дисгенезія гонад, резистентність яєчників, метаболічні порушення – вплив на структуру яєчників, ретенційні кісти. У пубертатному періоді частими є гормональні коливання – активація гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничкової, ановуляторні цикли – порушення овуляції сприяє персистенції фолікулів, дисбаланс естрогенів і прогестерону – надлишок естрогенів, дефіцит прогестерону, що провокує кістоутворення [7].

Згідно з джерелами літератури, розвиток кіст яєчників у дітей є наслідком взаємодії множини етіологічних факторів, серед яких найбільш значущими є генетичні, гормональні, ендокринні, внутрішньоутробні, запальні та зовнішні чинники. Вивчення цих факторів є важливим для своєчасної діагностики та розробки профілактичних заходів, оскільки знання про них дозволяє краще зрозуміти механізми розвитку кістозних утворень у дитячому віці [9]. Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) є однією з найпоширеніших ендокринних патологій, що може бути успадкована та призводить до розвитку кіст яєчників. Цей синдром зумовлений порушенням функції гіпоталамо-гіпофізарно-яєчничкової осі, що призводить до аномальної секреції гонадотропінів, підвищеного рівня андрогенів і порушенням нормальної овуляції [9, 10]. Гормональні порушення (дисбаланс гонадотропінів, естрогенів та прогестерону) є одними із ключових факторів ризику, порушення гормонального балансу, зокрема надмірна або недостатня продукція гонадотропінів (лютеїнізуючого та фолікулостимулюючого гормонів), естрогенів і прогестерону. Цей дисбаланс може призводити до порушення нормального процесу овуляції та фолікулогенезу, що створює умови для персистенції фолікулів і формування кістозних утворень. Наприклад, підвищений рівень естрогенів при недостатньому рівні

on the mechanism of development, they are divided into functional and organic. The main factors contributing to their formation are disorders of folliculogenesis, dysfunction of ovulation or pathological proliferation of tissues. In most cases, cysts have an asymptomatic course, but under certain circumstances they can provoke pain syndrome, endocrine disorders and cause complications, in particular rupture or torsion, which require urgent medical intervention [8].

The formation of cystic formations in the ovaries is a multifactorial process that depends on the age period of development and the hormonal state of the body [9].

In the antenatal period, there is adisruption of gonadal development – genetic anomalies, hypoxia, vascularization disorders; hyperstimulation of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis – excessive action of placental gonadotropins; influence of maternal hormones – increased concentration of estrogens and gonadotropins, which contributes to the persistence of follicles. The neonatal period is characterized by hormonal restructuring – a sharp decrease in the influence of maternal hormones, ovarian hyperstimulation – short-term action of residual estrogens, which can provoke temporary follicular cysts [1]. In preschool and school age, the absence of active gonadotropic stimulation is characteristic – low hormone levels reduce the risk of functional cyst formation. According to literature sources, manifestations of congenital ovarian anomalies – gonadal dysgenesis, ovarian resistance, metabolic disorders – influence on the structure of the ovaries, retention cysts are often observed during this period. During puberty, hormonal fluctuations are common – activation of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis, anovulatory cycles – ovulation disorders contribute to follicle persistence, estrogen and progesterone imbalance – excess estrogen, progesterone deficiency, which provokes cyst formation [7].

According to literature sources, the development of ovarian cysts in children is a consequence of the interaction of a number of etiological factors, among which the most significant are genetic, hormonal, endocrine, intrauterine, inflammatory and external factors. The study of these factors is important for timely diagnosis and development of preventive measures, since knowledge of them allows a better understanding of the mechanisms of development of cystic formations in childhood [9]. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrine pathologies that can be inherited and leads to the development of ovarian cysts. This syndrome is caused by a dysfunction of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis, which leads to abnormal secretion of gonadotropins, increased levels of androgens and disruption of normal ovulation [9, 10]. Hormonal disorders (imbalance of gonadotropins, estrogens and progesterone) are one of the key risk factors is a violation of hormonal balance, in particular excessive or insufficient production of gonadotropins (luteinizing and follicle-stimulating hormones), estrogens and progesterone. This imbalance can lead to disruption of the normal process of ovulation and folliculogenesis, which creates conditions for the persistence of follicles and the formation of cystic formations. For example, increased

прогестерону часто спостерігається у дітей із порушеннями менструації [2, 6, 10]. Порушення функції щитоподібної залози мають безпосередній вплив на функціонування яєчників. Зниження тиреоїдних гормонів при гіпотиреозі може викликати порушення гормональної регуляції, що призводить до утворення кіст. У свою чергу, гіпертиреоз може викликати гормональні дисбаланси, які також створюють умови для розвитку кістозних утворень. Підвищений рівень пролактину може порушувати нормальний менструальний цикл, що призводить до ановуляції та накопичення фолікулів, що не переходять у жовте тіло. Це може сприяти утворенню фолікулярних кіст і є одним із можливих факторів ризику у дітей, які страждають на гіперпролактинемію. Підвищений рівень естрогенів і гонадотропінів у матері під час вагітності здатен проникати через плаценту і впливати на розвиток яєчників плода. Це може призводити до передчасного розвитку фолікулів або їх гіперстимуляції, що збільшує ризик утворення кіст у новонароджених та дітей [10]. Хронічні запальні процеси в органах малого таза можуть порушувати нормальну анатомію та функціональність яєчників, що збільшує ймовірність утворення кіст. Інфекційні агенти, такі як хламідії, гонококи та інші патогени, можуть викликати хронічний оофорит, що призводить до розвитку фолікулярних або ретенційних кіст [11]. Захворювання, що впливають на імунну систему, можуть призвести до аутоімунного ураження яєчників, зокрема при таких станах, як синдром Шегрена або системний червоний вовчак. Це може порушити нормальне функціонування яєчників та сприяти розвитку кіст. Екологічні забруднювачі, пестициди, важкі метали та інші токсичні речовини можуть негативно впливати на ендокринну систему, зокрема на функцію яєчників. Вони можуть змінювати гормональний фон, що створює передумови для розвитку кістозних утворень [12]. Якщо матері приймають гормональні препарати під час вагітності, зокрема естрогени або прогестини, це може спричинити надмірну стимуляцію яєчників плода, що призводить до формування кістозних утворень яєчників новонароджених і дітей.

Таким чином, розвиток кіст яєчників у дітей є результатом взаємодії численних факторів ризику, які включають генетичні, гормональні, ендокринні, внутрішньоутробні, запальні та екологічні чинники. Розуміння цих факторів має велике значення для своєчасної діагностики та визначення методів лікування [13].

Кісти яєчників у дітей є різноманітними за своїми морфологічними, етіологічними та клінічними характеристиками. Класифікація цих утворень є важливим етапом у діагностиці та лікуванні, оскільки кожен тип кісти має свої особливості, які потребують специфічного підходу до лікування. Вони можуть бути класифіковані за різними критеріями, зокрема за походженням, морфологічною структурою, клінічним перебігом та наявністю ускладнень [14].

За походженням кісти яєчників поділяють на такі види

Вроджені кісти – це утворення, які виникають ще на етапі внутрішньоутробного розвитку. Вони можуть бути наслідком порушень процесів органогенезу, таких як аномалії розвитку гонад або порушення гормональної регуляції на ранніх етапах

естрогенів з недостатніми рівнями прогестерону часто спостерігається у дітей із порушеннями менструації [2, 6, 10]. Thyroid dysfunction has a direct impact on ovarian function. Decreased thyroid hormones in hypothyroidism can cause hormonal regulation disorders, which leads to the formation of cysts. In turn, hyperthyroidism can cause hormonal imbalances, which also create conditions for the development of cystic formations. Elevated prolactin levels can disrupt the normal menstrual cycle, leading to anovulation and accumulation of follicles that do not develop into corpus luteum. This can contribute to the formation of follicular cysts and is a possible risk factor in children with hyperprolactinemia. Elevated maternal estrogen and gonadotropin levels during pregnancy can cross the placenta and affect fetal ovarian development. This can lead to premature follicular development or hyperstimulation, which increases the risk of cyst formation in newborns and children [10]. Chronic inflammatory processes in the pelvic organs can disrupt the normal anatomy and function of the ovaries, which increases the likelihood of cyst formation. Infectious agents such as chlamydia, gonococci, and other pathogens can cause chronic oophoritis, leading to the development of follicular or retention cysts. Diseases that affect the immune system can lead to autoimmune damage to the ovaries, such as conditions such as Sjögren's syndrome or systemic lupus erythematosus. This can disrupt normal ovarian function and promote the development of cysts. Environmental pollutants, pesticides, heavy metals, and other toxic substances can negatively affect the endocrine system, including ovarian function. They can alter hormonal levels, which can predispose to the development of cystic lesions [12]. Mothers who take hormonal medications during pregnancy, such as estrogens or progestins, can cause excessive stimulation of the fetal ovaries, leading to the formation of cystic lesions in the ovaries of newborns and children.

Thus, the development of ovarian cysts in children is the result of the interaction of multiple risk factors, including genetic, hormonal, endocrine, intrauterine, inflammatory, and environmental factors. Understanding these factors is of great importance for timely diagnosis and determination of treatment methods [13].

Ovarian cysts in children are diverse in their morphological, etiological and clinical characteristics. The classification of these formations is an important step in the diagnosis and treatment, since each type of cyst has its own characteristics that require a specific approach to treatment. They can be classified according to various criteria, including origin, morphological structure, clinical course and the presence of complications [14].

Ovarian cysts are divided into the following types by origin

Congenital cysts – are formations that arise during the prenatal development. They may be the result of disorders of organogenesis, such as abnormalities of gonadal development or hormonal disorders in the early stages of embryonic development. Congenital

ембріонального розвитку. Вроджені кісти часто є результатом порушень у розвитку фолікулів, що не еволюціонують до нормальних яєчників, і залишаються у формі кістозних структур. Такі кісти можуть бути малими та не викликати клінічних проявів, але в деяких випадках можуть супроводжуватися болем і гормональними порушеннями [15].

Набуті кісти формуються після народження, внаслідок різноманітних ендокринних, гормональних чи запальних порушень у післянатальному періоді. Вони можуть бути пов'язані з порушеннями процесів овуляції, змінами в гормональному фоні або іншими факторами. Наприклад, набута кіста може утворюватися у результаті порушення фолікулярного розвитку або персистенції фолікулів [11].

Відповідно до морфологічної структури загальноприйнятим є поділ на функціональні та органічні кісти.

Функціональні кісти виникають через порушення нормальної функції яєчників, такі як дисфункція овуляції або порушення процесу фолікулогенезу. Ці кісти зазвичай не мають органічної структури і часто зникають самостійно після відновлення нормальної функції яєчників [11].

Органічні кісти мають складнішу морфологічну структуру та зазвичай не зникають самостійно, потребуючи лікування або хірургічного втручання. Ці кісти можуть включати компоненти різних тканин, що свідчить про їх більш складне походження [16–18].

Щодо клінічного перебігу виділяються наступні види кіст. **Безсимптомні кісти** часто виявляються випадково під час ультразвукового дослідження або інших медичних процедур. Вони можуть не проявлятися клінічно і не впливати на загальний стан здоров'я дитини, але їх наявність потребує спостереження та регулярного моніторингу, щоб виключити можливі ускладнення в майбутньому [16]. **Симптоматичні кісти** проявляються певними клінічними ознаками, такими як біль в ділянці живота, дискомфорт, порушення менструального циклу чи гормональні розлади. Вони можуть бути пов'язані з порушеннями овуляції, інфекціями або перекручуванням кісти. Такий перебіг вимагає діагностики та, можливо, терапевтичного втручання, щоб полегшити стан пацієнта і уникнути ускладнень [7, 19]. Клінічні прояви кіст яєчників у дітей демонструють різноманітність, зумовлену як розмірами, так і типом утворення, швидкістю його росту та можливими ускладненнями. Важливо зазначити, що більшість функціональних кіст має перебіг без виражених симптомів і виявляється випадково, здебільшого під час проведення ультразвукових досліджень. Однак збільшення розміру кісти або розвиток ускладнень може призводити до прояву симптомів, які потребують ретельної діагностики та лікування. До найпоширеніших симптомів належать біль у животі, диспепсичні розлади, дизуричний синдром, порушення менструальної функції в підлітків, гормональні зміни, а також ознаки ускладнень [20].

Абдомінальний біль – один з найбільш характерних симптомів наявності кістозних утворень. Характер болю може варіюватися від тупого, що виникає внаслідок механічного натягу капсули яєчника, до гострого, що свідчить про більш серйозні ускладнення, такі як перекрут або розрив кісти. У разі

cysts are often the result of disorders in the development of follicles that do not evolve into normal ovaries and remain in the form of cystic structures. Such cysts may be small and do not cause clinical manifestations, but in some cases they may be accompanied by pain and hormonal disorders [15].

Acquired cysts are formed after birth, as a result of various endocrine, hormonal or inflammatory disorders in the postpartum period. They may be associated with impaired ovulation processes, changes in hormonal levels or other factors. For example, an acquired cyst may form as a result of impaired follicular development or persistence of follicles [11].

According to the morphological structure, it is generally accepted to divide cysts into functional and organic cysts.

Functional cysts arise due to disruption of normal ovarian function, such as ovulatory dysfunction or impaired folliculogenesis. These cysts usually have no organic structure and often disappear on their own after restoration of normal ovarian function [11].

Organic cysts have a more complex morphological structure and usually do not disappear on their own, requiring treatment or surgical intervention. These cysts may include components of different tissues, indicating their more complex origin [16–18].

Regarding the clinical course, the following types of cysts are distinguished. **Asymptomatic cysts** are often detected incidentally during ultrasound examination or other medical procedures. They may not manifest clinically and do not affect the general health of the child, but their presence requires observation and regular monitoring to exclude possible complications in the future [16]. **Symptomatic cysts** are manifested by certain clinical signs, such as abdominal pain, discomfort, menstrual irregularities or hormonal disorders. They may be associated with ovulation disorders, infections or torsion of the cyst. Such a course requires diagnosis and, possibly, therapeutic intervention to alleviate the patient's condition and avoid complications [7, 19]. The clinical manifestations of ovarian cysts in children show diversity, due to both the size and type of formation, the rate of its growth and possible complications. It is important to note that most functional cysts are asymptomatic and are detected incidentally, mostly during ultrasound examinations. However, an increase in the size of the cyst or the development of complications can lead to the manifestation of symptoms that require careful diagnosis and treatment. The most common symptoms include abdominal pain, dyspeptic disorders, dysuric syndrome, menstrual disorders in adolescents, hormonal changes, as well as signs of complications [20].

Abdominal pain is one of the most characteristic symptoms of cystic formations. The nature of the pain can vary from dull, resulting from mechanical tension of the ovarian capsule, to acute, indicating more serious complications, such as torsion or rupture of the cyst. In the case of a small cyst, the pain can be expressed as a feeling of distension or heaviness in the abdomen due to pressure on the surrounding tissues. As the formation grows and its impact on neighboring organs, the pain can become more intense, which is especially characteristic of cases with cyst torsion. Such pain is often similar to the symptoms of appendicitis, and is also

наявності маленької кісти біль може бути виражений як відчуття розпирання або тяжкості в животі через тиск на навколишні тканини. У міру росту утворення та його впливу на сусідні органи біль може ставати інтенсивнішим, що особливо характерно для випадків з перекрутом кісти. Такий біль часто схожий на симптоми апендициту, а також супроводжується нудотою та блюванням через порушення кровопостачання яєчника. У разі утворень великих розмірів біль може іррадіювати в поперекову ділянку або стегно, він виникає через тиск на нервові закінчення малого таза [21]. Диспепсичні порушення при кістах великих розмірів можуть тиснути на шлунок та кишечник, можуть спостерігатися різноманітні диспепсичні симптоми. Це може включати відчуття тяжкості або розпирання в животі, здуття, а також порушення випорожнення у вигляді закрепів або діареї, викликані механічним тиском на кишечник. Нудота та блювання часто виникають через подразнення черевної порожнини, особливо при розриві кісти, коли вміст утворення потрапляє в черевну порожнину, викликаючи запалення [8].

Великі кістозні утворення, що розташовані поруч із сечовим міхуром або сечоводами, можуть викликати механічний тиск на ці органи. Це призводить до порушень нормального сечовипускання, що проявляється частими позивами до сечовипускання або утрудненням при вивільненні сечового міхура. У таких випадках часто спостерігається залишковий об'єм сечі, що значно підвищує ймовірність розвитку інфекцій сечовивідних шляхів.

У дівчаток підліткового віку кісти яєчників можуть спричиняти серйозні ендокринні зміни, пов'язані з порушенням овуляторних процесів. Це може проявлятися у вигляді олігоменореї (рідкісних менструацій) або навіть аменореї (повної відсутності менструацій) через дисфункцію яєчників та відсутність овуляції. У деяких випадках кісти можуть сприяти розвитку менорагії – надмірних менструацій, що виникають через порушення гормонального балансу. Крім того, можуть виникати ациклічні кров'яністі виділення, що є ознакою гормональних порушень, спричинених кістозними утвореннями [7, 11, 22].

Клінічна картина ускладнених кіст має гострі й небезпечні прояви, що потребують негайного медичного втручання. Перекрут кісти, при якому відбувається обертання ніжки утворення, зазвичай супроводжується різким болем, нудотою, блюванням та спазмами м'язів черевної стінки. Це порушує кровообіг в яєчнику і може призвести до некрозу тканин, що вимагає ургентного хірургічного лікування. Розрив кісти викликає внутрішньочеревну кровотечу, що часто супроводжується симптомами геморагічного шоку – різким зниженням артеріального тиску, тахікардією та блідістю шкіри. Інфекційний процес (супурація) в кісті також може призвести до розвитку перитоніту, що виявляється підвищенням температури, ознобом та інтенсивним болем у животі [23].

Діагностика кіст яєчників у дітей є складним та багаторівневим процесом, що потребує комплексного підходу, включаючи аналіз клінічних симптомів, проведення лабораторних досліджень і застосування сучасних інструментальних методів. Особливу увагу

accompanied by nausea and vomiting due to impaired blood supply to the ovary. In large formations, the pain can radiate to the lumbar region or thigh, which occurs due to pressure on the nerve endings of the small pelvis [21]. Dyspeptic disorders In large cysts that can put pressure on the stomach and intestines, a variety of dyspeptic symptoms can be observed. This may include a feeling of heaviness or distension in the abdomen, bloating, and stool disorders in the form of constipation or diarrhea caused by mechanical pressure on the intestines. Nausea and vomiting often occur due to irritation of the abdominal cavity, especially if the cyst ruptures, when the contents of the formation enter the abdominal cavity, causing inflammation [8].

Large cystic masses located near the bladder or ureters can cause mechanical pressure on these organs. This leads to disturbances in normal urination, manifested by frequent urges to urinate or difficulty emptying the bladder. In such cases, residual urine volume is often observed, which significantly increases the likelihood of developing urinary tract infections.

In adolescent girls, ovarian cysts can cause serious endocrine changes associated with impaired ovulatory processes. This can manifest as oligomenorrhea (infrequent menstruation) or even amenorrhea (complete absence of menstruation) due to ovarian dysfunction and lack of ovulation. In some cases, cysts can contribute to the development of menorrhagia – excessive menstruation, which occurs due to hormonal imbalance. In addition, acyclic bleeding may occur, which is a sign of hormonal disorders caused by cystic formations [7, 11, 22].

The clinical picture of complicated cysts has acute and dangerous manifestations that require immediate medical intervention. Torsion of the cyst, in which the leg of the formation rotates, is usually accompanied by sharp pain, nausea, vomiting and spasms of the abdominal wall muscles. This disrupts blood circulation in the ovary, which can lead to tissue necrosis and requires urgent surgical treatment. Rupture of the cyst causes intra-abdominal bleeding, which is often accompanied by symptoms of hemorrhagic shock – a sharp decrease in blood pressure, tachycardia and pale skin. The infectious process (suppuration) in the cyst can also lead to the development of peritonitis, which is manifested by fever, chills and intense abdominal pain [23].

Diagnosis of ovarian cysts in children is a complex and multi-level process that requires an integrated approach, including the analysis of clinical symptoms, laboratory studies and the use of modern instrumental methods. Particular attention should be paid to the specific features of the clinical picture in children, which differ from the manifestations of this pathology in adults. Differentiation with other diseases and timely detection of possible complications are also important [24].

Objective examination allows the doctor to make a preliminary assumption about the presence of a cystic formation, in particular based on the patient's complaints and the results of palpation [25].

When taking the history, it is important to ask about abdominal pain, periodic menstrual irregularities, and symptoms that may indicate compression of surrounding organs, such as dysuria or constipation. In addition, it is necessary to find out whether there have been cases

потрібно приділяти специфічним ознакам клінічної картини у дітей, що відрізняються від проявів цієї патології у дорослих. Також важливим є диференціювання з іншими захворюваннями та своєчасне виявлення можливих ускладнень [24].

Об'єктивне обстеження дозволяє лікарю зробити попереднє припущення щодо наявності кістозного утворення, зокрема на основі скарг пацієнта і результатів пальпації [25].

Під час збору анамнезу важливо з'ясувати наявність болей у животі, періодичних порушень менструального циклу, а також симптоми, які можуть свідчити про компресію навколишніх органів, такі як дизурія чи закрепи. Крім того, необхідно з'ясувати, чи були випадки гострого живота в анамнезі пацієнта, а також зібрати дані про можливі гінекологічні та ендокринні патології в родині.

Під час огляду і пальпації живота можуть бути виявлені пухлиноподібні утворення в нижніх відділах живота, якщо кіста досягла значних розмірів. Важливо також визначити, чи є ознаки подразнення очеревини, які можуть свідчити про наявність ускладнень, таких як перекрут або розрив кісти [26].

Для підлітків гінекологічне обстеження є важливим для оцінки розмірів та консистенції яєчників. У дітей молодшого віку можуть застосовувати ректальне або абдомінальне пальпування для виявлення змін в органах малого таза [16].

Лабораторні тести допомагають не тільки оцінити загальний стан організму, але й виявити ознаки запалення, гормональні порушення та можливі ускладнення [4].

Зазвичай рівень лейкоцитів у крові таких пацієнтів коливається від $4,0$ до $10 \times 10^9/\text{л}$, а ШОЕ становить $2\text{--}15$ мм/год. При наявності ускладнень, таких як запалення або некроз, може спостерігатися лейкоцитоз ($>10,0 \times 10^9/\text{л}$) та підвищення ШОЕ (>20 мм/год). **Біохімічний аналіз крові** використовується для оцінки електролітного балансу та білкового обміну, особливо якщо є підозра на внутрішньочеревну кровотечу, що може призвести до зниження рівня гемоглобіну (менше 110 г/л). Оцінка рівнів ФСГ, ЛГ, естрадіолу та тестостерону допомагає виявити гормональні порушення, пов'язані з кістами. Наприклад, підвищення естрадіолу може вказувати на естрогенпродукуючі кісти, а збільшення тестостерону – на андрогенпродукуючі пухлини. Тести на CA-125, AFP, β -ХГЛ і LDH дозволяють виключити злоякісні пухлини та гермінативні новоутворення.

Інструментальні методи дослідження є важливим етапом у діагностиці кіст яєчників у дітей, оскільки вони дозволяють точно визначити розміри, структуру, характер утворення та виявити можливі ускладнення [26, 27].

Застосування всіх цих методів дозволяє не тільки точно встановити наявність кісти яєчників, але й вчасно виявити можливі ускладнення, що сприяє вибору оптимальної лікувальної тактики.

Основним методом діагностики є УЗД, що дозволяє діагностувати кісти ще на етапі внутрішньоутробного розвитку або в ранньому дитячому віці.

Найкраща візуалізація кіст спостерігається при проведенні високочастотного сонографічного

of acute abdomen in the patient's history, as well as to collect data on possible gynecological and endocrine pathologies in the family.

Abdominal examination and palpation may reveal a tumor-like mass in the lower abdomen if the cyst is large. It is also important to determine whether there is any evidence of peritoneal irritation, which may indicate complications such as torsion or rupture of the cyst [26].

For adolescents, a gynecological examination is important to assess the size and consistency of the ovaries. In younger children, rectal or abdominal palpation may be used to detect changes in the pelvic organs [16].

Laboratory tests help not only to assess the general condition of the body, but also to identify signs of inflammation, hormonal disorders, and possible complications [4].

Typically, the white blood cell count in such patients ranges from 4.0 to $10 \times 10^9/\text{L}$, and the ESR is $2\text{--}15$ mm/h. In the presence of complications such as inflammation or necrosis, leukocytosis ($>10.0 \times 10^9/\text{L}$) and an increase in ESR (>20 mm/h) may be observed. **Blood chemistry** is used to assess electrolyte balance and protein metabolism, especially if intra-abdominal bleeding is suspected, which may lead to a decrease in hemoglobin (less than 110 g/L). Assessment of FSH, LH, estradiol, and testosterone levels helps to identify hormonal disorders associated with cysts. For example, an increase in estradiol may indicate estrogen-producing cysts, and an increase in testosterone may indicate androgen-producing tumors. Tests for CA-125, AFP, β -hCG, and LDH can rule out malignant tumors and germinal neoplasms.

Instrumental research methods are an important stage in the diagnosis of ovarian cysts in children, as they allow for accurate determination of the size, structure, and nature of the formation, and to identify possible complications [26, 27].

The use of all these methods allows not only to accurately determine the presence of an ovarian cyst, but also to identify possible complications in a timely manner, which contributes to the choice of optimal treatment tactics.

The main diagnostic method is ultrasound, which allows you to diagnose cysts even at the stage of intrauterine development or in early childhood.

The best visualization of cysts is observed during high-frequency sonographic examination, especially after 28 weeks of gestation in the fetus and in the first years of life of the child. On ultrasound, ovarian cysts appear as anechoic or hypoechoic structures of rounded shape, located in the lower abdomen. They may be single-chamber (simple cysts) or contain septa, hyperechoic inclusions or detritus, indicating possible complications (hemorrhagic infiltration, inflammatory process [22, 28].

дослідження, особливо після 28 тижня гестації у плода та в перші роки життя дитини. На УЗД кісти яєчників виглядають як анехогенні або гіпоехогенні структури округлої форми, розташовані в нижніх відділах живота. Вони можуть бути однокамерними (прості кісти) або містити перегородки, гіперехогенні вклучення чи детрит, що вказує на можливі ускладнення (геморагічне просочення, запальний процес [22, 28].

Диференційна діагностика

Диференційна діагностика проводиться з іншими кістозними утвореннями черевної порожнини, зокрема з кістами урахуса, гідромукоколюсом, кістами брижі кишечника та кишковими подвоєннями. У разі сумнівних випадків застосовують додаткові методи візуалізації, такі як доплерометрія для оцінки кровопостачання яєчників та магнітно-резонансна томографія (МРТ) для детальнішого аналізу структури кісти [25, 29].

Більшість пренатально та постнатально діагностованих фізіологічних та параоваріальних кіст спонтанно регресують у перші три місяці життя. Між тим приєднання ускладнень оваріальної кісти, перекруту придатків матки, самоампутації і малігнізації можливе в будь-якому віці [30].

У недоношеної дитини з оваріальною кістою, консервативна терапія прогестероном витісняє фетальний гонадотропін і приводить до зникнення кісти в перші 3–4 місяці життя. У разі наявності діабету, ізоімунізації, неімунної водянки, токсемії у матері, виникає стимуляція яєчників зародка і формування великих прогресуючих кіст у зародків і новонароджених. Диференційна діагностика кістозних утворень яєчників у дітей є ключовим етапом клінічного обстеження, оскільки їх симптоми можуть бути схожими з іншими патологіями органів малого таза та черевної порожнини. До основних захворювань, з якими необхідно проводити розмежування, відносяться запальні, хірургічні та функціональні стани [31].

Диференційна діагностика кіст яєчників у дітей базується на комплексному підході, який включає детальний збір анамнезу, клінічний огляд та використання інструментальних методів. Важливу роль у процесі відіграє УЗД, яке дозволяє точно оцінити структуру та характеристики кістозних утворень. У складних випадках, для отримання більш детальних результатів, застосовуються додаткові лабораторні тести (загальний аналіз крові, маркери запальних процесів), а також доплерографія для оцінки кровопостачання яєчників і МРТ для вивчення тканин. Правильне розмежування функціональних, запальних і хірургічних патологій є критично важливим для запобігання помилковим діагнозам і вибору найбільш ефективної стратегії лікування [19].

Лікування кіст яєчників у дітей повинно базуватися на індивідуальному підході, що враховує тип кісти, її розміри, клінічні прояви та наявність ускладнень. У більшості випадків обирається консервативна тактика, але в деяких ситуаціях виникає необхідність хірургічного втручання [5, 32].

Консервативне лікування застосовується у випадках, коли кіста є функціональною, не викликає ускладнень, і її розміри дозволяють спостерігати за її розвитком без оперативного втручання. Це дає змогу

Differential diagnosis

Differential diagnosis is made with other cystic formations of the abdominal cavity, including urachus cysts, hydromucocolpos, intestinal mesenteric cysts and intestinal duplications. In doubtful cases, additional imaging methods are used, such as Doppler to assess the ovarian blood supply and magnetic resonance imaging (MRI) to analyze the cyst structure in more detail [25, 29].

Most prenatally and postnatally diagnosed physiological and paraovarian cysts spontaneously regress within the first three months of life. However, complications of ovarian cysts, adnexal torsion, autoamputation, and malignancy can occur at any age [30].

In a premature child with an ovarian cyst, conservative therapy with progesterone displaces fetal gonadotropin and leads to the disappearance of the cyst in the first 3–4 months of life. In the presence of diabetes, isoimmunization, non-immune dropsy, toxemia in the mother, stimulation of the ovaries of the fetus occurs and the formation of large progressive cysts in fetuses and newborns. Differential diagnosis of ovarian cysts in children is a key stage of clinical examination, since their symptoms may be similar to other pathologies of the pelvic organs and abdominal cavity. The main diseases that need to be differentiated include inflammatory, surgical and functional conditions [31].

Differential diagnosis of ovarian cysts in children is based on a comprehensive approach, which includes a detailed history, clinical examination and the use of instrumental methods. An important role in the process is played by ultrasound, which allows you to accurately assess the structure and characteristics of cystic formations. In complex cases, to obtain more detailed results, additional laboratory tests are used (complete blood count, markers of inflammatory processes), as well as Dopplerography to assess the blood supply to the ovaries and MRI to study tissues. Correct differentiation of functional, inflammatory and surgical pathologies is critically important to prevent misdiagnosis and choose the most effective treatment strategy [19].

Treatment of ovarian cysts in children should be based on an individual approach, taking into account the type of cyst, its size, clinical manifestations and the presence of complications. In most cases, conservative tactics are chosen, but in some situations there is a need for surgical intervention [5, 32].

Conservative treatment is used in cases where the cyst is functional, does not cause complications, and its size allows for monitoring its development without surgical intervention. This avoids unnecessary surgery and allows the body to resolve the problem naturally [33].

Indications for conservative treatment are follicular and luteal cysts up to 5 cm. These formations, as a rule, have an independent regression character and are often

уникнути зайвого хірургічного втручання та дозволяє організму природним чином вирішити проблему [33].

Показаннями до консервативного лікування є фолікулярні та лютеїнові кісти до 5 см. Ці утворення, як правило, мають самостійний характер регресії і часто не супроводжуються вираженими симптомами; відсутність ознаки перекруту, розриву чи кровотечі – консервативна терапія є доцільною; відсутність збільшення розмірів утворень протягом кількох місяців, її спостереження може бути продовжене без хірургічного втручання [34].

Виділяють такі методи консервативного лікування: гормональна терапія – у випадку рецидивуючих функціональних кіст застосовуються комбіновані оральні контрацептиви, що допомагають регулювати менструальний цикл та блокувати подальший розвиток нових кіст [12, 35]; симптоматична терапія – призначення анальгетиків і нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) допомагає зняти больові синдроми, які можуть виникнути внаслідок наявності кісти. Це дозволяє покращити загальний стан пацієнта [36].

Хірургічне лікування

Якщо кіста має ускладнення, або є підозра на пухлинний процес, хірургічне втручання є необхідним. Вибір методу залежить від типу утворення, розміру, наявності ускладнень та підозри на злоякісність [37].

Показаннями до хірургічного лікування є перекрут яєчника або кісти, розрив кісти з внутрішньочеревною кровотечею, кісти великих розмірів (більше 5–7 см), рецидивуючі кісти [25].

Хірургічне втручання є необхідним заходом при лікуванні кіст яєчників у дітей, коли консервативні методи не дають результатів або з'являються ускладнення. Вибір методу оперативного втручання залежить від типу кісти, її розміру, наявності ускладнень та загального стану пацієнта. Лапароскопія є найбільш поширеним методом хірургічного лікування кіст яєчників у дітей через її мінімальний інвазивний характер. Цей метод дозволяє значно знизити ризик післяопераційних ускладнень та забезпечити швидке відновлення пацієнта [38]. Головною перевагою лапароскопії є низький рівень травматизації, оскільки операція проводиться через кілька маленьких проколів, що дозволяє зберегти більшість здорових тканин і зменшити ймовірність ускладнень. Крім того, цей метод забезпечує швидке відновлення пацієнтів, зменшує період госпіталізації і залишає мінімальні рубці, що важливо для підлітків. Після лапароскопії біль зазвичай мінімальний, завдяки використанню сучасних методів анестезії [39]. Операція починається з введення вуглекислого газу в черевну порожнину для створення оптимального простору для маніпуляцій. Далі через маленькі розрізи вводяться лапароскоп і хірургічні інструменти, що дозволяє лікарю бачити операційну зону на моніторі. Кіста акуратно відокремлюється від здорової тканини, після чого її відправляють на гістологічне дослідження. Операція завершується випуском газу з черевної порожнини та закриттям проколів швами [40].

Показання до лапароскопії: функціональні кісти, які не регресують протягом тривалого часу; перекрут

not accompanied by pronounced symptoms; no signs of torsion, rupture or bleeding – conservative therapy is advisable; no increase in the size of the formations for several months, its observation can be continued without surgical intervention [34].

Regarding conservative treatment methods, the following are distinguished. Hormonal therapy – in the case of recurrent functional cysts, combined oral contraceptives are used, which help regulate the menstrual cycle and block the further development of new cysts. Progestogens can be prescribed for hormonal disorders [12, 35]. Symptomatic therapy – the appointment of analgesics and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) helps to relieve pain syndromes that may occur due to the presence of a cyst. This allows to improve the general condition of the patient [36].

Surgical treatment

When a cyst is complicated or suspected of being malignant, surgical intervention is necessary. The choice of method depends on the type of formation, size, presence of complications, and suspicion of malignancy [37].

Indications for surgical treatment include ovarian or cyst torsion, cyst rupture with intra-abdominal bleeding, large cysts (more than 5–7 cm), and recurrent cysts [25].

Surgical intervention is a necessary measure in the treatment of ovarian cysts in children when conservative methods do not give results or complications appear. The choice of surgical intervention method depends on the type of cyst, its size, the presence of complications and the general condition of the patient. Laparoscopy is the most common method of surgical treatment of ovarian cysts in children due to its minimally invasive nature. This method allows to significantly reduce the risk of postoperative complications and ensure a quick recovery of the patient [38]. The main advantage of laparoscopy is a low level of trauma, since the operation is performed through several small punctures, which allows to preserve most of the healthy tissues and reduce the likelihood of complications. In addition, this method ensures a quick recovery of patients, reduces the period of hospitalization and leaves minimal scars, which is important for adolescents. After laparoscopy, pain is usually minimal, thanks to the use of modern methods of anesthesia [39]. The operation begins with the introduction of carbon dioxide into the abdominal cavity to create an optimal space for manipulation. A laparoscope and surgical instruments are then inserted through small incisions, allowing the surgeon to view the surgical area on a monitor. The cyst is carefully dissected from surrounding tissue and sent for histological examination. The operation is completed by releasing gas from the abdominal cavity and closing the punctures with sutures [40].

Indications for laparoscopy: functional cysts that do not regress for a long time; ovarian torsion or cysts that threaten circulatory disorders; cysts up to 7 cm that

яєчника або кісти, що загрожує порушенням кровообігу; кісти до 7 см, які не мають ознак зл�якїсності; рецидивуючі кісти, що не піддаються консервативному лікуванню.

do not have signs of malignancy; recurrent cysts that do not respond to conservative treatment.

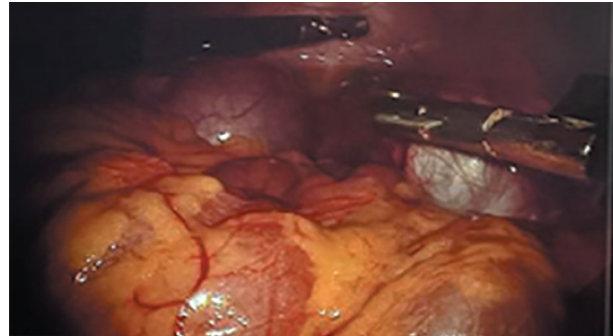
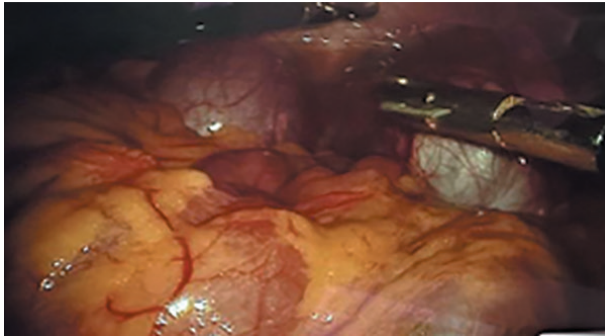


Рис. 1. Дівчинка П.; 15 р. Лапароскопія: двобічна неускладнена параоваріальна кіста
Fig. 1. Girl P.; 15 years old. Laparoscopy: bilateral uncomplicated paraovarian cyst

Лапаротомія – це класичний метод хірургічного втручання, який використовують, коли кісти мають великі розміри або коли виникають ускладнення, такі як розрив з кровотечею. Цей метод передбачає більший розріз, що забезпечує більш широкий доступ до органів, але є більш травматичним порівняно з лапароскопією. Переваги лапаротомії: Основною перевагою лапаротомії є здатність забезпечити більш вільний доступ до великих або складно локалізованих утворень. Цей метод також дозволяє хірургу оглянути всі органи черевної порожнини, що важливо для діагностики супутніх патологій. Операція починається з горизонтального або вертикального розрізу передньої черевної стінки. Після цього хірург отримує доступ до органів і проводить необхідні маніпуляції. При великих кістах або перекрутах може знадобитися оофоректомія або цистектомія. Після завершення операції рана зашивається, і, при необхідності, встановлюється дренаж для відведення рідини [39].

Показаннями до лапаротомії є великі кісти, що не можуть бути видалені лапароскопічним способом; кісти, що розірвалися і призвели до значної кровотечі; підозра на зл�якїсні утворення, що потребують додаткового обстеження органів і тканин. Оофоректомія (видалення яєчника) або аднексектомія (видалення яєчника з матковою трубою) проводиться в крайніх випадках, таких як некроз яєчника після перекруту або підозра на зл�якїсні пухлини. Це радикальний метод, що застосовується для запобігання розвитку серйозних ускладнень. Основною перевагою оофоректомії або аднексектомії є радикальне лікування, яке дозволяє уникнути ускладнень, спричинених некрозом тканин яєчника або наявністю зл�якїсних утворень. Цей метод забезпечує позбавлення від проблеми, але має на увазі втрату функціональності одного з яєчників або всієї трубно-яєчничкової пари [39].

Операція полягає у видаленні яєчника або обох органів через лапаротомний або лапароскопічний доступ, в залежності від розміру і локалізації утворення.

Показаннями до оофоректомії є: некроз тканин яєчника після перекруту; підозра на зл�якїсні пухлини; великі кісти, які призводять до втрати функції яєчника.

Laparotomy is a classic surgical procedure used when cysts are large or when complications such as rupture with bleeding occur. This method involves a larger incision, which provides greater access to the organs, but is more traumatic compared to laparoscopy. Advantages of laparotomy: The main advantage of laparotomy is the ability to provide freer access to large or difficult-to-locate formations. This method also allows the surgeon to examine all the organs of the abdominal cavity, which is important for the diagnosis of concomitant pathologies. The operation begins with a horizontal or vertical incision in the anterior abdominal wall. After that, the surgeon gains access to the organs and performs the necessary manipulations. In case of large cysts or torsions, an oophorectomy or cystectomy may be required. After the operation is completed, the wound is sutured, and, if necessary, a drain is installed to drain the fluid [39].

Indications for laparotomy include large cysts that cannot be removed laparoscopically; cysts that have ruptured and caused significant bleeding; and suspected malignancy that requires additional examination of organs and tissues. Oophorectomy (removal of the ovary) or adnexectomy (removal of the ovary with the fallopian tube) is performed in extreme cases, such as necrosis of the ovary after torsion or suspected malignant tumors. This is a radical method used to prevent the development of serious complications. The main advantage of oophorectomy or adnexectomy is a radical treatment that avoids complications caused by necrosis of ovarian tissue or the presence of malignant tumors. This method provides relief from the problem, but implies the loss of functionality of one of the ovaries or the entire tubo-ovarian pair [39].

The operation consists of removing the ovary or both organs through laparotomy or laparoscopic access, depending on the size and location of the formation.

Indications for oophorectomy are: necrosis of ovarian tissue after torsion; suspicion of malignant tumors; large cysts that lead to loss of ovarian function.

The choice of surgical approach for ovarian cysts in children depends on several factors: cyst size, cyst type, and the presence of complications. Laparoscopy has the advantage of being minimally invasive, with

Вибір методу хірургічного втручання при лікуванні кіст яєчників у дітей залежить від кількох факторів: розмірів кісти, її типу та наявності ускладнень. Лапароскопія має перевагу завдяки мінімальній інвазивності, швидкому відновленню та зниженим ризикам. Однак у випадках великих утворень або підозри на злоякісність, лапаротомія чи оофоректомія можуть бути необхідні для досягнення кращих результатів лікування [38, 41].

Ускладнення кіст яєчників

Перекрут кісти яєчника є одним із найбільш небезпечних ускладнень, що відбувається внаслідок обертання кісти навколо своєї осі разом із судинною ніжкою, яка забезпечує кровопостачання яєчника. Це призводить до порушення кровообігу в органах, ішемії та некрозу, що може згодом призвести до значних ускладнень, включаючи перитоніт. Перекрут може статися через різке або неприродне повернення тіла дитини, а також в умовах наявності довгої ніжки кісти [41]. **Апоплексія яєчника** – розрив кісти яєчника супроводжує внутрішньочеревну кровотечу і може стати загрозою для життя дитини. Зазвичай він виникає внаслідок різкого підвищення внутрішньочеревного тиску, що спричиняється фізичними навантаженнями або травмами. Розрив кісти може призвести до значної крововтрати та потребує негайного медичного втручання [19]. Крововилив у порожнину кісти може статися через розрив вмісту кісти, що призводить до розвитку внутрішньочеревного крововиливу. Це може виникнути через гормональні зміни, травми або механічний тиск на яєчник. Інфікування кісти відбувається при проникненні бактерій в її порожнину, що може призвести до розвитку гнійного процесу, що вимагає термінового медичного втручання. Це ускладнення часто виникає після апоплексії, інвазивних процедур або через вторинне інфікування. Рецидив кісти є одним із найбільш поширених післяопераційних ускладнень, яке є обов'язковим після консервативного лікування, коли частина функціональної активності яєчника зберігається. Гормональні порушення можуть сприяти утворенню нових функціональних кіст. Після оперативного втручання досить частим є формування спайок в малому тазі, що призводить до порушення фертильності та ризику непрохідності маткових труб у майбутньому. Це ускладнення є одним із найсерйозніших і потребує профілактичних заходів. Ендометрит, пельвіоперитоніт і абсцеси можуть виникати через порушення асептики під час операції або при ослабленому імунітеті. Ці ускладнення потребують антибактеріальної терапії та іноді хірургічного лікування для видалення гнійних вогнищ [29].

ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати свідчать, що кістозні утворення яєчників у дітей є поліетіологічними захворюваннями з різноманітними клінічними проявами та неодноточними підходами до лікування в різних країнах. Узагальнені дані підтверджують, що формування кіст яєчників у дітей пов'язане з комплексом факторів: від генетичних і внутрішньоутробних до гормональних та ендокринних порушень. Виявлено чітку вікову градацію патогенетичних механізмів: у плодovому

rapid recovery and reduced risks. However, in cases of large masses or suspected malignancy, laparotomy or oophorectomy may be necessary to achieve better treatment outcomes [38, 41].

Complications of ovarian cysts

Ovarian cyst torsion is one of the most dangerous complications that occurs due to the rotation of the cyst around its axis together with the vascular pedicle that provides blood supply to the ovary. This leads to impaired blood circulation in the organs, ischemia and necrosis, which can subsequently lead to significant complications, including peritonitis. Torsion can occur due to a sharp or unnatural return of the child's body, as well as in the presence of a long cyst pedicle [41]. **Ovarian apoplexy** – rupture of an ovarian cyst is accompanied by intra-abdominal bleeding and can be a threat to the life of the child. It usually occurs due to a sharp increase in intra-abdominal pressure caused by physical exertion or trauma. Rupture of the cyst can lead to significant blood loss and requires immediate medical intervention [19]. Hemorrhage into the cyst cavity can occur due to rupture of the cyst contents, which leads to the development of intra-abdominal hemorrhage. This can occur due to hormonal changes, trauma or mechanical pressure on the ovary. Infection of the cyst occurs when bacteria penetrate into its cavity, which can lead to the development of a purulent process, requiring urgent medical intervention. This complication often occurs after apoplexy, invasive procedures or due to secondary infection. Cyst recurrence is one of the most common postoperative complications, which is mandatory after conservative treatment, when part of the functional activity of the ovary is preserved. Hormonal disorders can contribute to the formation of new functional cysts. After surgery, the formation of adhesions in the small pelvis is quite common, which leads to impaired fertility and the risk of obstruction of the fallopian tubes in the future. This complication is one of the most serious and requires preventive measures. Endometritis, pelvioperitonitis and abscesses can occur due to impaired asepsis during surgery or with weakened immunity. These complications require antibacterial therapy and sometimes surgical treatment to remove purulent foci [29].

DISCUSSION

The obtained results indicate that ovarian cystic formations in children are polyetiological conditions with diverse clinical manifestations and heterogeneous treatment approaches across different countries. Summarized data confirm that the development of ovarian cysts in children is associated with a combination of factors, ranging from genetic and intrauterine influences to hormonal and endocrine disorders. A clear age-related gradation of pathogenetic mechanisms has

та неонатальному періодах домінує вплив материнських і плацентарних гормонів, тоді як у дитячому та пубертатному віці провідну роль відіграють порушення овуляторного циклу та функціональна дисрегуляція гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової осі. Це узгоджується з даними більшості зарубіжних досліджень, де підкреслюється тимчасовий характер функціональних кіст у дівчаток і в підлітковому віці. Разом з тим, у вітчизняних роботах частіше наголошується на ролі екологічних та інфекційних чинників, що, ймовірно, відображає реальність українського контексту. Така розбіжність свідчить про необхідність проведення багатоцентрових досліджень для уточнення внеску різних факторів ризику у виникнення патології. Поділ кіст на функціональні та органічні є загальноприйнятим у світовій практиці. Важливо, що функціональні кісти у більшості випадків мають тенденцію до спонтанного регресу, це дозволяє уникнути необґрунтованого хірургічного втручання. У нашому аналізі підтверджено: найвищу клінічну значущість становлять органічні кісти (дермоїдні, ендометріодні, цистаденоми), які мають високий ризик ускладнень та рецидивів. З клінічної точки зору ключовим є не лише морфологічний тип, а й розмір та динаміка утворення. Як показують результати, саме швидке збільшення розмірів кісти та поява симптомів (біль, порушення менструального циклу, дизурія) є основними показаннями до активного втручання. Ультразвукове дослідження дозволяє визначити не тільки розмір і структуру кісти, але й оцінити кровотік за допомогою доплерографії, що підвищує специфічність диференційної діагностики. Проте навіть УЗД має обмеження, особливо у випадках складних багатокамерних утворень. Саме тому все частіше застосовується МРТ як додатковий метод, хоча його використання обмежене високою вартістю та низькою доступністю у дитячій практиці в Україні. Важливим компонентом сучасної діагностики є лабораторна оцінка рівня гормонів та онкомаркерів. Наш аналіз підтвердив: хоча вони не можуть виступати самостійним критерієм діагностики, ці показники суттєво допомагають у виявленні злоякісного потенціалу та у виборі тактики лікування. Європейські та американські протоколи рекомендують у більшості випадків спостереження та консервативне лікування, особливо при функціональних кістах розміром до 5 см. Лише при наявності ускладнень (перекрут, розрив, внутрішньочеревна кровотеча) або підозрі на пухлинний процес обирається оперативне втручання. В українській практиці, згідно з аналізованими публікаціями, частота оперативних втручань є значно вищою. Це пояснюється як настороженістю лікарів щодо можливих ускладнень, так і обмеженим доступом до сучасних методів динамічного спостереження та малоінвазивних технологій. Така тактика, з одного боку, знижує ризик гострих станів, але з іншого – підвищує ймовірність втрати оваріального резерву та зниження репродуктивної функції у майбутньому. Проведений аналіз підтвердив, що лапароскопія є «золотим стандартом» у разі необхідності оперативного втручання. Вона забезпечує мінімальну травматичність, збереження функціональної тканини яєчника та швидке відновлення пацієнтки. Лапаротомія використовується лише

been identified: during the fetal and neonatal periods, maternal and placental hormones dominate, whereas in childhood and puberty, ovulatory dysfunction and functional dysregulation of the hypothalamic–pituitary–ovarian axis play a leading role. This is consistent with the findings of most international studies, which emphasize the transient nature of functional cysts in girls and adolescents. At the same time, domestic studies more frequently highlight the role of environmental and infectious factors, which likely reflects the realities of the Ukrainian context. Such discrepancies indicate the need for multicenter studies to clarify the contribution of various risk factors to the development of the pathology. The classification of cysts into functional and organic types is generally accepted in global practice. Importantly, functional cysts in most cases tend to regress spontaneously, allowing the avoidance of unnecessary surgical intervention. Our analysis confirmed that organic cysts (dermoid, endometriotic, cystadenomas) carry the greatest clinical significance, as they are associated with a higher risk of complications and recurrence. From a clinical perspective, the key determinants are not only the morphological type but also the size and growth dynamics of the cyst. According to the results, rapid enlargement and the appearance of symptoms (pain, menstrual irregularities, dysuria) represent the main indications for active intervention. Ultrasound examination makes it possible to assess not only the size and structure of the cyst but also blood flow using Doppler imaging, thereby improving the specificity of differential diagnosis. However, even ultrasound has limitations, particularly in cases of complex multilocular formations. For this reason, MRI is increasingly being employed as an additional method, although its use in pediatric practice in Ukraine remains restricted due to its high cost and limited availability. An important component of modern diagnostics is laboratory evaluation of hormone levels and tumor markers. Our analysis confirmed that, although these indicators cannot serve as independent diagnostic criteria, they are valuable in detecting malignant potential and guiding therapeutic decision-making. European and American protocols recommend observation and conservative management in most cases, particularly for functional cysts measuring up to 5 cm. Surgical intervention is reserved for cases of complications (torsion, rupture, intra-abdominal bleeding) or suspicion of neoplastic processes. In Ukrainian practice, according to analyzed publications, the frequency of surgical interventions is significantly higher. This can be explained both by clinicians' concern regarding possible complications and by the limited access to modern methods of dynamic monitoring and minimally invasive technologies. Such a strategy, while reducing the risk of acute conditions, simultaneously increases the likelihood of loss of ovarian reserve and a decline in future reproductive potential. Our analysis confirmed that laparoscopy is the «gold standard» when surgical intervention is required. It ensures minimal trauma, preservation of functional ovarian tissue, and rapid recovery of the patient. Laparotomy is used only in cases of giant cysts or suspicion of malignancy. At the same time, in countries with advanced pediatric gynecology, there is a growing emphasis on strategies of maximal organ preservation–cystectomy rather

у випадках гігантських кіст або підозри на злоякісний процес. Разом з тим, у країнах із розвинутою дитячою гінекологією все частіше застосовується стратегія максимально можливого органозбереження – цистектомія замість овариоектомії. В українських дослідженнях ще трапляються випадки видалення яєчника навіть при доброякісних утвореннях, що свідчить про потребу в оновленні клінічних протоколів. Отримані результати вказують на необхідність диференційованого підходу, що враховує вік пацієнтки, морфологічний тип кісти, динаміку її росту та клінічні прояви. Важливою умовою є впровадження стандартизованих протоколів спостереження за дітьми з функціональними кістами, що дозволить мінімізувати частоту необґрунтованих операцій.

Для наочної демонстрації особливостей клініки, діагностики та лікування кіст у дівчат наводимо клінічний випадок.

Пацієнтка А., 14 р. звернулась зі скаргами на біль у лівій здухвинній ділянці та над лоном. Зі слів пацієнтки, захворіла 05.12.24 р., коли вперше поскаржилась на різкі болі в животі. Самостійно приймала Но-шпу. Позитивної динаміки не відмічалось. Звернувшись у Центральну районну лікарню зі місцем проживання, зі слів матері виконано знеболення та були направлені у комунальне некомерційне підприємство «Вінницька обласна дитяча клінічна лікарня Вінницької обласної Ради», де оглянута черговим хірургом та госпіталізована в дитяче хірургічне відділення №2. Були виконані лабораторні дослідження: загальний аналіз крові, біохімічний аналіз крові, цукор крові, загальний аналіз сечі. В динаміці в загальному аналізі крові спостерігався наростаючий гіперлейкоцитоз з зсувом лейкоцитарної формули вліво. Status localis: Живіт правильної форми, симетричний, при пальпації м'який, дещо болісний при глибокій пальпації в лівій здухвинній ділянці та над лоном. Симптоми подразнення очеревини: негативні. УЗД органів малого таза: виявлено додаткове утворення. В лівому придатку локалізується рідинне утворення розміром 55×53 мм, однокамерне, аваскулярне. На основі об'єктивного обстеження, інструментальних, лабораторних методів обстежень встановлено попередній діагноз: параоваріальна кіста лівого придатка. Дитині після короткої передопераційної підготовки було проведено оперативне лікування (рис. 2). Проведено лапароскопічне усунення перекруту, видалили кістозне утворення. Проведено дренивання черевної порожнини. Післяопераційний період без особливостей.

than oophorectomy. In Ukrainian studies, however, cases of oophorectomy for benign lesions are still reported, highlighting the need for updating clinical protocols. The obtained results emphasize the necessity of a differentiated approach that considers the patient's age, morphological type of the cyst, growth dynamics, and clinical manifestations. A crucial requirement is the implementation of standardized protocols for monitoring children with functional cysts, which would minimize the frequency of unnecessary surgical interventions.

To clearly demonstrate the features of the clinic, diagnosis and treatment of cysts in girls, we present a clinical case below.

Patient A., 14 years old, complained of pain in the left iliac region and above the groin. According to the patient, she fell ill on 05.12.24, when she first complained of sharp abdominal pain. She took No-shpa on her own. No positive dynamics were noted. She applied to the regional hospital with the place of residence, according to the mother, anesthesia was performed and she was sent to the Municipal Non-profit enterprise «Vinnytsia regional clinical hospital of Vinnytsia regional Council», where she was examined by the surgeon on duty and hospitalized in the children's surgical department № 2. Laboratory tests were performed: general blood test, biochemical blood test, blood sugar, general urine test. In the dynamics of the general blood test, increasing hyperleukocytosis with a shift of the leukocyte formula to the left was observed. Status localis: The abdomen is of regular shape, symmetrical. On palpation, soft, slightly painful on deep palpation in the left iliac region and above the groin. Symptoms of peritoneal irritation: negative. Ultrasound of the pelvic organs: additional formation was detected. A liquid formation measuring 55×53 mm, single-chamber, avascular, was localized in the left appendage. Based on objective examination, instrumental, laboratory methods of examination, a preliminary diagnosis was established: paraovarian cyst of the left appendage. The child underwent surgical treatment after a short preoperative preparation (Fig. 2). Laparoscopy was performed, the torsion was eliminated, and the cystic formation was removed. Drainage of the abdominal cavity was performed. The postoperative period was uneventful.



Рис. 2. Лівобічна параоваріальна кіста розміром 55×53 мм
Fig. 2. Left-sided paraovarian cyst measuring 55×53 mm

ВИСНОВКИ

Кістозні ураження яєчників та придатків матки у дітей мають чітку вікову залежність, при цьому найбільша частка випадків припадає на підліткову вікову групу, що пов'язано з інтенсивними гормональними перебудовами в період статевого дозрівання. Основними факторами ризику розвитку цієї патології є порушення ендокринної регуляції, хронічні запальні процеси органів малого таза, а також спадкова схильність до гормонозалежних новоутворень. Клінічна картина може бути неспецифічною, однак наявність болю внизу живота у поєднанні з симптомами нудоти або блювання у дівчаток повинна розглядатися як привід для невідкладного виключення гострої хірургічної патології. Золотим стандартом діагностики на сьогодні залишається ультразвукове дослідження з доплерографічною оцінкою кровотоку у поєднанні з визначенням рівня гормонів і онкомаркерів, що дозволяє не лише встановити характер новоутворення, а й оцінити потенційні ризики його злоякісного переродження. Вибір тактики лікування залежить від віку дитини, морфологічної будови кісти, наявності ускладнень, а також анатомічних особливостей малого таза і черевної порожнини. У новонароджених та дітей раннього віку раннє виконання пункційних втручань під контролем УЗД або лапароскопічних операцій дозволяє запобігти розвитку тубарних ускладнень, таких як атрофія, склероз чи самоампутація придатків. Діаметр кісти понад 5 см, швидке її зростання, ознаки перекуту, розриву, внутрішньої кровотечі чи перитоніту є показаннями до термінового органозберігаючого хірургічного втручання, переважно лапароскопічного доступу. Таким чином, кісти яєчників у дитячому віці становлять актуальну проблему дитячої хірургії та гінекології через складність диференційної діагностики, можливі ускладнення і потенційний вплив на репродуктивне здоров'я в майбутньому. Своєчасне виявлення, правильна діагностична тактика та індивідуалізований підхід до лікування дозволяють зберегти функціональну активність репродуктивної системи та забезпечити оптимальні результати у коротко-і довгостроковій перспективі.

CONCLUSIONS

Cystic lesions of the ovaries and uterine appendages in children have a clear age dependence, with the largest proportion of cases occurring in the adolescent age group, which is associated with intense hormonal changes during puberty. The main risk factors for the development of this pathology are endocrine disorders, chronic inflammatory processes of the pelvic organs, as well as a hereditary predisposition to hormone-dependent neoplasms. The clinical picture may be nonspecific, but the presence of lower abdominal pain in combination with symptoms of nausea or vomiting in girls should be considered as a reason for the immediate exclusion of acute surgical pathology. The gold standard of diagnosis today remains ultrasound with Doppler assessment of blood flow in combination with determination of hormone levels and tumor markers, which allows not only to establish the nature of the neoplasm, but also to assess the potential risks of its malignant transformation. The choice of treatment tactics depends on the age of the child, the morphological structure of the cyst, the presence of complications, as well as the anatomical features of the pelvis and abdominal cavity. In newborns and young children, early puncture interventions under ultrasound control or laparoscopic operations can prevent the development of tubal complications, such as atrophy, sclerosis or self-amputation of the appendages. The diameter of the cyst is more than 5 cm, its rapid growth, signs of torsion, rupture, internal bleeding or peritonitis are indications for urgent organ-preserving surgical intervention, preferably laparoscopic access. Thus, ovarian cysts in childhood are an urgent problem of pediatric surgery and gynecology due to the complexity of differential diagnosis, possible complications and potential impact on reproductive health in the future. Timely detection, correct diagnostic tactics and an individualized approach to treatment allow you to preserve the functional activity of the reproductive system and ensure optimal results in the short and long term.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Kang H. J. Ovarian Cysts. *Problem-Focused Reproductive Endocrinology and Infertility*. 2023. P. 109–113. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-19443-6_17
2. Heo S., Shim Y. S., Lee H. S., et al. Clinical course of peripheral precocious puberty in girls due to autonomous ovarian cysts. *Clinical Endocrinology*. 2024. №100 (1). P. 29–35. DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.14943>
3. Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Elsevier – Health Sciences Division, 2020.
4. Elborno D., Kives S., Hertweck S. P. Ovarian Cysts. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. CRC Press, 2022. P. 198–207. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-34>
5. Luca E., Zitzmann K., Bornstein S., et al. Three Dimensional Models of Endocrine Organs and Target Tissues Regulated by the Endocrine System. *Cancers*. 2023. №15 (18). P. 4601. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers15184601>
6. Pienkowski C., Cartault A., Carfagna L., et al. Ovarian Cysts in Prepubertal Girls. *Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2012. P. 101–111. DOI: <https://doi.org/10.1159/000326627>
7. Renaud E. J., Summe S., Islam S., et al. Ovarian masses in the child and adolescent: An American Pediatric Surgical Association

REFERENCES

1. Kang HJ. Ovarian Cysts. *Problem-Focused Reproductive Endocrinology and Infertility*. 2023;109–113. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-19443-6_17
2. Heo S, Shim YS, Lee HS, Hwang JS. Clinical course of peripheral precocious puberty in girls due to autonomous ovarian cysts. *Clinical Endocrinology*. 2024;100(1):29–35. DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.14943>
3. Developing Human: Clinically Oriented Embryology. Elsevier – Health Sciences Division, 2020.
4. Elborno D, Kives S, Hertweck SP. Ovarian Cysts. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. CRC Press, 2022:198–207. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-34>
5. Luca E, Zitzmann K, Bornstein S, Kugelmeier P, Beuschlein F, Nulting S, Hantel C, et al. Three Dimensional Models of Endocrine Organs and Target Tissues Regulated by the Endocrine System. *Cancers*. 2023;15(18):4601. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers15184601>
6. Pienkowski C, Cartault A, Carfagna L, Ernault P, Vial J, Lemasson F, et al. Ovarian Cysts in Prepubertal Girls. *Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2012:101–11. DOI: <https://doi.org/10.1159/000326627>
7. Renaud EJ, Summe S, Islam S, Cameron DB, Gates RL, Williams RF, et al. Ovarian masses in the child and adolescent: An American

- Outcomes and Evidence-Based Practice Committee systematic review. *Journal of Pediatric Surgery*. 2019. №54 (3). P. 369–377. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2018.08.058>
8. Kovacs G., Briggs P. Ovarian Cysts. *Lectures in Obstetrics, Gynaecology and Women's Health*. 2015. P. 61–62. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-14863-2_12
9. Shah A. A., Likes C. E., Price T. M. Early Polycystic Ovary Syndrome as a Possible Etiology of Unexplained Premenarcheal Ovarian Torsion. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2009. №22 (4). P. 265–269. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpog.2008.11.005>
10. Wenger J. M., Marci R. Endocrine Disruption in Women: A Cause of PCOS, Early Puberty, or Endometriosis. *Environment Impact on Reproductive Health*. 2023. P. 89–111. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-36494-5_5
11. Stankovic Z. Ovarian Cysts and Tumors in Adolescents. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2024. №51 (4). P. 695–710. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2024.08.006>
12. Narmatha C., Manimegalai P., Krishnadass J., et al. Ovarian cysts classification using novel deep reinforcement learning with Harris Hawks Optimization method. *The Journal of Supercomputing*. 2023. №79 (4). P. 1374–1397. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11227-022-04709-8>
13. Vichnin M. Ectopic pregnancy in adolescents. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2008. №20 (5). P. 475–478. DOI: <https://doi.org/10.1097/gco.0b013e32830d0ce1>
14. Stambough K. C., Childress K. J. Ovarian Torsion in Adolescents. *Endometriosis in Adolescents*. 2020. P. 499–509. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-52984-0_28
15. Sadler T. W. Langman's Medical Embryology. 14th Edition, 2018. *Morphologia*. 2019. №13 (4). P. 90–96. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.4.90-96>
16. Ozcan R., Tekant G. T. Ovarian Cysts. *Pediatric Surgery Digest*. 2022. P. 527–528. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-80411-4_34
17. Cistaro A. Ovarian Teratomas. *Atlas of PET/CT in Pediatric Patients*. 2013. P. 151–153. DOI: https://doi.org/10.1007/978-88-470-5358-8_18
18. Bolli P., Schädlein S., Holland-Cunz S., et al. Ovarian torsion in children. *Medicine*. 2017. №96 (43). P. e8299. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000008299>
19. Al-Salem A. H., Haddad M. J., Hamchou M. Ovarian Cysts and Tumors. *Pediatric Gynecology*. 2020. P. 317–372. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-49984-6_17
20. Elborno D., Kives S., Hertweck S. P. Ovarian Masses. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. CRC Press. 2022. P. 208–219. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-35>
21. Dasgupta R., Renaud E., Goldin A. B., et al. Ovarian torsion in pediatric and adolescent patients: A systematic review. *Journal of Pediatric Surgery*. 2018. №53 (7). P. 1387–1391. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2017.10.053>
22. Bertozzi M., Riccioni S., Valoncelli C., et al. The Diagnosis and Management of Ovarian Cysts in Children. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2017. №30 (2). P. 265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpog.2013.01.061>
23. Fischer A. C. Ovarian Torsion. *Endocrine Surgery in Children*. 2017. P. 341–352. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-662-54256-9_25
24. Terzic M., Rapisarda A. M. C., Corte L. D., et al. Diagnostic work-up in paediatric and adolescent patients with adnexal masses: an evidence-based approach. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2020. №4 P. 503–515. DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1755625>
25. Trinh T. W., Kennedy A. M. Fetal Ovarian Cysts: Review of Imaging Spectrum, Differential Diagnosis, Management, and Outcome. *RadioGraphics*. 2015. №35 (2). P. 621–635. DOI: <https://doi.org/10.1148/rg.352140073>
26. Akakpo P. K., Derkyi-Kwarteng L., Quayson S. E., et al. Ovarian Tumors in Children and Adolescents: A 10-Yr Histopathologic Review in Korle-Bu Teaching Hospital, Ghana. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2016. №35 (4). P. 333336. DOI: <https://doi.org/10.1097/pgp.0000000000000257>
27. Lee Y. R. CT Imaging Findings of Ruptured Ovarian Endometriotic Cysts: Emphasis on the Differential Diagnosis with Ruptured Ovarian Functional Cysts. *Korean Journal of Radiology*. 2011. №12 (1). P. 59. DOI: <https://doi.org/10.3348/kjr.2011.12.1.59>
28. Duarte M. L. L. Diagnostic approach of ovarian masses at pediatric age. *Repositório Aberto da Universidade do Porto*. 2016. URL: <https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/89704>
29. Ibraheem Harba A. J., Fakhri K. Ovarian Cyst in Pediatric Age Group. *International Journal of Current Research and Academic Review*. 2017. №5 (3). P. 48–52. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2017.503.008>
30. Nanni M., Merola M. G., Ianniello S., et al. Ovarian Torsion. *Imaging Non-traumatic Abdominal Emergencies in Pediatric Patients*. 2016. P. 205–227. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-41866-7_14
- Pediatric Surgical Association Outcomes and Evidence-Based Practice Committee systematic review. *Journal of Pediatric Surgery*. 2019;54(3):369–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2018.08.058>
8. Kovacs G, Briggs P. Ovarian Cysts. *Lectures in Obstetrics, Gynaecology and Women's Health*. 2015:61–2. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-14863-2_12
9. Shah AA, Likes CE, Price TM. Early Polycystic Ovary Syndrome as a Possible Etiology of Unexplained Premenarcheal Ovarian Torsion. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2009;22(4):265–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpog.2008.11.005>
10. Wenger JM, Marci R. Endocrine Disruption in Women: A Cause of PCOS, Early Puberty, or Endometriosis. *Environment Impact on Reproductive Health*. 2023:89–111. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-36494-5_5
11. Stankovic Z. Ovarian Cysts and Tumors in Adolescents. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2024;51(4):695–710. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2024.08.006>
12. Narmatha C, Manimegalai P, Krishnadass J, Valsalan P, Manimurugan S, Mustafa M. Ovarian cysts classification using novel deep reinforcement learning with Harris Hawks Optimization method. *The Journal of Supercomputing*. 2023;79(4):1374–97. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11227-022-04709-8>
13. Vichnin M. Ectopic pregnancy in adolescents. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2008;20(5):475–8. DOI: <https://doi.org/10.1097/gco.0b013e32830d0ce1>
14. Stambough KC, Childress KJ. Ovarian Torsion in Adolescents. *Endometriosis in Adolescents*. 2020:499–509. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-52984-0_28
15. Sadler TW. Langman's Medical Embryology. 14th Edition, 2018. *Morphologia*. 2019;13(4):90–6. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.4.90-96>
16. Ozcan R, Tekant GT. Ovarian Cysts. *Pediatric Surgery Digest*. 2022:527–8. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-80411-4_34
17. Cistaro A. Ovarian Teratomas. *Atlas of PET/CT in Pediatric Patients*. 2011:151–3. DOI: https://doi.org/10.1007/978-88-470-5358-8_18
18. Bolli P., Schädlein S., Holland-Cunz S., Zimmermann P. Ovarian torsion in children. *Medicine*. 2017;96(43):e8299. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.00000000000008299>
19. Al-Salem AH, Haddad MJ, Hamchou M. Ovarian Cysts and Tumors. *Pediatric Gynecology*. 2020:317–72. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-49984-6_17
20. Elborno D, Kives S, Hertweck SP. Ovarian Masses. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. CRC Press. 2022:208–19. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-35>
21. Dasgupta R., Renaud E., Goldin A. B., Baird R, Cameron DB, Arnold MA, et al. Ovarian torsion in pediatric and adolescent patients: A systematic review. *Journal of Pediatric Surgery*. 2018;53(7):1387–91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2017.10.053>
22. Bertozzi M, Riccioni S, Valoncelli C, Appignani A. The Diagnosis and Management of Ovarian Cysts in Children. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2017;30(2):265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpog.2013.01.061>
23. Fischer AC. Ovarian Torsion. *Endocrine Surgery in Children*. 2017;341–52. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-662-54256-9_25
24. Terzic M, Rapisarda AMC, Corte LD., Manchanda R, Aimagametova G, Norton M, et al. Diagnostic work-up in paediatric and adolescent patients with adnexal masses: an evidence-based approach. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2020;4:503–15. DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1755625>
25. Trinh TW, Kennedy AM. Fetal Ovarian Cysts: Review of Imaging Spectrum, Differential Diagnosis, Management, and Outcome. *RadioGraphics*. 2015;35(2):621–35. DOI: <https://doi.org/10.1148/rg.352140073>
26. Akakpo PK, Derkyi-Kwarteng L, Quayson SE, Gyasi R, Anim J. Ovarian Tumors in Children and Adolescents. A 10-Yr Histopathologic Review in Korle-Bu Teaching Hospital, Ghana. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2016;35(4):333336. DOI: <https://doi.org/10.1097/pgp.0000000000000257>
27. Lee YR. CT Imaging Findings of Ruptured Ovarian Endometriotic Cysts: Emphasis on the Differential Diagnosis with Ruptured Ovarian Functional Cysts. *Korean Journal of Radiology*. 2011;12(1):59. DOI: <https://doi.org/10.3348/kjr.2011.12.1.59>
28. Duarte MLL. Diagnostic approach of ovarian masses at pediatric age. *Repositório Aberto da Universidade do Porto*. 2016. URL: <https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/89704>
29. Ibraheem Harba A. J., Fakhri K. Ovarian Cyst in Pediatric Age Group. *International Journal of Current Research and Academic Review*. 2017;5(3):48–52. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2017.503.008>
30. Nanni M, Merola MG, Ianniello S, Orazi C, Schingo MP, Trinci M. Ovarian Torsion. *Imaging Non-traumatic Abdominal Emergencies in Pediatric Patients*. 2016:205–27. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-41866-7_14

31. Banli-Cesur I., Tanridan-Okcu N., Ozcelik Z. Ovarian masses in children and adolescents: Analysis on 146 patients. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. 2020. №50 (6). P. 101901. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101901>
32. Babloyan S., Shahverdyan N., Ghambaryan H. 99 Our experience of borderline ovarian tumors in adolescents. *International Journal of Gynecological*. 2024. №34 (1). P. A136.2–A137. DOI: <https://doi.org/10.1136/ijgc-2024-esgo.254>
33. Baltrak Y. A., Söğüt S. E., Yavuz A., et al. How should the management of ovarian masses in children? *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2020. №6 (60). P. 88–92. DOI: <https://doi.org/10.23950/jcmk/9270>
34. Bai R., Bonanni J. R., Guo J., et al. Opting for conservative management over surgery for neonatal ovarian cysts. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2024. №52 (6). P. 705–716 DOI: <https://doi.org/10.1002/jcu.23693>
35. PROLOG: Gynecologic Oncology and Critical Care. Seventh Edition. *The American College of Obstetricians & Gynecologists*. 2016.
36. Chafitz O. B., Chemerinski A., McGovern P. Management of Simple Ovarian Cysts. *Topics in Obstetrics & Gynecology*. 2023. №43 (9). P. 6. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.PGO.0000937004.49421.0f>
37. Manzano D., Espinel P. X. C. Surgical Management of Ovarian Mature Cystic Teratoma in a Pediatric Patient: A Case Report. *SAS Journal of Surgery*. 2023. №9 (11). P. 899–905. DOI: <https://doi.org/10.36347/sasjs.2023.v09i11.007>
38. De Silva K. S. H. Ovarian cysts needing surgical intervention in two girls with central precocious puberty receiving treatment. *Sri Lanka Journal of Child Health*. 2012. №41 (2). P. 93. DOI: <https://doi.org/10.4038/sljch.v41i2.4399>
39. Sosa-Stanley J. N., Casey J., Kathryn R. Surgical management of benign enlarged ovarian cysts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2023. №228 (3). P. S949. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2022.12.289>
40. Babazhanova Sh. D., Ibragimova F. A., Ergashev B. B. Management of Ovarian Cysts in Newborns. *International Scientific Journal*. 2025. №4 (3). DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15039904>
41. Elborno D., Kives S., Hertweck S. P. Ovarian/Adnexal Torsion. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2022. №36. P. 220–223. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-36>
31. Banli-Cesur I., Tanridan-Okcu N., Ozcelik Z. Ovarian masses in children and adolescents: Analysis on 146 patients. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. 2020;50(6):101901. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101901>
32. Babloyan S., Shahverdyan N., Ghambaryan H. 99 Our experience of borderline ovarian tumors in adolescents. *International Journal of Gynecological*. 2024;34(1):A136.2-A137. DOI: <https://doi.org/10.1136/ijgc-2024-esgo.254>
33. Baltrak YA, Söğüt SE, Yavuz A, Varlikli O, Terzi H. How should the management of ovarian masses in children? *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2020;6(60):88–92. DOI: <https://doi.org/10.23950/jcmk/9270>
34. Bai R, Bonanni JR, Guo J, Li Z, Yu X, Zeng J, et al. Opting for conservative management over surgery for neonatal ovarian cysts. *Journal of Clinical Ultrasound*. 2024;52(6):705–16 DOI: <https://doi.org/10.1002/jcu.23693>
35. PROLOG: Gynecologic Oncology and Critical Care. Seventh Edition. *The American College of Obstetricians & Gynecologists*. 2016.
36. Chafitz OB, Chemerinski A, McGovern P. Management of Simple Ovarian Cysts. *Topics in Obstetrics & Gynecology*. 2023;43(9):6. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.PGO.0000937004.49421.0f>
37. Manzano D, Espinel PXC. Surgical Management of Ovarian Mature Cystic Teratoma in a Pediatric Patient: A Case Report. *SAS Journal of Surgery*. 2023;9(11):899–905. DOI: <https://doi.org/10.36347/sasjs.2023.v09i11.007>
38. De Silva KSH. Ovarian cysts needing surgical intervention in two girls with central precocious puberty receiving treatment. *Sri Lanka Journal of Child Health*. 2012;41(2):93. DOI: <https://doi.org/10.4038/sljch.v41i2.4399>
39. Sosa-Stanley JN, Casey J, Kathryn R. Surgical management of benign enlarged ovarian cysts. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2023;228(3):S949. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2022.12.289>
40. Babazhanova ShD, Ibragimova FA, Ergashev BB. Management of Ovarian Cysts in Newborns. *International Scientific Journal*. 2025;4(3). DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15039904>
41. Elborno D, Kives S, Hertweck SP. Ovarian/Adnexal Torsion. *Clinical Protocols in Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2022;36:220–3. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781003039235-36>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що обмеження цього огляду зумовлені як попередньо окресленими рамками тематики, часових періодів і типів досліджень, так і доступністю джерел. Пошукова стратегія охоплювала наукометричні бази Scopus, PubMed, MEDLINE та Google Scholar із визначеними датами індексації. Включені роботи відрізнялися за дизайном і методологічною якістю; у частині досліджень ризик упередженості був підвищеним, а міждослідницька варіабельність показників залишалася істотною, що знижує внутрішню валідність сукупних оцінок і обмежує узагальнюваність висновків на інші популяції та клінічні контексти. Для зменшення зазначених впливів застосовано незалежний подвійний відбір та вилучення даних, розширені комбінації ключових слів і логічних операторів.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження у сфері діагностики та лікування кіст яєчників у дівчат мають бути спрямовані на удосконалення неінвазивних методів виявлення новоутворень, зокрема з використанням молекулярно-генетичних маркерів та передових технологій візуалізації (УЗД високої роздільної здатності, МРТ нового покоління). Варто розширити наукове вивчення природного перебігу функціональних кіст у підлітковому віці з метою визначення чітких критеріїв для спостереження, консервативного лікування та оперативного втручання. Особливу увагу слід приділити розробці індивідуалізованих підходів до терапії, які враховують гормональний фон, вік, репродуктивні перспективи та психоемоційний стан пацієнтки. Окрім того, необхідно проводити довгострокові спостереження за пацієнтками, які перенесли хірургічне лікування кіст, щоб оцінити вплив на оваріальний резерв і ризики для майбутньої фертильності. Перспективним напрямком також

Limitations of the study

The authors of the manuscript explicitly acknowledge that the limitations of this review are обусловлені by both the predefined scope of the topic, time periods, and types of studies, as well as by the availability of sources. The search strategy covered the bibliometric databases Scopus, PubMed, MEDLINE, and Google Scholar with specified indexing dates. The included studies varied in design and methodological quality; in some studies, the risk of bias was elevated, and inter-study variability of outcomes remained substantial, which reduces the internal validity of pooled estimates and limits the generalizability of the findings to other populations and clinical contexts. To mitigate these effects, independent dual screening and data extraction, as well as expanded combinations of keywords and logical operators, were applied.

Prospects for further research

Future research in the field of diagnosis and treatment of ovarian cysts in girls should focus on improving non-invasive detection methods, particularly through the use of molecular-genetic markers and advanced imaging technologies (high-resolution ultrasound, next-generation MRI). It is important to expand the scientific study of the natural course of functional cysts in adolescence to establish clear criteria for monitoring, conservative treatment, and surgical intervention. Special attention should be paid to the development of individualized therapeutic approaches that consider hormonal background, age, reproductive potential, and the patient's psycho-emotional condition. Additionally, long-term follow-up of patients who have undergone surgical treatment of ovarian cysts is necessary to assess the impact on ovarian reserve and the risks for future fertility. Another promising direction is the study of the association

є вивчення зв'язку між частотою виникнення кіст яєчників і факторами способу життя, харчування, екологічного середовища, що дозволить розробити ефективні стратегії профілактики.

between the occurrence of ovarian cysts and lifestyle, nutrition, and environmental factors, which could contribute to the development of effective prevention strategies.

Конфлікт інтересів

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

Conflict of interest

The authors of this manuscript hereby 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 matter of the submitted materials or which may have sponsored the conducted research.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що підготовка рукопису здійснювалась виключно на основі відкрито опублікованих наукових джерел. У роботі не використовувались персоналізовані дані пацієнтів, результати первинних клінічних або доклінічних досліджень. У зв'язку з цим отримання схвалення комісії з питань біоетики не вимагалось. Дослідження виконане з дотриманням принципів належної наукової практики та відповідно до міжнародних етичних стандартів, зокрема рекомендацій Комітету з публікаційної етики «COPE» (Committee on Publication Ethics).

Ethics statement

The authors of the manuscript consciously confirm that the preparation of the manuscript was carried out exclusively on the basis of openly published scientific sources. No personalized patient data, nor the results of primary clinical or preclinical studies, were used in this work. Therefore, approval from a bioethics committee was not required. The study was conducted in compliance with the principles of good scientific practice and in accordance with international ethical standards, in particular the recommendations of the Committee on Publication Ethics (COPE).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту (ШІ) для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously confirm that no generative artificial intelligence (AI) tools or services were used in the course of conducting the study or preparing this manuscript for any of the tasks listed in the Generative AI Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work—from conceptualization to final editing—were carried out exclusively by the authors, without the involvement of generative AI.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що первинна медична документація та статистичні бази даних у роботі не використовувалися. Усі твердження та узагальнення підкріплені посиланнями на першоджерела, доступні у відкритому доступі або через наукові бібліотечні ресурси. Додаткові матеріали, що стосуються процесу відбору джерел чи деталізації методології аналізу, можуть бути надані автором-кореспондентом за обґрунтованим запитом.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously confirm that no primary medical documentation or statistical databases were used in this work. All statements and generalizations are supported by references to original sources available in open access or through scientific library resources. Additional materials relating to the source selection process or details of the analytical methodology may be provided by the corresponding author upon reasonable request.

Інформація про фінансування

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України «Розробка сучасних та вдосконалення існуючих методів діагностики, лікування, профілактики та реабілітації хірургічної патології у дітей», номер державної реєстрації: 0123U102436, прикладна, термін виконання: 2023–2027 рр., керівник – завідувач кафедри дитячої хірургії, доктор медичних наук, професор В.С. Коноплицький.

Funding information

This article is part of the planned research project of Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine «Development of modern and improvement of existing methods for diagnosis, treatment, prevention, and rehabilitation of surgical pathology in children», State Registration Number: 0123U102436; applied research; implementation period: 2023–2027; project leader – head of the department of pediatric surgery, Doctor of Medical Sciences, Professor V.S. Konoplytskyi.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Коноплицький Віктор Сергійович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018;

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Konoplytskyi Viktor Serhiiovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the department of pediatric surgery of the National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 56 Pirogov Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;

e-mail: vkonoptytsky@gmail.com

mob.: +38 (067) 766-82-38

Внесок автора: аналіз та інтерпретація результатів, розробка методології, остаточне затвердження статті.

Лойко Євген Євгенович – кандидат медичних наук, доцент кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018;

e-mail: Loikoe@gmail.com

mob.: +38 (067) 424-88-57

Внесок автора: опис клінічного випадку, концепція та дизайн дослідження, збір даних, аналіз та інтерпретація даних.

Гончарук Віктор Борисович – завідувач хірургічного відділення № 2 Комунального некомерційного підприємства «Вінницька обласна дитяча клінічна лікарня Вінницької обласної Ради»; вул. Хмельницьке шосе, буд. 108, м. Вінниця, Україна, 21029;

e-mail: dxirurgiya2@gmail.com

mob.: +38 (067) 178-90-78

Внесок автора: опис клінічного випадку, формування висновків.

Коробко Юрій Євгенійович – кандидат медичних наук, асистент кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018;

e-mail: lundqist747@gmail.com

mob.: +38 (063) 436-99-82

Внесок автора: підготовка ілюстративного матеріалу.

Сасюк Анатолій Іванович – кандидат медичних наук, доцент кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018;

e-mail: spchirurg1976@gmail.com

mob.: +38 (099) 058-28-42

Внесок автора: підготовка ілюстративного матеріалу.

Дуб Анастасія Сергіївна – лікар-інтерн кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України; вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, Україна, 21018;

e-mail: anastasiadub2002@gmail.com

mob.: +38 (097) 408-33-62

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, формулювання висновків.

e-mail: vkonoptytsky@gmail.com

mobile: +38 (067) 766-82-38

Author's contribution: analysis and interpretation of results, development of methodology, final approval of the article.

Loiko Yevhen Yevhenovych – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the department of pediatric surgery of the National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 56 Pirogov Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;

email: Loikoe@gmail.com

mobile: +38 (067) 424-88-57

Author's contribution: description of clinical cases, study concept and design, data collection, data analysis and interpretation.

Honcharuk Viktor Borysovych – Head of surgical department № 2 of the «Vinnytsya Regional Pediatric Clinical Hospital of the Vinnytsia Regional Council»; 108 Khmelnytskyi Highway, Vinnytsya, Ukraine, 21029;

e-mail: dxirurgiya2@gmail.com

mobile: +38 (067) 178-90-78

Author's contribution: description of clinical cases, formation of conclusions.

Korobko Yurii Yevheniiiovych – Candidate of Medical Sciences, Assistant of the department of pediatric surgery of the National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 56 Pirogov Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;

e-mail: lundqist747@gmail.com

mobile: +38 (063) 436-99-82

Author's contribution: preparation of illustrative material.

Sasiuk Anatolii Ivanovych – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the department of pediatric surgery of the National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 56 Pirogov Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;

e-mail: spchirurg1976@gmail.com

mobile: +38 (099) 058-28-42

Author's contribution: preparation of illustrative material.

Dub Anastasiia Serhiivna – intern at the department of pediatric surgery of the National Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 56 Pirogov Str., Vinnytsya, Ukraine, 21018;

email: anastasiadub2002@gmail.com

mobile: +38 (097) 408-33-62

Author's contribution: selection of literary sources on the topic of the work, formulation of conclusions.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
18.08.2025

Отримано після рецензування
Received after review
29.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-14>
УДК: 618.2-06:618.177:615.3:616-092.19 (048.8)



Вагітність внаслідок допоміжних репродуктивних технологій – сучасні тенденції до прогнозування та діагностики ускладнень (огляд літератури)

Коваленко М.М.¹,  <https://orcid.org/0009-0002-1191-6834>, e-mail: niko_pm@ukr.net
Грищенко О.В.²,  <https://orcid.org/0000-0002-8485-7022>, e-mail: gryshchenko1954@gmail.com

¹Товариство з обмеженою відповідальністю
Пологовий будинок «Лелека», Київ, Україна

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

Pregnancy as a result of assisted reproductive technologies – current trends in prediction and diagnosis of complications (literature review)

Kovalenko M.M.¹,  <https://orcid.org/0009-0002-1191-6834>, e-mail: niko_pm@ukr.net
Hryshchenko O.V.²,  <https://orcid.org/0000-0002-8485-7022>, e-mail: gryshchenko1954@gmail.com

¹Limited Liability Company Maternity
Hospital «Leleka», Kyiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University of the
Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

акушерські наслідки, вагітність, гормональні маркери, допоміжні репродуктивні технології, імунні маркери, непліддя, перинатальні наслідки.

Для кореспонденції:

Коваленко Микола Миколайович
Товариство з обмеженою відповідальністю Пологовий будинок «Лелека», акушерське відділення;
вул. Квітки Цісик, буд. 56, м. Київ, Україна, 04057;
e-mail: niko_pm@ukr.net

© Коваленко М.М.,
Грищенко О.В., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Непліддя є вкрай актуальною медичною і соціальною проблемою, частота якої неухильно зростає, незважаючи на сучасні досягнення в медичній галузі. Сучасні підходи до діагностики та лікування причин непліддя вимагають тривалого часу та значних фінансових витрат. На сьогодні допоміжні репродуктивні технології розглядаються як провідний підхід для настання вагітності у подружніх пар з непліддістю.

Мета роботи – визначити основні фактори ризику та маркери діагностики ускладнень вагітності, що вже настала у жінок внаслідок застосування допоміжних репродуктивних технологій шляхом аналізу сучасних літературних джерел, які відображають поточні підходи до вивчення цієї проблематики та шляхи покращення прогнозу для матері та дитини.

Матеріали та методи. Огляд базується на аналізі 118 наукових джерел, опублікованих у період з 2015 по 2025 рр., з використанням провідних наукових баз даних PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar.

Результати. В Україні проблема непліддя є вкрай актуальною, а за сучасними даними 24,3 % жінок репродуктивного віку в Україні мали діагноз «безпліддя», з яких 5,9 % – первинне, а 18,4 % – вторинне. На сьогодні з метою настання вагітності у жінок з непліддям застосовуються інтраутеринна інсемінація, екстракорпоральне запліднення, а також внутрішньоцитоплазматична ін'єкція сперматозоїда. Одним з провідних ускладнень після штучного запліднення є синдром гіперстимуляції яєчників. Вагітність після застосування допоміжних репродуктивних технологій має перебіг у специфічних умовах і характеризується можливістю виникнення плацентоасоційованих ускладнень, а також ускладнень, що пов'язані з невиношуванням. Для прогнозування ускладнень вагітностей, зокрема й після екстракорпорального запліднення, застосовуються дослідження РАРР-А, β-ХГЛ, hPL, PlGF, uЕЗ. Проте, в опрацьованій нами літературі, відсутні відомості про достовірність даних показників у жінок після штучного запліднення в залежності від типу застосованого протоколу екстракорпорального запліднення.

Висновки. З нашої точки зору є доцільним провести динамічне дослідження та порівняльну оцінку гормональних, імунологічних, гемостезіологічних та ультразвукових маркерів у жінок, вагітність яких настала після застосування допоміжних репродуктивних технологій, в залежності від обраного протоколу екстракорпорального запліднення з подальшою розробкою та впровадженням комплексу, спрямованого на покращення акушерських і перинатальних наслідків.

Для цитування:

Коваленко М.М., Грищенко О.В. Вагітність внаслідок допоміжних репродуктивних технологій – сучасні тенденції до прогнозування та діагностики ускладнень (огляд літератури). *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33 № 5(56). С. 877–895. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-14>

Keywords:

obstetric consequences, pregnancy, hormonal markers, assisted reproductive technologies, immune markers, infertility, perinatal consequences.

For correspondence:

Kovalenko Mykola Mykolayovych
Limited Liability Company Maternity
Hospital «Leleka», Obstetrics Department;
56 Kvity Tsisyk Str., Kyiv, Ukraine, 04057;
e- mail: niko_pm@ukr.net

© Kovalenko M.M.,
Hryshchenko O.V., 2025

ABSTRACT

Background. Infertility is an extremely urgent medical and social problem, the frequency of which is steadily increasing despite modern achievements in the medical field. Modern approaches to the diagnosis and treatment of the causes of infertility require a long time and significant financial costs. Currently, assisted reproductive technologies are considered the leading approach for achieving pregnancy in infertile couples.

Purpose – is to identify the main risk factors and diagnostic markers of pregnancy complications that have already occurred in women whose pregnancy occurred as a result of the assisted reproductive technologies by analyzing modern literary sources that reflect current approaches to studying this issue and ways to improve the prognosis for the mother and child.

Materials and Methods. The review is based on the analysis of 118 scientific sources published between 2015 and 2025, using the leading scientific databases PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar.

Results. In Ukraine, the problem of infertility is extremely relevant, and according to current data, 24.3% of women of reproductive age in Ukraine had a diagnosis of «infertility», of which 5.9% were primary, and 18.4% were secondary. Today, intrauterine insemination is used to achieve pregnancy in women with infertility. Insemination, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. One of the leading complications after assisted reproductive technologies is ovarian hyperstimulation syndrome. Pregnancy after assisted reproductive technologies occurs in specific conditions and is characterized by the possibility of placenta-associated complications, as well as complications associated with miscarriage. Currently, PAPP-A, β -hCG, hPL, PIGF, uE3 are used to predict pregnancy complications, including after ART. However, in the literature we reviewed, there is no information about the reliability of these indicators in women after assisted reproductive technologies depending on the type of in vitro fertilization protocol used.

Conclusions. From our point of view, it is advisable to conduct a dynamic study and comparative assessment of hormonal, immunological, hemostasiological and ultrasound markers in women whose pregnancy occurred after the use of assisted reproductive technologies, depending on the selected in vitro fertilization protocol, with the subsequent development and implementation of a complex aimed at improving obstetric and perinatal outcomes.

For citation:

Kovalenko MM, Hryshchenko OV. Pregnancy as a result of assisted reproductive technologies – current trends in prediction and diagnosis of complications (literature review). *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):877-895. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-14>

ВСТУП

Непліддя продовжує залишатися не лише медичною, але й глибоко соціальною проблемою, яка щороку встановлюється у мільйонів людей у всьому світі. За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), непліддя є патологією репродуктивної системи, яка визначається як нездатність до настання вагітності після 12 місяців регулярного незахищеного статевого життя. Однак за межами біологічного аспекту непліддя має потужний психологічний, соціальний та економічний вплив [1–3].

Стигматизація людей, які не можуть завагітніти, досі присутня в багатьох культурах. Особливо це стосується жінок, які можуть зазнавати осуду, соціальної ізоляції, а подекуди – навіть насилля. Крім того, непліддя часто стає причиною емоційного виснаження, депресій, порушень у подружніх стосунках.

INTRODUCTION

Infertility continues to be not only a medical but also a deeply social problem that affects millions of people worldwide every year. According to the World Health Organization (WHO), infertility is a pathology of the reproductive system, defined as the inability to conceive after 12 months of regular unprotected sexual intercourse. However, beyond the biological aspect, infertility has a powerful psychological, social and economic impact [1–3].

Stigma against those who cannot conceive is still present in many cultures. This is especially true for women, who may face stigma, social isolation, and in some cases even violence. Infertility also often causes emotional exhaustion, depression, and marital breakdown. Financially, infertility treatment, especially assisted reproductive technologies (ART), is quite expensive and in many countries is not covered

З фінансового боку лікування непліддя, особливо з використанням допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), є досить високовартісним, а в багатьох країнах не покривається медичним страхуванням, що спричиняє катастрофічні витрати для родин [4–7].

Мета роботи – визначити основні фактори ризику та маркери діагностики ускладнень вагітності, що вже настала у жінок внаслідок застосування допоміжних репродуктивних технологій шляхом аналізу сучасних літературних джерел, які відображають поточні підходи до вивчення цієї проблематики та шляхи покращення прогнозу для матері та дитини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Огляд базується на аналізі 118 наукових джерел, опублікованих у період з 2015 по 2025 рр., з використанням провідних наукових баз даних PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я, близько 17,5% людей репродуктивного віку, що приблизно становить 1 з 6 осіб, стикаються з непліддям протягом життя. При цьому поширеність даного стану є майже однаковою в країнах із різним рівнем доходу: у країнах з високим доходом – 17,8%, у країнах з низьким і середнім доходом – 16,5%. Поточна поширеність (тобто частка людей, які мають непліддя протягом останніх 12 місяців) становить близько 12,6% [3].

Упродовж останніх десятиліть поширеність непліддя має поступову тенденцію до зростання. За даними аналітичних досліджень, у 2021 р. було зареєстровано близько 110 мільйонів жінок та 55 мільйонів чоловіків, які страждали на непліддя. У жінок стандартизований показник поширеності сягав 3730 випадків на 100 000 осіб, у чоловіків – 1821 на 100 000. Найвищі показники у жінок спостерігаються в Східній Азії, а у чоловіків – у Східній Європі [8].

Непліддя поділяють на первинне (якщо вагітності не було жодного разу) та вторинне (якщо вагітність у минулому була, але більше не настає). За світовими даними, первинне непліддя має lifetime-поширеність – 9,6%, а вторинне – 6,5%. У контексті періодної поширеності ці показники становлять 9% та 4,9% відповідно [3].

Щодо причин, то найбільш поширеною причиною жіночого непліддя автори визнають синдром полікістозних яєчників (СПКЯ), на який страждають від 6 до 13% жінок. Це пов'язане з тим, що він і є однією з провідних причин ановуляції. Також вагому роль відіграє ендометріоз – до 50% жінок із цією патологією мають труднощі із зачаттям. Крім того, поширеними є трубно-перитонеальні фактори, які досить часто є наслідками запальних захворювань жіночих статевих органів та перенесених хірургічних втручань. Чоловічий фактор непліддя не поступається по значущості жіночому, і є причиною відсутності настання вагітності у майже половини всіх випадків непліддних пар. За даними статистики, протягом останніх 50 років відзначається стабільне зниження концентрації сперматозоїдів, зокрема через вплив ендокринних

by health insurance, resulting in catastrophic costs for families [4–7].

Objective – is to identify the main risk factors and diagnostic markers of pregnancy complications that have already occurred in women whose pregnancy occurred as a result of the assisted reproductive technologies by analyzing modern literary sources that reflect current approaches to studying this issue and ways to improve the prognosis for the mother and child.

MATERIALS AND METHODS

The review is based on the analysis of 118 scientific sources published between 2015 and 2025, using the leading scientific databases PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar.

RESULTS AND DISCUSSION

According to WHO estimates, about 17.5% of reproductive age people, which is approximately 1 in 6 people, will experience infertility during their lifetime. The prevalence of this condition is almost the same in countries with different income levels: in high-income countries – 17.8%, in low- and middle-income countries – 16.5%. The current prevalence (i.e. the proportion of people who have experienced infertility in the past 12 months) is about 12.6% [3].

The prevalence of infertility has been gradually increasing over the past decades. According to analytical studies, in 2021, about 110 million women and 55 million men were registered as suffering from infertility. In women, the standardized prevalence rate was 3731 cases per 100.000 people, in men – 1821 per 100.000. The highest rates in women are observed in East Asia, and in men – in Eastern Europe [8].

Infertility is divided into primary (if there has never been a pregnancy) and secondary (if there has been a pregnancy in the past, but it no longer occurs). According to world data, primary infertility has a lifetime prevalence of 9.6%, and secondary – 6.5%. In the context of periodic prevalence, these figures are 9% and 4.9%, respectively [3].

As for the causes, the authors recognize that the most common cause of female infertility is polycystic ovary syndrome (PCOS), which affects 6 to 13% of women. This is due to the fact that it is one of the leading causes of anovulation. Endometriosis also plays a significant role – up to 50% of women with this pathology have difficulty conceiving. In addition, tubo-peritoneal factors are common, which are quite often the result of inflammatory diseases of the female genital organs and surgical interventions. The male factor of infertility is not inferior in importance to the female factor and is the cause of the absence of pregnancy in almost half of all cases of infertile couples. According to statistics, over the past 50 years there has been a steady decline in sperm concentration, in particular due to the influence of endocrine disruptors, bad habits, stress, a sedentary lifestyle, etc. [9–14].

дизрупторів, шкідливих звичок, стресу, малорухливого способу життя, тощо [9–14].

У 10–15% випадків діагностується ідіопатичне (непояснене) непліддя, коли не вдається виявити очевидної причини, незважаючи на повноцінне обстеження обох партнерів [2, 15].

В Україні, за результатами досліджень останніх років, проблема непліддя є ще гострішою, ніж у більшості країн світу. Згідно з даними 2019–2021 рр., поширеність непліддя серед пар репродуктивного віку сягала 25,4 %, з яких 5,8 % – первинне, а 19,6 % – вторинне. У більш новому дослідженні (2021–2023 рр.) вказано, що 24,3 % жінок репродуктивного віку в Україні мали діагноз «безпліддя», з яких 5,9 % – первинне, а 18,4 % – вторинне [16, 17].

Основними чинниками непліддя серед українських подружніх пар є: вікові зміни, ендометріоз, наслідки запальних захворювань органів малого таза, аборти в анамнезі, зменшення оваріального резерву, хірургічні втручання та перенесені інфекції, зокрема хламідійна інфекція. Великої актуальності набуває проблема непліддя серед подружніх пар, які мешкають у безпосередній близькості до фронтальної зони, що пояснюється погіршенням доступу до медичних послуг та підвищенням психоемоційним навантаженням, що вкрай негативно впливає на якість репродуктивного здоров'я [15–18].

Проблема непліддя в Україні потребує системного вирішення. Це включає просвітницькі кампанії, доступні програми прегравідарної підготовки, державну підтримку програм допоміжних репродуктивних технологій та розширення медичного страхування на послуги репродуктології. Окрему увагу слід приділяти психологічній підтримці пар, які стикаються з проблемами зачаття [19, 20].

З огляду на тяжку демографічну ситуацію, яка на сьогодні складається в Україні, на особливу увагу заслуговують сімейні пари із встановленим діагнозом «непліддя». Слід зауважити, що непліддя в академічному сенсі не є діагнозом, а розглядається більше як симптом, що супроводжує різні патологічні стани в гінекології: лейоміому матки, ендометріоз, СПКЯ та інші. Сучасна медицина має в своєму розпорядженні широкий спектр методів лікування цих станів, які підбираються індивідуально – залежно від причини, тривалості непліддя, віку подружжя, стану оваріального резерву, наявності супутньої патології та фінансових можливостей пари. Одним із ключових напрямків сучасної терапії непліддя є застосування внутрішньоматкової інсемінації, допоміжних репродуктивних технологій з *in vitro* заплідненням (IVF), що включає також внутрішньоцитоплазматичну ін'єкцію сперматозоїда (ICSI). Особливе значення має правильний вибір протоколу стимуляції овуляції, який безпосередньо впливає на кількість отриманих ооцитів, якість ембріонів та загальну успішність циклу [2, 21, 22].

Проте, в арсеналі лікарів-репродуктологів на першому місці знаходяться консервативні методи лікування, які використовуються на першому етапі до початку застосування високотехнологічних ДРТ. Дані підходи спрямовуються на усунення чинників, що можуть бути кориговані з використанням менш інвазивних способів [2, 23, 24].

In 10–15% of cases, idiopathic (unexplained) infertility is diagnosed, when no obvious cause can be identified despite a complete examination of both partners [2, 15].

In Ukraine, according to recent studies, the problem of infertility is even more acute than in most countries of the world. According to data from 2019–2021, the prevalence of infertility among couples of reproductive age reached 25.4%, of which 5.8% were primary and 19.6% were secondary. A more recent study (2021–2023) indicated that 24.3% of women of reproductive age in Ukraine had a diagnosis of «infertility», of which 5.9% were primary and 18.4% were secondary [16, 17].

The main factors of infertility among Ukrainian couples are: age-related changes, endometriosis, consequences of pelvic inflammatory diseases, previous abortions, decreased ovarian reserve, surgical interventions and previous infections, in particular chlamydial infection. The problem of infertility among couples living in close proximity to the frontline zone is becoming increasingly urgent, which is explained by the deterioration of access to medical services and increased psycho-emotional stress, which has an extremely negative impact on the quality of reproductive health [15–18].

The problem of infertility in Ukraine requires a systemic solution. This includes educational campaigns, accessible pre-pregnancy training programs, state support for assisted reproductive technology programs, and the expansion of health insurance to reproductive services. Special attention should be paid to psychological support for couples facing problems with conception [19, 20].

Given the difficult demographic situation that currently exists in Ukraine, couples with a diagnosis of «infertility» deserve special attention. It should be noted that infertility in the academic sense is not a diagnosis, but is considered more as a symptom accompanying various pathological conditions in gynecology: uterine leiomyoma, endometriosis, PCOS and others. Modern medicine has at its disposal a wide range of methods for treating these conditions, which are selected individually – depending on the cause, duration of infertility, age of the spouses, state of ovarian reserve, presence of concomitant pathology and financial capabilities of the couple. One of the key areas of modern infertility therapy is the use of intrauterine insemination, assisted reproductive technologies with *in vitro* fertilization (IVF), which also includes intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Of particular importance is the correct choice of ovulation stimulation protocol, which directly affects the number of oocytes retrieved, the quality of embryos and the overall success of the cycle [2, 21, 22].

However, in the arsenal of reproductive medicine doctors, conservative treatment methods are the first choice, which are used in the first stage before the use of high-tech ART. These approaches are aimed at eliminating factors that can be corrected using less invasive methods [2, 23, 24].

Drug stimulation of ovulation may be indicated for women with infertility resulting from anovulatory cycles. Clomiphene citrate or letrozole are most commonly used to induce ovulation, either alone or in combination with gonadotropins. The use of these drugs is one of the first stages of therapy, which has a relatively low cost and moderate effectiveness (pregnancy rates of up to 20–25% per cycle). [24–27].

Медикаментозна стимуляція овуляції може бути показаною жінкам з непліддям, що є наслідком ановуляторних циклів. Для отримання овуляції найчастіше використовуються кломіфен цитрат або летрозол як самотійно, так і у комбінації з гонадотропінами. Застосування даних препаратів є одним з перших етапів терапії, який має відносно низьку вартість і помірну ефективність (частота вагітностей до 20–25 % за цикл [24–27]).

До інвазивних підходів відноситься хірургічне лікування, яке використовується як у чоловіків, так і у жінок, і може бути показано пацієнтам у випадках наявності анатомічної патології, такої як ендометріоз, внутрішньоматковий синехії, гідросальпікс, гіперплазія ендометрія, поліпи, при субмукозній локалізації вузлів лейоміоми. У чоловіків інвазивні підходи частіше за все зводяться до хірургічної корекції варикоцеле, що може покращити якість сперми. Проте, довготривалі репродуктивні результати при застосуванні хірургічних методів лікування як у чоловіків, так і у жінок, залишаються предметом подальших фахових дискусій [28–30].

Ще одним з методів, який доволі часто використовується в сучасній репродуктології, є інтраутеринна інсемінація (IUI), яка передбачає введення попередньо обробленої сперми безпосередньо в порожнину матки. Даний підхід може застосовуватись при легких формах чоловічого непліддя, цервікальному факторі жіночого непліддя, в разі непліддя нез'ясованої етіології. Частота настання успішних вагітностей при використанні IUI є незначною і становить приблизно 10–15% за цикл [31–33].

На сьогодні найбільш поширеним підходом, що дозволяє отримати омріяну вагітність мільйонам пар у всьому світі, є допоміжні репродуктивні технології (ДРТ), які є найефективнішим методом лікування при трубному, трубно-перитонеальному, тяжкому чоловічому, ендометріюідному, віковому або ідіопатичному типах непліддя. Його суть полягає в контрольованій стимуляції яєчників, заборі зрілих ооцитів, заплідненні їх поза організмом та перенесенні ембріона до матки. Основні етапи ДРТ включають: стимуляцію суперовуляції, під час якої жінці пропонуються гормональні препарати, що провокують розвиток фолікулів у великій кількості в яєчниках; стимуляція овуляції, яка передбачає введення препаратів хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) або агоністів гонадотропін-рилізінг гормону (GnRH-агоністів), яке викликає дозрівання ооцитів з наступною їх пункцією через 34–36 годин під контролем УЗД з трансвагінальною аспірацією ооцитів. В подальшому виконується класичне, або ICSI запліднення. Зазвичай, культивування ембріонів триває від 3 до 5 діб, після чого відбувається свіжий ембріотрансфер (ЕТ) або відтермінований (FET). З перших днів настання вагітності у разі застосування ДРТ призначається підтримка лютеїнової фази мікронізованими (перорально / суббукально / вагінально) або ін'єкційними формами прогестерону. Середній відсоток успішних ДРТ у жінок до 40 років становить 30–50% за цикл, кумулятивна ж успішність сягає 60–70% за 3–4 цикли [34–39].

Певна різниця у виконанні процедури ДРТ стосується протоколів, які використовуються. Застосування довгого протоколу (long protocol) передбачає

Invasive approaches include surgical treatment, which is used in both men and women and may be indicated in patients in cases of anatomical pathology, such as endometriosis, intrauterine synechiae, hydrosalpinx, endometrial hyperplasia, polyps, with submucosal localization of leiomyoma nodes. In men, invasive approaches are most often reduced to surgical correction of varicocele, which can improve sperm quality. However, long-term reproductive outcomes when using surgical treatments in both men and women remain the subject of further professional discussions. [28–30].

That one of the methods that is quite often used in modern reproductive medicine is intrauterine insemination (IUI), which involves the introduction of pre-treated sperm directly into the uterine cavity. This approach can be used for mild forms of male infertility, cervical factor of female infertility, in case of infertility of unknown etiology. The frequency of successful pregnancies with the use of IUI is insignificant and is approximately 10–15% per cycle [31–33].

Today, the most common approach that allows millions of couples around the world to achieve their dream pregnancy is assisted reproductive technologies (ART), which are the most effective treatment for tubal, tubo-peritoneal, severe male, endometrioid, age-related or idiopathic types of infertility. Its essence lies in the controlled stimulation of the ovaries, the collection of mature oocytes, their fertilization outside the body and the transfer of the embryo to the uterus. The main stages of ART include: stimulation of superovulation, during which the woman is offered hormonal drugs that provoke the development of follicles in large numbers in the ovaries; stimulation of ovulation, which involves the administration of hCG drugs or gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRH-agonists), which causes the maturation of oocytes with their subsequent puncture after 34–36 hours under ultrasound control with transvaginal aspiration of oocytes. Subsequently, classical or ICSI fertilization is performed. Usually, embryo cultivation lasts from 3 to 5 days, after which fresh embryo transfer (ET) or deferred (FET) takes place. From the first days of pregnancy, in the case of ART, luteal phase support is prescribed with micronized (oral / subbuccal / vaginal) or injectable forms of progesterone. The average percentage of successful ART in women under 40 years of age is 30–50% per cycle, while the cumulative success rate reaches 60–70% for 3–4 cycles [34–39].

Some differences in the ART procedures performed relate to the protocols used. The use of a long protocol involves the preliminary use of GnRH-agonists to achieve pituitary suppression before the start of stimulation. The introduction of GnRH-agonists begins on the 19–21st day of the previous menstrual cycle, 10–14 days after which ovulation stimulation with gonadotropins begins. The main advantages of long protocol include a clearer control of the cycle, a larger number of oocytes retrieved, and a lower risk of premature luteinizing peak. At the same time, this type of protocol also has certain disadvantages, the main ones of which are a longer duration (6–7 weeks), a larger number of injections, which leads to higher material costs. Also, this protocol increases the likelihood of developing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) [34, 36, 40, 45].

попереднє застосування GnRH-агоністів для досягнення супресії гіпофіза ще до початку стимуляції. Введення GnRH-агоністів розпочинається з 19–21 дня попереднього менструального циклу, через 10–14 днів після якого розпочинається стимулювання овуляції гонадотропінами. До основних переваг long protocol'у відносять більш чіткий контроль за циклом, більшу кількість ооцитів, що отримується, а також менший ризик передчасного лютеїнізуючого піку. В той ж час даний тип протоколу має й певні недоліки, до основних з яких відносяться довша тривалість (6–7 тижнів), більша кількість ін'єкцій, що призводить до більшої кількості матеріальних витрат. Також, саме при даному протоколі збільшується ймовірність розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників (СГЯ) [34, 36, 40, 45].

Застосування короткого протоколу (short protocol) передбачає введення GnRH-агоністів з 2–3 дня менструального циклу одночасно, що робить даний тип протоколу більш дешевшим і менш агресивним. До основних переваг short protocol'у відносять більш короткий цикл, який триває 2–3 тижні, менший ризик розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників (СГЯ), а також даний тип може бути опцією для пацієнок з низьким оваріальним резервом. До недоліків відносять меншу кількість ооцитів, а також більш високу ймовірність невдач через недостатню відповідь яєчників [36, 41].

Найбільш сучасним протоколом на сьогодні прийнято вважати антагоністний протокол (GnRH-antagonist protocol), суть якого полягає у початку стимуляції гонадотропінами з 2–3 дня менструального циклу. На 5–6 день додаються GnRH-агоністи, мета яких спрямована на запобігання передчасного піку ЛГ. Даний протокол поєднує в собі переваги як довгого, так і короткого: має кращу переносимість пацієнтками, менший ризик СГЯ, є коротким та зручним і виконується з використанням меншої кількості препаратів, що дозволяє не збільшувати його вартість для пацієнтки. До основних недоліків відносять ймовірність отримання меншої кількості ооцитів, проте клінічні результати зазвичай є подібними результатам довгого протоколу [42–46].

В окремих випадках можливо використання так званої «м'якої стимуляції» (mild IVF), яка передбачає використання мінімальних доз препаратів, зокрема й пероральних форм (летрозол, кломіфен). До переваг mild IVF відносять меншу ймовірність побічних ефектів, а також нижчу вартість, але й як недолік – меншу кількість ембріонів [47–49].

Запліднення в натуральному циклі має на меті використання єдиного домінуючого фолікула, отриманого без попередньої стимуляції, так само як і ембріон, який отримується при природній овуляції. Даний тип запліднення обирають при наявності протипоказань до використання гормональних препаратів, або якщо у жінки значно знижений оваріальний резерв. Також, в окремих випадках можливо застосування ультра-довгого протоколу, який частіше за все використовується при тяжких формах ендометріозу або при аденоміозі і передбачає тривале, протягом 2–3 місяців, введення GnRH-агоністів з подальшою стимуляцією овуляції [50–52].

Беззаперечним є факт, що вагітність, яка настала після лікування безпліддя внаслідок застосування ДРТ, зокрема екстракорпорального запліднення,

Using the short protocol involves the introduction of GnRH-agonists from the 2nd-3rd day of the menstrual cycle at the same time, which makes this type of protocol cheaper and less aggressive. The main advantages of short protocol include a shorter cycle lasting 2–3 weeks, a lower risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), and it may be an option for patients with low ovarian reserve. Disadvantages include a lower number of oocytes and a higher risk of failure due to insufficient ovarian response [36, 41].

The most modern protocol today is considered to be the antagonist protocol (GnRH-antagonist protocol), the essence of which is to start stimulation with gonadotropins from the 2nd–3rd day of the menstrual cycle. On the 5th–6th day, GnRH-agonists are added, the purpose of which is to prevent a premature LH peak. This protocol combines the advantages of both the long and short ones: it has better tolerability by patients, a lower risk of OHSS, is short and convenient and is performed using a smaller amount of drugs, which allows not to increase its cost for the patient. The main disadvantages include the possibility of obtaining a smaller number of oocytes, however, clinical results are usually similar to the results of the long protocol [42–46].

In some cases, it is possible to use the so-called «mild stimulation» (mild IVF), which involves the use of minimal doses of drugs, including oral forms (letrozole, clomiphene). The advantages of mild IVF include a lower probability of side effects, as well as lower cost, but also a disadvantage – a smaller number of embryos [47–49].

Natural cycle fertilization aims to use a single dominant follicle obtained without prior stimulation, as well as an embryo obtained during natural ovulation. This type of fertilization is chosen if there are contraindications to the use of hormonal drugs, or if the woman has a significantly reduced ovarian reserve. Also, in some cases, it is possible to use an ultra-long protocol, which is most often used in severe forms of endometriosis or adenomyosis and involves prolonged, for 2–3 months, the administration of GnRH-agonists with subsequent stimulation of ovulation [50–52].

It is an indisputable fact that pregnancy that occurs after infertility treatment due to the ART, in particular in vitro fertilization, is accompanied by an increased risk of a number of complications, mainly associated with the presence of factors that led to infertility in the couple, as well as with impaired implantation processes, formation and functioning of the placenta [53–57].

Usually, the first trimester is crucial for the further prolongation and course of pregnancy, its successful completion. In the first trimester, the most frequent complications of pregnancy due to the ART are threatened miscarriage, which manifests itself in 20–40% of patients and in every third case is accompanied by termination of pregnancy. This complication is associated with hormonal disruptions, imbalance, as well as with impaired receptor sensitivity of the endometrium [58–63].

One of the leading complications of the first trimester of pregnancy in women after ART is OHSS, in which the embryo implantation process is disrupted, causing a delay in the gestational sac development [64, 65].

OHSS can manifest itself even before pregnancy, but the most severe clinical variants develop after

супроводжується підвищенням ризиком щодо виникнення цілої низки ускладнень, пов'язаних переважно із наявністю факторів, що призвели до безпліддя в подружній парі, а також з порушенням процесів імплантації, формування і функціонування плаценти [53–57].

Зазвичай саме перший триместр є вирішальним щодо подальшого пролонгування та перебігу вагітності, її успішного завершення. В першому триместрі найбільш частими ускладненнями вагітностями внаслідок застосування ДРТ є загрозливе її невиношування, що маніфестує у 20–40% пацієнток і в кожному третьому випадку супроводжується перериванням вагітності. Дане ускладнення пов'язують з гормональними збоями, дисбалансом, а також з порушенням рецепторної чутливості ендометрія [58–63].

Одним з провідних ускладнень першого триместру вагітності у жінок після застосування ДРТ є СГЯ, при якому відбувається порушення процесу імплантації ембріона, спричиняючи затримку розвитку гестаційного мішка [64, 65].

СГЯ може проявлятися ще до настання вагітності, але найбільш тяжкі варіанти клінічного перебігу розвиваються вже після імплантації ембріона, коли спостерігається збільшення рівня хоріонічного гонадотропіну, який стимулює подальше вироблення ендогенних гонадотропінів, як наслідок відбувається підтримка персистенції жовтих тіл і збільшення продукції судинно-активних факторів. Це призводить до підвищеної проникності судин, переміщення рідини в третій простір (асцит, гідроторакс), гіповолемії, згущення крові, електролітних порушень і навіть тромбоемболічних ускладнень [66, 67].

Клінічно СГЯ проявляється суттєвим збільшенням яєчників, більше 10 см, болем у нижній частині живота, нудотою, блюванням, здуттям живота, задишкою при накопиченні рідини в черевній або плевральній порожнинах. При тяжкому перебігу може виникнути гіпотензія, олігурія, гіпопротеїнемія, тромбофілічні події. І хоча в легких випадках СГЯ може пройти самостійно, у тяжких ситуаціях необхідна госпіталізація, інфузійна терапія, контроль біохімічних показників (особливо згортальної системи крові, гематокриту) та динаміки розвитку вагітності [66, 68].

Окремо варто зазначити, що при настанні вагітності на фоні СГЯ стан пацієнтки може погіршуватися протягом перших 2–3 тижнів гестації через подальше зростання рівня ХГЛ, особливо при багатоплідній вагітності. Тому ведення даних пацієнток вимагає ретельного спостереження, часто в умовах стаціонару, а також міждисциплінарної взаємодії між репродуктологом, акушером-гінекологом та лікарем внутрішньої медицини [67–69].

Незважаючи на світові тенденції у діяльності репродуктологів щодо доцільності переносу декількох ембріонів, у 20–30% випадків він все ж таки має місце, що значно збільшує ймовірність виникнення ускладнень, пов'язаних з багатоплідною вагітністю, а також гетеротопічна ектопічна вагітність, яка вимагає виконання невідкладного оперативного втручання [70–73].

Вже починаючи з 16 тижня вагітності, в другому триместрі, зростає ризик передчасного розриву плодових оболонок, інфекційних ускладнень, зокрема й хоріоамніоніту, а також формування патології плацентації. У жінок після застосування ДРТ частіше

embryo implantation, when there is an increase in the level of chorionic gonadotropin, which stimulates further production of endogenous gonadotropins, as a result of which the persistence of the corpus luteum is maintained and the production of vasoactive factors is increased. This leads to increased vascular permeability, fluid movement into the third space (ascites, hydrothorax), hypovolemia, blood thickening, electrolyte disturbances and even thromboembolic complications [66, 67].

Clinically, OHSS is manifested by significant ovarian enlargement, more than 10 cm, lower abdominal pain, nausea, vomiting, abdominal distension, shortness of breath with fluid accumulation in the abdominal or pleural cavities. In severe cases, hypotension, oliguria, hypoproteinemia, and thrombophilic events may occur. Although in mild cases, OHSS may resolve on its own, in severe situations, hospitalization, infusion therapy, monitoring of biochemical parameters (especially blood coagulation, hematocrit) and the dynamics of pregnancy development are necessary [66, 68].

It is worth noting that when pregnancy occurs against the background of OHSS, the patient's condition may worsen during the first 2–3 weeks of gestation due to the further increase in hCG levels, especially in multiple pregnancies. Therefore, the management of these patients requires careful observation, often in a hospital setting, as well as interdisciplinary interaction between a reproductive specialist, an obstetrician-gynecologist, and an internal medicine physician. [67–69].

Despite global trends in reproductive medicine regarding the feasibility of transferring multiple embryos, it still occurs in 20–30% of cases, which significantly increases the likelihood of complications associated with multiple pregnancy, as well as heterotopic ectopic pregnancy, which requires urgent surgical intervention [70–73].

Starting from the 16th week of pregnancy, in the second trimester, the risk of premature rupture of the membranes, infectious complications, including chorioamnionitis, as well as the formation of placentation pathology increases. In women after the ART, cervical insufficiency is more often established, which causes the threat of premature birth. Complications from the feto-placental complex are often found, including intrauterine growth retardation of the fetus, as well as a pathological amount of amniotic fluid. Some studies emphasize the earlier manifestation of preeclampsia, already from the middle of the second trimester, especially in cases of using donor eggs or embryos [74–82].

In the third trimester of pregnancy, complications associated with gestational hypertension and preeclampsia predominate, the incidence of which is 2–3 times higher than in spontaneous pregnancy. Pathological conditions of the placenta, such as placenta previa or premature detachment, are also typical for this period. The high frequency of multiple pregnancies and anomalies of placental attachment necessitate more frequent operative deliveries – cesarean sections. The increased risk of premature birth (more than 20% of all pregnancies after ART) necessitates careful antenatal surveillance and prevention [53, 57, 77, 80–83].

Today, there is a whole range of examinations that enable practicing physicians and scientists to predict the

встановлюється істміко-цервікальна недостатність, що зумовлює загрозу передчасних пологів. Часто зустрічаються ускладнення з боку фетоплацентарного комплексу, включаючи затримку внутрішньоутробного росту плода, а також патологічну кількість амніотичної рідини. Окремі дослідження наголошують на більш ранній маніфестації прееклампсії, вже з середини другого триместру, особливо у випадках використання донорських яйцеклітин або ембріонів [74–82].

В третьому ж триместрі вагітності переважають ускладнення, що пов'язані з гестаційною гіпертензією та прееклампсією, частота виникнення яких у 2–3 рази більша, порівняно зі спонтанною вагітністю. Патологічні стани плаценти, такі як передлежання або передчасне відшарування плаценти, також є типовими для цього періоду. Висока частота багатоплідних вагітностей та аномалій прикріплення плаценти зумовлюють необхідність частіших оперативних пологів – кесарських розтинів. Підвищений ризик передчасних пологів (понад 20% усіх вагітностей після ДРТ) зумовлює необхідність ретельного антенатального нагляду та профілактики [53, 57, 77, 80–83].

На сьогодні існує ціла низка обстежень, які забезпечують можливість практикуючим лікарям та науковцям прогнозувати виникнення та розвиток ускладнень вагітності, особливо тієї, що виникла внаслідок застосування ДРТ. Велике значення надають гормональним та ангіогенним маркерам, при оцінці яких ще на досить ранніх термінах розвитку вагітності стає можливим виявляти порушення у формуванні фетоплацентарного комплексу. Ці зміни стають ранніми ознаками формування ще більш тяжких ускладнень вагітності як для матері, так і для плода [84–87].

Одним із найбільш чутливих ранніх маркерів є PAPP-A (Pregnancy-Associated Plasma Protein A), який представляє собою протеїн, що синтезується синцитіотрофобластом і забезпечує активність інсуліноподібного фактора росту (IGF), необхідного для розвитку ворсинчастої оболонки та росту плода. Зниження рівня PAPP-A у I триместрі менше < 0,4 MoM, частіше за все асоціюється з високим ризиком розвитку прееклампсії, ЗРП, передчасних пологів та внутрішньоутробної загибелі плода, що робить даний маркер одним з основних предикторів плацентарної дисфункції [88–90].

Класичним гормональним маркером задовільного перебігу вагітності є β -субодиниця хоріонічного гонадотропіну (β -ХГЛ). Високі рівні β -ХГЛ або його неадекватна динаміка у ранні терміни гестації можуть свідчити як про патологічний перебіг процесу імплантації плідного яйця, так і про розвиток аномальних процесів у трофобласті. З іншого боку, зниження рівнів β -ХГЛ може асоціюватись з достовірно більшою частотою хромосомних порушень у ембріона, або свідчити про підвищений ризик розвитку прееклампсії у даної вагітної [90, 91].

Одним з основних гормонів вагітності є прогестерон, основний вплив на вагітність якого проявляється у підтримці функціональної децидуалізації ендометрія, пригніченні імунної відповіді і забезпеченні толерантності до плода. У жінок після ДРТ, особливо при використанні кріоциклів або донорських яйцеклітин, рівень прогестерону часто підтримується екзогенно. Недостатність прогестерону в організмі

occurrence and development of pregnancy complications, especially those resulting from the ART. Today, great importance is attached to hormonal and angiogenic markers, the assessment of which, even at a fairly early stage of pregnancy, makes it possible to detect abnormalities in the formation of the fetoplacental complex. These changes become early signs of the formation of even more severe pregnancy complications for both the mother and the fetus. [84–87].

One of the most sensitive early markers is PAPP-A (Pregnancy-Associated Plasma Protein A), which is a protein synthesized by the syncytiotrophoblast and provides insulin-like growth factor (IGF) activity, necessary for the development of the villous membrane and fetal growth. A decrease in the level of PAPP-A in the first trimester of less than < 0.4 MoM is most often associated with a high risk of preeclampsia, preterm labor, premature birth and intrauterine fetal death development, which makes this marker one of the main predictors of placental dysfunction [88–90].

The classic hormonal marker of a satisfactory pregnancy is the β -subunit of the chorionic gonadotropin (β -hCG). High levels of β -hCG or its inadequate dynamics in the early stages of gestation may indicate both a pathological course of the implantation process of the fetal egg and the development of abnormal processes in the trophoblast. On the other hand, a decrease in β -hCG levels may be associated with a significantly higher frequency of chromosomal abnormalities in the embryo, or indicate an increased risk of developing preeclampsia in a given pregnant woman [90, 91].

One of the main hormones of pregnancy is progesterone, the main effect of which on pregnancy is manifested in the maintenance of functional decidualization of the endometrium, suppression of the immune response and ensuring tolerance to the fetus. In women after ART, especially when using cryocycles or donor eggs, progesterone levels are often maintained exogenously. Progesterone deficiency in the body of a pregnant woman is associated with an increased risk of miscarriage, the development of placental dysfunction and placenta-associated complications [92].

Human placental lactogen (hPL) takes on significant prognostic value – one of the main markers of placental mass and functional activity of the placenta, which is responsible for the adaptation of maternal metabolism to the needs of the fetus. Low levels of hPL may indicate the manifestation of placental dysfunction and fetal growth retardation [93–95].

Considering ART resulting pregnancy from the perspective of the endothelial dysfunction occurrence and impact, it is appropriate to consider two angiogenesis and endothelial dysfunction key markers: functions – PIGF (Placental Growth Factor) and sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1). The main property of PIGF is to promote the development of the vascular network in the placenta and maintain its perfusion. A decrease in the level of PIGF in the second and third trimesters of pregnancy is often a harbinger of the development of preeclampsia, especially early, up to 34 weeks, and correlates with impaired blood flow in the uterine and umbilical arteries. At the same time, sFlt-1 is an antagonist of PIGF and VEGF, binding them and disrupting angiogenesis. An increase in the

вагітної асоціюється зі збільшеним ризиком переривання вагітності, розвитком плацентарної дисфункції та плаценти-асоційованих ускладнень [92].

Починаючи з другого триместру вагітності значну прогностичну цінність бере на себе плацентарний лактоген людини (hPL) – один з основних маркерів плацентарної маси та функціональної активності плаценти, який відповідає за адаптацію материнського метаболізму до потреб плода. Низькі рівні hPL можуть засвідчувати маніфестацію плацентарної дисфункції та затримку росту плода [93–95].

Розглядаючи вагітність, що настала внаслідок застосування ДРТ, з точки зору виникнення та впливу ендотеліальної дисфункції на її перебіг, доречним є розглянути два ключових маркера ангиогенезу та ендотеліальної функції – PIGF (Placental Growth Factor) і sFlt-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1). Основною властивістю PIGF є сприяння розвитку судинної сітки в плаценті та підтримка її перфузії. Зниження рівня PIGF у другому-третьому триместрах вагітності часто є передвісником розвитку прееклампсії, особливо ранньої, до 34 тижнів, і корелює з порушенням кровотоку в маткових та пуповинних артеріях. У той же час, sFlt-1 є антагоністом PIGF і VEGF, зв'язуючи їх і порушуючи ангиогенез. Підвищення рівня sFlt-1, а особливо співвідношення sFlt-1/PIGF, що перевищує 38, є специфічним показником високого ризику або вже наявної прееклампсії, а також затримки росту плода. Саме sFlt-1 на сьогодні прийнято вважати «золотим стандартом» в прогнозуванні розвитку прееклампсії [96–99].

Не менш важливим маркером є рівень вільного естріолу (uE3), який синтезується в печінці плода та плаценті, і є показником «зрілості» фето-плацентарного комплексу. Низькі рівні uE3 можуть засвідчувати схильність до розвитку затримки росту плода та плацентарної дисфункції. Також, uE3 входить до складу потрійного (АФП, β -ХГЛ, uE3) або четверного біохімічного скринінгу, який є більш специфічним з точки зору діагностики синдрому Дауна, (АФП, β -ХГЛ, uE3, інгібін А), що дозволяє на ранніх термінах вагітності виявити можливі хромосомні аномалії (трисомії 21, 18, 13) [100–102].

Розглядаючи вагітність з імунологічної точки зору, розвиток її ускладнень може бути зумовлений імунологічними порушеннями, які зокрема, могли виступати як фактори, що зумовлювали непліддя. Жінки з імунологічними порушеннями під час вагітності мають вищий ризик ускладнень, таких як порушення імплантації, звичне невиношування, плацентарна дисфункція, прееклампсія та затримка росту плода. Одним із ключових чинників, що лежить в основі даних ускладнень, є дисбаланс між прозапальними, імунними та судинними компонентами мікрооточення ендометрія і плаценти. Саме тому є дуже важливим розуміння значення наявності маркерів, які відображають стан імунної активації, рівень запалення, активність природних кілерів та метаболічну інтоксикацію судинного ендотелію, до яких, перш за все, належать TNF- α , IL-6, CD56+ uterine NK-клітини та гомоцистеїн [103–107].

Фактор некрозу пухлин-альфа (TNF- α) є ключовим прозапальним цитокіном, який у фізіологічних концентраціях необхідний для регуляції місцевої імунної відповіді. TNF- α сприяє децидуалізації ендометрія

level of sFlt-1, and especially the ratio of sFlt-1/ PIGF, exceeding 38, is a specific indicator of high risk or already existing preeclampsia, as well as fetal growth retardation. It is sFlt-1 that is currently considered the «gold standard» in predicting the preeclampsia development [96–99].

An equally important marker is the level of free estriol (uE3), which is synthesized in the fetal liver and placenta and is an indicator of the «maturity» of the feto-placental complex. Low levels of uE3 may indicate a predisposition to the development of fetal growth retardation and placental dysfunction. Also, uE3 is part of the triple (AFP, β -hCG, uE3) or quadruple biochemical screening, which is more specific in terms of diagnosing Down syndrome, (AFP, β -hCG, uE3, inhibin A), which allows early detection of possible chromosomal abnormalities (trisomies 21, 18, 13) [100–102].

Considering pregnancy from an immunological point of view, the development of its complications may be due to immunological disorders, which, among other things, could act as factors that caused infertility. Women with immunological disorders during pregnancy have a higher risk of complications, such as implantation disorders, habitual miscarriage, placental dysfunction, preeclampsia and fetal growth retardation. One of the key factors underlying these complications is an imbalance between pro-inflammatory, immune and vascular components of the endometrial and placental microenvironment. That is why it is very important to understand the significance of the presence of markers that reflect the state of immune activation, the level of inflammation, the activity of natural killers and metabolic intoxication of the vascular endothelium, which, first of all, include TNF- α , IL-6, CD56+ uterine NK cells and homocysteine [103–107].

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) is a key proinflammatory cytokine that, at physiological concentrations, is required for the regulation of the local immune response. TNF- α promotes endometrial decidualization and initiates placentation. However, when TNF- α levels are elevated, an excessive inflammatory response occurs, which disrupts trophoblast invasion, enhances placental cell apoptosis, and causes thrombosis of small placental vessels. In women after ART, high TNF- α levels are associated with implantation failure, recurrent miscarriage, early preeclampsia, and fetal growth retardation. Detection of high TNF- α concentrations during pre-pregnancy preparation or early pregnancy allows the identification of women at risk who require immunosuppressive or anti-inflammatory therapy [108, 109].

Interleukin-6 (IL-6) is an acute phase cytokine involved in endometrial remodeling, immune response stimulation, and normal implantation. However, chronic subclinical inflammation increases IL-6 levels, which may serve as an early marker of adverse pregnancy outcomes. Increased IL-6 levels may occur in the setting of chronic endometritis or bacterial dysbiosis. In pregnant women after ART, increased IL-6 levels may be associated with failed embryo transfer attempts, first-trimester miscarriages, and later in pregnancy, with placental dysfunction and preterm birth. In addition, high IL-6 levels correlate with intrauterine infection, which may have an extremely negative impact on pregnancy outcome and the antenatal status of the fetus. [110–113].

One of the main populations of immune cells in the functional layer of the endometrium during implantation

та ініціює плацентацію. Однак, при підвищенні рівня TNF- α виникає надмірна запальна відповідь, що порушує інвазію трофобласту, посилює апоптоз клітин плаценти, спричиняє тромбоз дрібних плацентарних судин. У жінок після ДРТ високий рівень TNF- α асоціюється з імплантаційною недостатністю, звичним невиношуванням, ранньою прееклампсією та затримкою росту плода. Виявлення високих концентрацій TNF- α на етапі прегравідарної підготовки або в ранні терміни вагітності дозволяє виявити жінок групи ризику, які потребують застосування імуносупресивної або протизапальної терапії [108, 109].

Інтерлейкін-6 (IL-6) є цитокіном гострої фази, що бере участь у перебудові ендометрія, стимуляції імунної відповіді, а також сприяє нормальному перебігу імплантації. Проте, при хронічному субклінічному запаленні відбувається збільшення концентрації IL-6, що може виступати в якості раннього маркера несприятливого перебігу вагітності. Збільшення IL-6 може відбуватись на фоні хронічного ендометриту або бактеріального дисбіозу. У вагітних після застосування ДРТ збільшення концентрації IL-6 може асоціюватись з невдалими спробами переносу ембріонів, викиднями в I триместрі, а на більш пізніх термінах гестації – розвитком плацентарної дисфункції та передчасними пологами. Крім того, високий рівень IL-6 корелює з маніфестацією внутрішньоутробної інфекції, що може мати вкрай негативний вплив на перебіг вагітності та на антенатальний стан плода [110–113].

Однією з головних популяцій імунних клітин у функціональному шарі ендометрія в період імплантації є CD56+ uterine NK (uNK) клітини, які на відміну від периферичних NK-клітин, мають низьку цитотоксичність і виконують регуляторні функції: стимулюють ангіогенез, ремоделювання спіральних артерій, підтримують інвазію трофобласту та створюють сприятливий імунний мікроклімат для ембріона. Проте, в разі їх надмірного накопичення або активації цитотоксичного варіанта (CD16+) формується несприятливий імунний фон, який здатен перешкоджати імплантації, а також призводить до невиношування, плацентарної недостатності, прееклампсії та ЗРП. Необхідність визначення та корекції концентрації uNK у біоптаті ендометрія перед перенесенням ембріона слід розглядати у жінок, які вже мали кілька невдалих спроб ДРТ [114–116].

Не менш важливим маркером ризику виникнення ускладнень вагітності у жінок після ДРТ є збільшення концентрації гомоцистеїну, метаболіту метіоніну, що в нормі швидко утилізується за участю фолатів та вітаміну B12. Підвищення рівня гомоцистеїну (гіпергомоцистеїнемія) спричиняє ендотеліальну дисфункцію, оксидативний стрес, активує тромбоутворення і знижує перфузію плаценти. У жінок з ДРТ гіпергомоцистеїнемія є фактором ризику невиношування, плацентарної дисфункції, прееклампсії, затримки росту плода, а в тяжких випадках – антенатальної його загибелі. В особливих випадках гіпергомоцистеїнемія поєднується з мутацією гена MTHFR, що відповідає за детоксикацію гомоцистеїну і вимагає специфічної метаболічної корекції за допомогою активних фолатів у формі метилтетрагідрофолату (5-MTHF) та моніторингу рівня гомоцистеїну під час вагітності [107, 117, 118].

is CD56+ uterine NK (uNK) cells, which, unlike peripheral NK cells, have low cytotoxicity and perform regulatory functions: stimulate angiogenesis, remodeling of spiral arteries, support trophoblast invasion and create a favorable immune microclimate for the embryo. However, in the case of their excessive accumulation or activation of the cytotoxic variant (CD16+), an unfavorable immune background is formed, which can interfere with implantation, and also leads to miscarriage, placental insufficiency, preeclampsia and premature rupture of membranes. The need to determine and correct the concentration of uNK in the biopsy Endometrial biopsy before embryo transfer should be considered in women who have already had several unsuccessful ART attempts [114–116].

An equally important marker of the risk of pregnancy complications in women after ART is an increase in the concentration of homocysteine, a metabolite of methionine, which is normally rapidly utilized with the participation of folate and vitamin B12. Increased homocysteine levels (hyperhomocysteinemia) cause endothelial dysfunction, oxidative stress, activate thromboembolism and reduce placental perfusion. In women with ART, hyperhomocysteinemia is a risk factor for miscarriage, placental dysfunction, preeclampsia, fetal growth retardation, and in severe cases, antenatal death. In special cases, hyperhomocysteinemia is combined with a mutation in the MTHFR gene, which is responsible for homocysteine detoxification, and requires specific metabolic correction using active folates in the form of methyltetrahydrofolate (5-MTHF) and monitoring of homocysteine levels during pregnancy [107, 117, 118].

ВИСНОВКИ

Непліддя на сьогодні залишається серйозним викликом для сучасного суспільства, який стосується не лише медицини, а й прав людини, гендерної рівності, соціальної справедливості та доступності медичних технологій. Сучасна демографічна ситуація диктує необхідність як пошуку нових технологій, так і покращення існуючих підходів до ведення вагітності високого ризику, проведення біохімічного скринінгу для своєчасної діагностики можливих ускладнень гестаційного процесу, їх лікування та профілактики, а також соціальної підтримки.

Вибір методу лікування непліддя базується на ретельній комплексній діагностиці фертильного потенціалу пари та його оцінці. Допоміжні репродуктивні технології займають провідне місце в сучасній практиці та дають реальний шанс на народження дитини в ситуаціях, де інші методи виявилися неефективними. Вибір між коротким і довгим протоколами стимуляції залежить від багатьох чинників: віку, оваріального резерву, реакції яєчників, ризику розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників, попереднього досвіду та побажань пацієнтів. Завдяки постійному вдосконаленню протоколів, впровадженню індивідуалізованого підходу, застосуванню сучасних лабораторних технологій (ICSI, Time-Lapse, ко-культура, PGT) та криоконсервації, ефективність ДРТ неухильно зростає. Проте важливим залишається не лише технічний аспект, а й психологічна підтримка пацієнтів, їхнє інформування, співпраця з репродуктологом та персоналізоване планування лікування.

У жінок, вагітність яких настала в результаті застосування допоміжних репродуктивних технологій, є доречним проведення динамічного контролю рівню показників PAPP-A, β -ХГЛ, прогестерону, hPL, PlGF, sFlt-1, що може дозволити ще на ранніх етапах виявити маніфестацію преєклампсії, плацентарної дисфункції та загрозу затримки росту плода. Своєчасний та ретельний моніторинг даних показників є запорукою вчасного спрямування пацієнток до високоспеціалізованих закладів надання акушерської допомоги III рівня.

TNF- α , IL-6, CD56+ клітини та гомоцистеїн є важливими прогностичними маркерами, які відображають запальний, імунний і судинний статус жінки напередодні та під час вагітності, що настала після застосування допоміжних репродуктивних технологій. Інтеграція даних імунзапальних і метаболічних маркерів у комплексному підході до ведення вагітності після застосування допоміжних репродуктивних технологій може мати важливе клінічне значення в контексті покращення акушерських та перинатальних наслідків.

CONCLUSIONS

Infertility today remains a serious challenge for modern society, which concerns not only medicine, but also human rights, gender equality, social justice and the availability of medical technologies. The current demographic situation dictates the need to both search for new technologies and improve existing approaches to managing high-risk pregnancies, conducting biochemical screening for timely diagnosis of possible complications of the gestational process, their treatment and prevention, as well as social support.

The choice of infertility treatment method is based on a thorough comprehensive diagnosis of the couple's fertile potential, and its assessment. Assisted reproductive technologies occupy a leading place in modern practice and provide a real chance of having a child in situations where other methods have proven ineffective. The choice between short and long stimulation protocols depends on many factors: age, ovarian reserve, ovarian response, risk of developing ovarian hyperstimulation syndrome, previous experience and patients' wishes. Thanks to the constant improvement of protocols, the introduction of an individualized approach, the use of modern laboratory technologies (ICSI, Time-Lapse, co-culture, PGT) and cryopreservation, the effectiveness of ART is steadily increasing. However, not only the technical aspect remains important, but also the psychological support of patients, their information, cooperation with a reproductive specialist and personalized treatment planning.

In women whose pregnancy occurred as a result of the use of assisted reproductive technologies, it is appropriate to conduct dynamic monitoring of the level of PAPP-A, β -hCG, progesterone, hPL, PlGF, sFlt-1 indicators, which may allow detecting manifestations of preeclampsia, placental dysfunction and the threat of fetal growth retardation at an early stage. Timely and thorough monitoring of these indicators is the key to timely referral of patients to highly specialized institutions providing obstetric care of the III level.

TNF- α , IL-6, CD56+ cells, and homocysteine are important prognostic markers that reflect the inflammatory, immune, and vascular status of a woman before and during pregnancy following assisted reproductive technologies. Integrating these immunoinflammatory and metabolic markers into a comprehensive approach to pregnancy management following assisted reproductive technologies may have important clinical implications in the context of improving obstetric and perinatal outcomes.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. World Health Organization. WHO fact sheet on infertility. *Global Reproductive Health*. 2021. №6 (1). P. e52. DOI: <https://doi.org/10.1097/GRH.0000000000000052>
2. Carson S. A., Kallen A. N. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021. №326 (1). P. 65–76. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>
3. Cox C. M., Thoma M. E., Tchangalova N., et al. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open*. 2022. №2022 (4). P. 1–24. DOI: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>

REFERENCES

1. World Health Organization. WHO fact sheet on infertility. *Global Reproductive Health*. 2021;6(1):e52. DOI: <https://doi.org/10.1097/GRH.0000000000000052>
2. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021;326(1):65–76. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>
3. Cox CM, Thoma ME, Tchangalova N, Mburu G, Bornstein MJ, Johnson CL, et al. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open*. 2022;2022(4):1–24. DOI: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>

4. Thoma M., Fledderjohann J., Cox C., et al. Biological and Social Aspects of Human Infertility: A Global Perspective. *Oxford Research Encyclopedia of Global Public Health*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190632366.013.184>
5. Bagade T., Mersha A. G., Majeed T. The social determinants of mental health disorders among women with infertility: a systematic review. *BMC Women's Health*. 2023. №23 (1). P. 668. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12905-023-02828-9>
6. Bagade T., Thapaliya K., Breuer E., et al. Investigating the association between infertility and psychological distress using Australian Longitudinal Study on Women's Health (ALSWH). *Scientific Reports*. 2022. №12 (1). P. 10808. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15064-2>
7. Imrie R., Ghosh S., Narvekar N., et al. Socioeconomic status and fertility treatment outcomes in high-income countries: a review of the current literature. *Human Fertility*. 2021. №26 (1). P. 27–37. DOI: <https://doi.org/10.1080/14647273.2021.1957503>
8. Liang Y., Huang J., Zhao Q., et al. Global, regional, and national prevalence and trends of infertility among individuals of reproductive age (15–49 years) from 1990 to 2021, with projections to 2040. *Human Reproduction*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/deae292>
9. Камінський В. В., Татарчук Т. Ф., Дубоссарська Ю. О. Національний консенсус щодо ведення пацієнток із гіперандрогенізмом (2016). *Репродуктивна ендокринологія*. 2016. №30. С. 19–31. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2016.30.19-31>
10. Fact Sheet. Polycystic ovary syndrome. *World Health Organization*. 2025. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/polycystic-ovary-syndrome>
11. Al-Lami RA, Taha S. A., Jalloul R. J., et al. Women with endometriosis in the United States: National Survey of Family Growth, 2011–2019. *Journal of Endometriosis and Uterine Disorders*. 2024. №8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jeud.2024.100081>
12. Varghese N., Shanmugam I., Sivamani H., et al. Prevalence and Risk Factors of Endometriosis Among Infertile Women in a Tertiary Care Center in South India. *Cureus*. 2024. №16 (10). P. e71772. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.71772>
13. Walker M. H., Tobler K. J. Female infertility. *StatPearls*. 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>
14. Sengupta P., Borges E., Dutta S., et al. Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Human & Experimental Toxicology*. 2017. №37 (3). P. 247–255. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327117703690>
15. Бондаренко Н. П., Нікітін О. Д., Осадчук С. В., та ін. Клініко-статистична характеристика пацієнток з безпліддям на тлі хронічних запальних захворювань статевих органів. *Репродуктивне здоров'я жінки*. 2024. №5. С. 32–44. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.5.2024.310393>
16. Salmanov A. G., Vitiuk A. D., Kovalyshyn O. A., et al. Prevalence and risk factors of infertility in Ukraine: results a multicenter study (2019–2021). *Wiadomości Lekarskie*. 2022. №75 (5). P. 1234–1241. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202205202>
17. Salmanov A. G., Yuzko O. M., Tofan B. Yu., et al. Factors associated with female infertility in Ukraine: results a multicenter study. *Wiadomości Lekarskie*. 2024. №77 (4). P. 790–799. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202404127>
18. Юзько О. М., Тодан Б. Ю. Прогнозування настання вагітності при лікуванні безпліддя, асоційованого з ендометріозом. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2022. №2 (80). С. 65–69. DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.11>
19. Заліська О. М., Стасів К. О. Й., Максимович Н. М. Оцінка доступності допоміжних репродуктивних технологій в Україні та світі. *Фармацевтичний журнал*. 2020. №4. С. 49–59. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.05>
20. Moutzouroulia A., Asimakopoulou Z., Tzavara C., et al. The impact of infertility on the mental health of women undergoing in vitro fertilization treatment. *Sexual & Reproductive Healthcare*. 2025. №43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.srhc.2025.101072>
21. Doody K. J. Infertility treatment Now and in the Future. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2021. №48 (4). P. 801–812. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.07.005>
22. Jain M., Singh M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/>
23. Cunha A., Póvoa A. M. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Porto Biomedical Journal*. 2021. №6 (1). P. e116. DOI: <https://doi.org/10.1097/j.pbj.0000000000000116>
24. Tedee H. J., Tay C. T., Laven J., et al. Recommendations from the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *Human Reproduction Open*. 2023. №120 (4). P. 767–793. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.07.025>
4. Thoma M., Fledderjohann J., Cox C., Adageba RK. Biological and Social Aspects of Human Infertility: A Global Perspective. *Oxford Research Encyclopedia of Global Public Health*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190632366.013.184>
5. Bagade T., Mersha AG, Majeed T. The social determinants of mental health disorders among women with infertility: a systematic review. *BMC Women's Health*. 2023;23(1):668. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12905-023-02828-9>
6. Bagade T., Thapaliya K, Breuer E, Kamath R, Li Z, Sullivan E, et al. Investigating the association between infertility and psychological distress using Australian Longitudinal Study on Women's Health (ALSWH). *Scientific Reports*. 2022;12(1):10808. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15064-2>
7. Imrie R, Ghosh S, Narvekar N, Vigneswaran K, Wang Y, Savvas M. Socioeconomic status and fertility treatment outcomes in high-income countries: a review of the current literature. *Human Fertility*. 2021. №26 (1). P. 27–37. DOI: <https://doi.org/10.1080/14647273.2021.1957503>
8. Liang Y, Huang J, Zhao Q, Mo H, Su Z, Feng S, et al. Global, regional, and national prevalence and trends of infertility among individuals of reproductive age (15–49 years) from 1990 to 2021, with projections to 2040. *Human Reproduction*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/deae292>
9. Kaminskyi VV, Tatarchuk TF, Dubossarska YO. National consensus on the management of patients with hyperandrogenism (2016). *Reproductive Endocrinology*. 2016;30:19–31. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2016.30.19-31>
10. Fact Sheet. Polycystic ovary syndrome. *World Health Organization*. 2025. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/polycystic-ovary-syndrome>
11. Al-Lami RA, Taha SA, Jalloul RJ, Taylor HS, et al. Women with endometriosis in the United States: National Survey of Family Growth, 2011–2019. *Journal of Endometriosis and Uterine Disorders*. 2024;8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jeud.2024.100081>
12. Varghese N, Shanmugam I, Sivamani H, Durairaj A. Prevalence and Risk Factors of Endometriosis Among Infertile Women in a Tertiary Care Center in South India. *Cureus*. 2024;16(10):e71772. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.71772>
13. Walker MH, Tobler KJ. Female infertility. *StatPearls*. 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556033/>
14. Sengupta P, Borges E, Dutta S., et al. Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Human & Experimental Toxicology*. 2017;37(3):247–55. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327117703690>
15. Bondarenko NP, Nikitin OD, Osadchuk SV, Yasynetskiy MO, Grytsai VS, Samchuk PO. Clinical and statistical characteristics of patients with infertility on the background of chronic pelvic inflammatory diseases of the genital organs. *Reproductive Health of Woman*. 2024;5:32–44. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.5.2024.310393>
16. Salmanov AG, Vitiuk AD, Kovalyshyn OA, Baksheev SM, Kutyska TV, Korniyenko SM, et al. Prevalence and risk factors of infertility in Ukraine: results a multicenter study (2019–2021). *Wiadomości Lekarskie*. 2022;75(5):1234–41. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202205202>
17. Salmanov AG, Yuzko OM, Tofan BYu, Artyomenko VV, Korniyenko SM, Rud VO, et al. Factors associated with female infertility in Ukraine: results a multicenter study. *Wiadomości Lekarskie*. 2024;77(4):790–9. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202404127>
18. Yuzko OM, Tofan BY. Prediction of pregnancy onset in the treatment of endometriosis associated infertility. *Clinical and experimental pathology*. 2022;2(80):65–9. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.11>
19. Zaliska OM, Stasiv KOY, Maksymovych NM. Assessment of availability of assisted reproductive technologies in Ukraine and the world. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 2020;4:49–59. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.05>
20. Moutzouroulia A, Asimakopoulou Z., Tzavara C., Asimakopoulos K, Adonakis G, Kaponis A. The impact of infertility on the mental health of women undergoing in vitro fertilization treatment. *Sexual & Reproductive Healthcare*. 2025;43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.srhc.2025.101072>
21. Doody KJ. Infertility treatment Now and in the Future. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2021;48(4):801–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.07.005>
22. Jain M, Singh M. Assisted Reproductive Technology (ART) Techniques. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island. *StatPearls Publishing*. 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576409/>
23. Cunha A, Póvoa AM. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Porto Biomedical Journal*. 2021;6(1):e116. DOI: <https://doi.org/10.1097/j.pbj.0000000000000116>
24. Tedee HJ, Tay CT, Laven J, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, et al. Recommendations from the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. *Human Reproduction Open*. 2023;120(4):767–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.07.025>

25. Liu Z., Geng Y., Huang Y., et al. Letrozole compared with clomiphene citrate for polycystic ovarian syndrome. *Obstetrics and Gynecology*. 2023. №141 (3): P. 523–534. DOI: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000005070>
26. Mangal S. Current knowledge on the use of letrozole in ovarian stimulation. *International Journal of Infertility & Fetal Medicine*. 2020. №11 (2). P. 48–53. DOI: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10016-1205>
27. Waanbah B. D., Joseph T., Rebekah G., et al. Letrozole as first-line drug for ovulation induction in treatment-naïve infertile polycystic ovarian syndrome women. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2021. №47 (10). P. 3583–3589. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.14926>
28. Quevedo A., Pasic R., Connor A., Chamseddine P. Fertility sparing endometriosis surgery: a review. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 2021. №1 (3). P. 112–118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gocm.2021.07.002>
29. Pérez-Milán F., Caballero-Campo M., Carrera-Roig M., et al. Hydrosalpinx treatment before in-vitro fertilization: systematic review and network meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2024. №65 (4). P. 414–426. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.27697>
30. Calogero A. E., Cannarella R., Agarwal A., et al. The renaissance of male infertility management in the golden age of andrology. *World Journal of Men's Health*. 2023. №41 (2). P. 237–254. DOI: <https://doi.org/10.5534/wjmh.220213>
31. Starosta A., Gordon C. E., Hornstein M. D. Predictive factors for intrauterine insemination outcomes: a review. *Fertility Research and Practice*. 2020. №6 (1). P. 23. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00092-1>
32. Dias C. M. F., Vitorino G. B. T., Furlan S. M. P., et al. Intrauterine insemination: prognostic factors. *JBRA Assisted Reproduction*. 2024. №28 (2). P. 254–262. DOI: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20240017>
33. Huniadi A., Bimbo-Szuhai E., Botea M., et al. Fertility predictors in intrauterine insemination (IUI). *Journal of Personalized Medicine*. 2023. №13 (3). P. 395. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm13030395>
34. Harvey A. J., Willson B. E., Surrey E. S., et al. Ovarian stimulation protocols: impact on oocyte and endometrial quality and function. *Fertility and Sterility*. 2024. №123 (1). P. 10–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2024.08.340>
35. Zeng Y., Zhang Y., Cao Q., et al. Independent predictors and thresholds of in vitro fertilization outcomes in patients with diminished ovarian reserve. *Scientific Reports*. 2025. №15 (1). P. 18875. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01937-9>
36. Jirge P. R., Patil M. M., Gutgutia R., et al. Ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles for varied patient profiles: An Indian perspective. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2022. №15 (2). P. 112–125. DOI: https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_59_22
37. Lundin K., Bentzen J. G., Bozdag G., et al. Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine. *Human Reproduction*. 2023. №38 (11). P. 2062–2104. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/dead184>
38. Saket Z., Källén K., Lundin K., et al. Cumulative live birth rate after IVF: trend over time and the impact of blastocyst culture and vitrification. *Human Reproduction Open*. 2021. №2021 (3). DOI: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoab021>
39. Gaskins A. J., Zhang Y., Chang J., et al. Predicted probabilities of live birth following assisted reproductive technology using United States national surveillance data from 2016 to 2018. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2023. №228 (5). P. 557.e1–557.e10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.01.014>
40. Kastora S. L., Gkova G., Stavridis K., et al. Comparison of luteal support protocols in fresh IVF/ICSI cycles: a network meta-analysis. *Scientific Reports*. 2024. №14 (1). P. 14492. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64804-z>
41. Mauries C., Ranisavljevic N., Mollevi C., et al. «Short agonist stop» protocol, an ovarian stimulation for poor responders in in vitro fertilization (IVF): a pilot study. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 1056520. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1056520>
42. Liu C., Tian T., Lou Y., et al. Live birth rate of gonadotropin-releasing hormone antagonist versus luteal-phase gonadotropin-releasing hormone agonist protocol in IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2023. №26. P. e2. DOI: <https://doi.org/10.1017/erm.2023.25>
43. Zhu J., Xing W., Li T., et al. GNRH antagonist protocol versus GNRH agonist long protocol: a retrospective cohort study on clinical outcomes and maternal-neonatal safety. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.875779>
25. Liu Z., Geng Y., Huang Y., Hu R., Li F., Song Y., et al. Letrozole compared with clomiphene citrate for polycystic ovarian syndrome. *Obstetrics and Gynecology*. 2023;141(3):523–34. DOI: <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000005070>
26. Mangal S. Current knowledge on the use of letrozole in ovarian stimulation. *International Journal of Infertility & Fetal Medicine*. 2020;11(2):48–53. DOI: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10016-1205>
27. Waanbah BD, Joseph T, Rebekah G, Kunjummen AT, Kamath MS. Letrozole as first-line drug for ovulation induction in treatment-naïve infertile polycystic ovarian syndrome women. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2021;47(10):3583–9. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.14926>
28. Quevedo A, Pasic R, Connor A, Chamseddine P. Fertility sparing endometriosis surgery: a review. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 2021;1(3):112–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gocm.2021.07.002>
29. Pérez-Milán F, Caballero-Campo M, Carrera-Roig M, Moratalla-Bartolomé E, Domínguez-Arroyo JA, Alcázar-Zambrano JL, et al. Hydrosalpinx treatment before in-vitro fertilization: systematic review and network meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2024;65(4):414–26. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.27697>
30. Calogero AE, Cannarella R, Agarwal A, Hamoda TAAAM, Rambhatla A, Saleh R, et al. The renaissance of male infertility management in the golden age of andrology. *World Journal of Men's Health*. 2023;41(2):237–54. DOI: <https://doi.org/10.5534/wjmh.220213>
31. Starosta A, Gordon CE, Hornstein MD. Predictive factors for intrauterine insemination outcomes: a review. *Fertility Research and Practice*. 2020;6(1):23. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00092-1>
32. Dias CMF, Vitorino GBT, Furlan SMP, Reis RMD, de Sá Rosa E Silva ACJ, Mendes MC, et al. Intrauterine insemination: prognostic factors. *JBRA Assisted Reproduction*. 2024;28(2):254–62. DOI: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20240017>
33. Huniadi A, Bimbo-Szuhai E, Botea M, Zaha I, Beiusanu C, Pallag A, et al. Fertility predictors in intrauterine insemination (IUI). *Journal of Personalized Medicine*. 2023;13(3):395. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm13030395>
34. Harvey AJ, Willson BE, Surrey ES, Gardner DK. Ovarian stimulation protocols: impact on oocyte and endometrial quality and function. *Fertility and Sterility*. 2024;123(1):10–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2024.08.340>
35. Zeng Y, Zhang Y, Cao Q, Gao Z, Tang T. Independent predictors and thresholds of in vitro fertilization outcomes in patients with diminished ovarian reserve. *Scientific Reports*. 2025. №15 (1). P. 18875. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01937-9>
36. Jirge PR, Patil MM, Gutgutia R, Shah J, Govindarajan M, Roy VS, et al. Ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles for varied patient profiles: An Indian perspective. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2022;15(2):112–25. DOI: https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_59_22
37. Lundin K, Bentzen JG, Bozdag G, Ebner T, Harper J, Le Clef N, et al. Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine. *Human Reproduction*. 2023;38(11):2062–104. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/dead184>
38. Saket Z, Källén K, Lundin K, Magnusson A, Bergh C. Cumulative live birth rate after IVF: trend over time and the impact of blastocyst culture and vitrification. *Human Reproduction Open*. 2021;2021(3). DOI: <https://doi.org/10.1093/hropen/hoab021>
39. Gaskins AJ, Zhang Y, Chang J, Kissin DM. Predicted probabilities of live birth following assisted reproductive technology using United States national surveillance data from 2016 to 2018. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2023;228(5):557.e1–0. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.01.014>
40. Kastora SL, Gkova G, Stavridis K, Balachandren N, Kastoras A, Karakatsanis A, et al. Comparison of luteal support protocols in fresh IVF/ICSI cycles: a network meta-analysis. *Scientific Reports*. 2024;14(1):14492. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64804-z>
41. Mauries C, Ranisavljevic N, Mollevi C, Brunet C, Hamamah S, Brouillet S, et al. «Short agonist stop» protocol, an ovarian stimulation for poor responders in in vitro fertilization (IVF): a pilot study. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:1056520. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1056520>
42. Liu C, Tian T, Lou Y, Li J, Liu P, Li R, et al. Live birth rate of gonadotropin-releasing hormone antagonist versus luteal-phase gonadotropin-releasing hormone agonist protocol in IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2023;26:e2. DOI: <https://doi.org/10.1017/erm.2023.25>
43. Zhu J, Xing W, Li T, Lin H, Ou J. GNRH antagonist protocol versus GNRH agonist long protocol: a retrospective cohort study on clinical outcomes and maternal-neonatal safety. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.875779>

44. Kadoura S., Alhalabi M., Nattouf A. H. Conventional GnRH antagonist protocols versus long GnRH agonist protocol in IVF/ICSI cycles of polycystic ovary syndrome women: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 2022. №12 (1). P. 4456. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08400-z>
45. Yang R., Guan Y., Perrot V., et al. Comparison of the Long-Acting GnRH Agonist Follicular Protocol with the GnRH Antagonist Protocol in Women Undergoing In Vitro Fertilization: A Systematic Review and Meta-analysis. *Advances in Therapy*. 2021. №38. P. 2027–2037. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01612-7>
46. Chen H., Teng X. M., Sun Z. L., et al. Comparison of the cumulative live birth rates after 1 in vitro fertilization cycle in women using gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol vs. progesterin-primed ovarian stimulation: a propensity score-matched study. *Fertility and Sterility*. 2022. №118 (4). P. 701–712. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.06.012>
47. Datta A. K., Maheshwari A., Felix N., et al. Mild versus conventional ovarian stimulation for IVF in poor, normal and hyper-responders: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2021. №27 (2). P. 229–253. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa035>
48. Liang Y., Guo Q., Wu X. H., et al. Does the additional use of clomiphene citrate or letrozole for in vitro fertilization deserve more attention? *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2021. №21 (1). P. 275. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-021-03668-x>
49. Nakagawa K., Horikawa T., Shiobara K., et al. Mild ovarian stimulation using the aromatase inhibitor letrozole (LTZ) is a good stimulation protocol for obtaining euploid blastocysts in advanced maternal age women. *Journal of Gynecological Research and Obstetrics*. 2024. №10 (2). P. 031–039. DOI: <https://doi.org/10.17352/jgro.000128>
50. De Marco M. P., Montanari G., Ruscito I., et al. Natural cycle results in lower implantation failure than ovarian stimulation in advanced-age poor responders undergoing IVF: fertility outcomes from 585 patients. *Reproductive Sciences*. 2021. №28 (7). P. 1967–1973. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00455-5>
51. Liu S., Xie Y., Li F., et al. Effectiveness of ultra-long protocol on in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer outcome in infertile women with endometriosis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2021. №47 (4). P. 1232–1242. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.14630>
52. Lan J., Wu Y., Wu Z., et al. Ultra-long GnRH agonist protocol during IVF/ICSI improves pregnancy outcomes in women with adenomyosis: A retrospective cohort study. *Frontiers in Endocrinology*. 2021. №12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.609771>
53. Jwa S. C., Tamaru S., Takamura M., et al. Assisted reproductive technology-associated risk factors for placenta accreta spectrum after vaginal delivery. *Scientific Reports*. 2024. №14 (1). P. 7454. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57988-x>
54. Landsverk E., Westvik-Johari K., Wennerholm U. B., et al. Risk of placenta previa in assisted reproductive technology: A Nordic population study with sibling analyses. *PLoS Medicine*. 2025. №22 (2). P. e1004536. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004536>
55. Salame A. A., Zhaffal M. J., Peramo B. Early pregnancy loss in IVF: a literature review. *Middle East Fertility Society Journal*. 2024. №29 (1). P. 30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43043-024-00191-9>
56. Galanti F., Riccio S., Giannini A., et al. Placentation and complications of ART pregnancy: an update on the different possible etiopathogenic mechanisms involved in the development of obstetric complications. *Journal of Reproductive Immunology*. 2024. №162. P. 104191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2023.104191>
57. Wu P., Sharma G. V., Mehta L. S., et al. In-Hospital complications in pregnancies conceived by assisted reproductive technology. *Journal of the American Heart Association*. 2022. №11 (5). P. e022658. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.022658>
58. Zuo L., Fan Y., Ai J., et al. Analysis of factors related to early miscarriage after in vitro fertilization embryo transfer. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 2022. №2 (4). 171–174. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gocm.2022.09.001>
59. Del Carmen Nogales M., Cruz M., de Frutos S., et al. Association between clinical and IVF laboratory parameters and miscarriage after single euploid embryo transfers. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2021. №19 (1). P. 186. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00870-6>
60. Doubilet P. M., Benson C. B., Ginsburg E. S. Early pregnancy loss rate in in vitro fertilization versus non-IVF pregnancies. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2025. №44 (10). P. 1783–1788. DOI: <https://doi.org/10.1002/jum.16728>
44. Kadoura S., Alhalabi M., Nattouf A. H. Conventional GnRH antagonist protocols versus long GnRH agonist protocol in IVF/ICSI cycles of polycystic ovary syndrome women: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 2022;12(1):4456. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08400-z>
45. Yang R, Guan Y, Perrot V, Ma J, Li R. Comparison of the Long-Acting GnRH Agonist Follicular Protocol with the GnRH Antagonist Protocol in Women Undergoing In Vitro Fertilization: A Systematic Review and Meta-analysis. *Advances in Therapy*. 2021;38:2027–37. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01612-7>
46. Chen H, Teng XM, Sun ZL, Yao D, Wang Z, Chen ZQ. Comparison of the cumulative live birth rates after 1 in vitro fertilization cycle in women using gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol vs. progesterin-primed ovarian stimulation: a propensity score-matched study. *Fertility and Sterility*. 2022;118(4):701–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.06.012>
47. Datta AK, Maheshwari A, Felix N, Campbell S, Nargund G. Mild versus conventional ovarian stimulation for IVF in poor, normal and hyper-responders: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2021;27(2):229–53. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa035>
48. Liang Y, Guo Q, Wu XH, Zhang LN, Ge J, Xu ML, et al. Does the additional use of clomiphene citrate or letrozole for in vitro fertilization deserve more attention? *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2021;21(1):275. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-021-03668-x>
49. Nakagawa K, Horikawa T, Shiobara K, Ishiyama S, Kataoka H, Nakao K, et al. Mild ovarian stimulation using the aromatase inhibitor letrozole (LTZ) is a good stimulation protocol for obtaining euploid blastocysts in advanced maternal age women. *Journal of Gynecological Research and Obstetrics*. 2024;10(2):031–9. DOI: <https://doi.org/10.17352/jgro.000128>
50. De Marco MP, Montanari G, Ruscito I, Giallonardo A, Ubaldi FM, Rienzi L, et al. Natural cycle results in lower implantation failure than ovarian stimulation in advanced-age poor responders undergoing IVF: fertility outcomes from 585 patients. *Reproductive Sciences*. 2021;28(7):1967–73. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00455-5>
51. Liu S, Xie Y, Li F, Jin L. Effectiveness of ultra-long protocol on in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer outcome in infertile women with endometriosis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2021;47(4):1232–1242. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.14630>
52. Lan J, Wu Y, Wu Z, Wu Y, Yang R, Liu Y, et al. Ultra-long GnRH agonist protocol during IVF/ICSI improves pregnancy outcomes in women with adenomyosis: A retrospective cohort study. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.609771>
53. Jwa SC, Tamaru S, Takamura M, Namba A, Kajihara T, Ishihara O, et al. Assisted reproductive technology-associated risk factors for placenta accreta spectrum after vaginal delivery. *Scientific Reports*. 2024;14(1):7454. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57988-x>
54. Landsverk E, Westvik-Johari K, Wennerholm UB, Bergh C, Kyhl F, Spangmose AL, et al. Risk of placenta previa in assisted reproductive technology: A Nordic population study with sibling analyses. *PLoS Medicine*. 2025;22(2):e1004536. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004536>
55. Salame AA, Zhaffal MJ, Peramo B. Early pregnancy loss in IVF: a literature review. *Middle East Fertility Society Journal*. 2024;29(1):30. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43043-024-00191-9>
56. Galanti F, Riccio S, Giannini A, D'Orta O, Buzzaccarini G, Scudo M, et al. Placentation and complications of ART pregnancy: an update on the different possible etiopathogenic mechanisms involved in the development of obstetric complications. *Journal of Reproductive Immunology*. 2024;162:104191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2023.104191>
57. Wu P, Sharma GV, Mehta LS, Chew-Graham CA, Lundberg GP, Nerenberg KA, et al. In-Hospital complications in pregnancies conceived by assisted reproductive technology. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(5):e022658. DOI: <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.022658>
58. Zuo L, Fan Y, Ai J, Tian L. Analysis of factors related to early miscarriage after in vitro fertilization embryo transfer. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 2022;2(4):171–4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gocm.2022.09.001>
59. Del Carmen Nogales M, Cruz M, de Frutos S, Martínez EM, Gaytán M, Ariza M, et al. Association between clinical and IVF laboratory parameters and miscarriage after single euploid embryo transfers. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2021;19(1):186. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00870-6>
60. Doubilet PM, Benson CB, Ginsburg ES. Early pregnancy loss rate in in vitro fertilization versus non-IVF pregnancies. *Journal of Ultrasound in Medicine*. 2025;44(10):1783–8. DOI: <https://doi.org/10.1002/jum.16728>

61. Craciunas L., Pickering O., Chu J., et al. The transcriptomic profile of endometrial receptivity in recurrent miscarriage. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2021. №261. P. 211–216. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.04.041>
62. Günther V., Allahqoli L., Deenadayal-Mettler A., et al. Molecular determinants of uterine receptivity: comparison of successful implantation, recurrent miscarriage, and recurrent implantation failure. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. №24 (24). P. 17616. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242417616>
63. Busnelli A., Somigliana E., Cirillo F., et al. Is diminished ovarian reserve a risk factor for miscarriage? Results of a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2021. №27 (6). P. 973–988. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab018>
64. Herman H. G., Mizrahi Y., Horowitz E., et al. Obstetric outcomes following ovarian hyperstimulation syndrome in IVF – a comparison with uncomplicated fresh and frozen transfer cycles. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2022. №22 (1). P. 573. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04903-9>
65. Ran S., Zu R., Wu H., et al. Perinatal outcomes of singleton live births after late moderate-to-severe ovarian hyperstimulation syndrome: a propensity score-matched study. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 9751417. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1063066>
66. Huang K., Shi Y., Chen G., et al. Predictive factors for recovery time in conceived women suffering from moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 870008. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.870008>
67. Gullo G., Cucinella G., Stojanovic V., et al. Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS): A narrative review and legal implications. *Journal of Personalized Medicine*. 2024. №14 (9). P. 915. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm14090915>
68. Ma X., Yin J., Yang R., et al. Clinical Features of Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome with Hydrothorax. *Journal of Clinical Medicine*. 2023. №12 (19). P. 6210. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12196210>
69. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Prevention of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertility and Sterility*. 2023. №121 (2). P. 230–245. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.11.013>
70. Reimundo P., Romero J. M. G., Pérez T. R., et al. Single-embryo transfer: a key strategy to reduce the risk for multiple pregnancy in assisted human reproduction. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 2021. №2 (2). P. 179–188. DOI: <https://doi.org/10.1515/almed-2021-0013>
71. Mandourah S., Badeghiesh A., Baghlaf H., et al. How does the need for IVF affect pregnancy complications among multiple gestations? The study of a large American population database including almost 100,000 multiple gestations. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology X*. 2024. №21. P. 100270. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2023.100270>
72. Zhu S., Fan Y., Lan L., et al. Heterotopic Pregnancy Secondary to in vitro Fertilization-Embryo Transfer: Risk Factors and Pregnancy Outcomes. *Frontiers in Medicine*. 2022. №9. P. 864560. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.864560>
73. Maleki A., Khalid N., Patel C. R., et al. The rising incidence of heterotopic pregnancy: Current perspectives and associations with in-vitro fertilization. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2021. №266. P. 138–144. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.09.031>
74. Cheng T., Shi H., Bu Z., et al. Contribution of cervical incompetence to occurrence of second trimester abortion in patients with polycystic ovary syndrome during the frozen embryo transfer cycle. *Frontiers in Endocrinology*. 2024. №15. P. 1411618. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1411618>
75. Ni M., Li L., Zhang Q., et al. Association of chorioamnionitis with infertility treatment and subsequent neonatal outcomes in the US: a population-based cohort study. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2023. №23 (1). P. 369. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-023-05619-0>
76. Zhao X., Ye S., Yan X., et al. Risk factors of cervical insufficiency in women with PCOS undergoing IVF-ET treatment: a case-control study. *Frontiers in Endocrinology*. 2025. №16. P. 1498443. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1498443>
77. Kong F., Fu Y., Shi H., et al. Placental abnormalities and placenta-related complications following in-vitro fertilization: based on national hospitalized data in China. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 924070. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.924070>
78. Wu Y., Cai M., Liang X., et al. The prevalence of cervical insufficiency in Chinese women with polycystic ovary syndrome undergone ART treatment accompanied with negative prognosis: a retrospective
61. Craciunas L., Pickering O., Chu J., Choudhary M., Žurauskienė J., Coomarasamy A. The transcriptomic profile of endometrial receptivity in recurrent miscarriage. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2021;261:211–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.04.041>
62. Günther V., Allahqoli L., Deenadayal-Mettler A., Maass N., Mettler L., Gitas G., et al. Molecular determinants of uterine receptivity: comparison of successful implantation, recurrent miscarriage, and recurrent implantation failure. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(24):17616. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242417616>
63. Busnelli A., Somigliana E., Cirillo F., Levi-Setti PE. Is diminished ovarian reserve a risk factor for miscarriage? Results of a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2021;27(6):973–88. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab018>
64. Herman HG, Mizrahi Y, Horowitz E, Weissman A, Sabban B, Gluck O, et al. Obstetric outcomes following ovarian hyperstimulation syndrome in IVF – a comparison with uncomplicated fresh and frozen transfer cycles. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2022;22(1):573. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04903-9>
65. Ran S, Zu R, Wu H, Zheng W, Yang C, Yang S, et al. Perinatal outcomes of singleton live births after late moderate-to-severe ovarian hyperstimulation syndrome: a propensity score-matched study. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:9751417. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1063066>
66. Huang K, Shi Y, Chen G, Shi H, Zhai J. Predictive factors for recovery time in conceived women suffering from moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 870008. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.870008>
67. Gullo G, Cucinella G, Stojanovic V, Stojkovic M, Bruno C, Strevia AV, et al. Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS): A narrative review and legal implications. *Journal of Personalized Medicine*. 2024;14(9):915. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm14090915>
68. Ma X, Yin J, Yang R, Yang S, Li J, Wang Y, et al. Clinical Features of Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome with Hydrothorax. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(19):6210. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12196210>
69. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Prevention of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertility and Sterility*. 2023;121(2):230–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.11.013>
70. Reimundo P, Romero JMG, Pérez TR, Veiga E. Single-embryo transfer: a key strategy to reduce the risk for multiple pregnancy in assisted human reproduction. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*. 2021;2(2):179–88. DOI: <https://doi.org/10.1515/almed-2021-0013>
71. Mandourah S, Badeghiesh A, Baghlaf H, Dahan MH. How does the need for IVF affect pregnancy complications among multiple gestations? The study of a large American population database including almost 100,000 multiple gestations. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology X*. 2024;21:100270. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2023.100270>
72. Zhu S, Fan Y, Lan L, Deng T, Zhang Q. Heterotopic Pregnancy Secondary to in vitro Fertilization-Embryo Transfer: Risk Factors and Pregnancy Outcomes. *Frontiers in Medicine*. 2022;9:864560. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.864560>
73. Maleki A, Khalid N, Patel CR, El-Mahdi E. The rising incidence of heterotopic pregnancy: Current perspectives and associations with in-vitro fertilization. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2021;266:138–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.09.031>
74. Cheng T, Shi H, Bu Z, Yu Y, Song W, Jiang H, et al. Contribution of cervical incompetence to occurrence of second trimester abortion in patients with polycystic ovary syndrome during the frozen embryo transfer cycle. *Frontiers in Endocrinology*. 2024;№15:1411618. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1411618>
75. Ni M, Li L, Zhang Q, Zhao J, Li W, Shen Q, et al. Association of chorioamnionitis with infertility treatment and subsequent neonatal outcomes in the US: a population-based cohort study. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2023;23(1):369. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-023-05619-0>
76. Zhao X, Ye S, Yan X, Li R, Wang Y. Risk factors of cervical insufficiency in women with PCOS undergoing IVF-ET treatment: a case-control study. *Frontiers in Endocrinology*. 2025;16:1498443. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1498443>
77. Kong F, Fu Y, Shi H, Li R, Zhao Y, Wang Y, et al. Placental abnormalities and placenta-related complications following in-vitro fertilization: based on national hospitalized data in China. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:924070. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.924070>
78. Wu Y, Cai M, Liang X, Yang X. The prevalence of cervical insufficiency in Chinese women with polycystic ovary syndrome undergone ART treatment accompanied with negative prognosis: a retrospective

- study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2020. №41 (6). P. 888–892. DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1819212>
79. Meng L., Öberg S., Sandström A., et al. Association between infertility and cervical insufficiency in nulliparous women—the contribution of fertility treatment. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2025. №232 (5). P. 468.e1–468.e9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.10.035>
80. Lang M., Zhou M., Lei R., et al. Comparison of pregnancy outcomes between IVF-ET pregnancies and spontaneous pregnancies in women of advanced maternal age. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2023. №36 (1). P. 2183761. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2183761>
81. Chih H. J., Elias F. T. S., Gaudet L., et al. Risk of preeclampsia in pregnancies conceived by assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2021. №43 (5). P. 653–661. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2021.02.016>
82. Silvestris E., Petracca E. A., Mongelli M., et al. Pregnancy by oocyte donation: Reviewing fetal–maternal risks and complications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. №24 (18). P. 13945. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241813945>
83. Cochrane E., Pando C., Kirschen G. W., et al. Assisted reproductive technologies (ART) and placental abnormalities. *Journal of Perinatal Medicine*. 2020. №48 (8). P. 825–828. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0141>
84. Coussa A., Hasan H. A., Barber T. M. Early predictors of gestational diabetes mellitus in IVF-conceived pregnancies. *Endocrine Practice*. 2021. №27 (6). P. 579–585. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2020.10.020>
85. Svensson H., Einarsson S., Olafsson D., et al. Inflammatory and metabolic markers in relation to outcome of in vitro fertilization in a cohort of predominantly overweight and obese women. *Scientific Reports*. 2022. №12 (1). P. 13331. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17612-2>
86. Bai X., Li W., Ding W., et al. New first trimester circulating angiogenic biomarkers in predicting early-onset and late-onset fetal growth restriction: a case-control study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2025. №25. P. 562. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-025-07558-4>
87. Bouariu A., Panaitescu A. M., Nicolaidis K. H. First Trimester Prediction of Adverse Pregnancy Outcomes—Identifying Pregnancies at Risk from as Early as 11–13 Weeks. *Medicina*. 2022. №58 (3). P. 332. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina58030332>
88. Tzanaki I., Makrigiannakis A., Lymperopoulou C., et al. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) as a first trimester serum biomarker for preeclampsia screening: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2025. №38 (1). P. 2448502. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2448502>
89. Stoykova V., Vazharova R., Grigorov E., et al. PAPP-A levels and the risk of preeclampsia. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. 2018. №71 (11). P. 1557–1565. DOI: <https://doi.org/10.7546/crabs.2018.11.16>
90. Medina A. C., Gómez-Acebo I., De Lary C. C. G., et al. Study of first-trimester serum levels of β -hCG and PAPP-A as a screening test for fetal development of intrauterine growth restriction. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2025. №25. P. 655. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-025-07787-7>
91. Kabodmehri R., Gashti N. G., Sorouri Z. Z., et al. Levels of serum β -human chorionic gonadotropin after embryo transfer and subsequent miscarriage, pre-eclampsia, and intrauterine growth restriction. *Health Science Reports*. 2024. №7 (4). DOI: <https://doi.org/10.1002/hsr.2.2015>
92. Stavridis K., Balafoutas D., Kalampokas T., et al. Oral dydrogesterone versus vaginal progesterone for luteal phase support in frozen–thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Clinical Medicine*. 2025. №14 (9). P. 3238. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14093238>
93. Rassie K., Giri R., Joham A. E., et al. Human placental lactogen in relation to maternal metabolic health and fetal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (24). P. 15621. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232415621>
94. Rassie K., Alesi S., Neven A. C. H., et al. Metabolic associations of human placental lactogen in pregnancies at high metabolic risk: an observational cohort study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.70000>
95. Garay S. M., Sumption L. A., John R. M. Prenatal health behaviours as predictors of human placental lactogen levels. *Frontiers in Endocrinology*. 2022. №13. P. 946539. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.946539>
- study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2020;41(6):888–92. DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2020.1819212>
79. Meng L., Öberg S., Sandström A., Reilly M. Association between infertility and cervical insufficiency in nulliparous women—the contribution of fertility treatment. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2025;232(5):468.e1–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.10.035>
80. Lang M., Zhou M., Lei R., Li W. Comparison of pregnancy outcomes between IVF-ET pregnancies and spontaneous pregnancies in women of advanced maternal age. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2023;36(1):2183761. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2023.2183761>
81. Chih HJ, Elias FTS, Gaudet L, Velez MP. Risk of preeclampsia in pregnancies conceived by assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2021;43(5):653–61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jogc.2021.02.016>
82. Silvestris E, Petracca EA, Mongelli M, Arezzo F, Loizzi V, Gaetani M, et al. Pregnancy by oocyte donation: Reviewing fetal–maternal risks and complications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(18):13945. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241813945>
83. Cochrane E, Pando C, Kirschen GW, Soucier D, Fuchs A, Garry DJ. Assisted reproductive technologies (ART) and placental abnormalities. *Journal of Perinatal Medicine*. 2020;48(8):825–8. DOI: <https://doi.org/10.1515/jpm-2020-0141>
84. Coussa A, Hasan HA, Barber TM. Early predictors of gestational diabetes mellitus in IVF-conceived pregnancies. *Endocrine Practice*. 2021;27(6):579–85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2020.10.020>
85. Svensson H, Einarsson S, Olafsson D, Kluge L, Bergh C, Edén S, et al. Inflammatory and metabolic markers in relation to outcome of in vitro fertilization in a cohort of predominantly overweight and obese women. *Scientific Reports*. 2022;12(1):13331. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17612-2>
86. Bai X, Li W, Ding W, Chan OK, Leung MBW, Lau SL, et al. New first trimester circulating angiogenic biomarkers in predicting early-onset and late-onset fetal growth restriction: a case-control study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2025;25:562. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-025-07558-4>
87. Bouariu A, Panaitescu AM, Nicolaidis KH. First Trimester Prediction of Adverse Pregnancy Outcomes—Identifying Pregnancies at Risk from as Early as 11–13 Weeks. *Medicina*. 2022;58(3):332. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina58030332>
88. Tzanaki I, Makrigiannakis A, Lymperopoulou C, Al-Jazrawi Z, Agouridis AP. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) as a first trimester serum biomarker for preeclampsia screening: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2025;38(1):2448502. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2448502>
89. Stoykova V, Vazharova R, Grigorov E, Kremensky I, Markov D, Ivanov S. PAPP-A levels and the risk of preeclampsia. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. 2018;71(11):1557–65. DOI: <https://doi.org/10.7546/crabs.2018.11.16>
90. Medina AC, Gómez-Acebo I, De Lary CCG, Alonso-Molero J, Calvo SV, Feu JMO, et al. Study of first-trimester serum levels of β -hCG and PAPP-A as a screening test for fetal development of intrauterine growth restriction. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2025;25:655. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-025-07787-7>
91. Kabodmehri R, Gashti NG, Sorouri ZZ, Sharami SH, Milani F, Hasanpour M, et al. Levels of serum β -human chorionic gonadotropin after embryo transfer and subsequent miscarriage, pre-eclampsia, and intrauterine growth restriction. *Health Science Reports*. 2024;7(4). DOI: <https://doi.org/10.1002/hsr.2.2015>
92. Stavridis K, Balafoutas D, Kalampokas T, Benetou V, Samoli E, Vlahos N, et al. Oral dydrogesterone versus vaginal progesterone for luteal phase support in frozen–thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Clinical Medicine*. 2025;14(9):3238. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm14093238>
93. Rassie K, Giri R, Joham A. E., et al. Human placental lactogen in relation to maternal metabolic health and fetal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (24). P. 15621. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232415621>
94. Rassie K, Alesi S, Neven ACH, Mason T, Jona E, Ellery SJ, et al. Metabolic associations of human placental lactogen in pregnancies at high metabolic risk: an observational cohort study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1111/aogs.70000>
95. Garay SM, Sumption LA, John RM. Prenatal health behaviours as predictors of human placental lactogen levels. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:946539. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.946539>

96. Duhig K. E., Myers J., Seed P. T., et al. Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. *The Lancet*. 2019. №393 (10183). P. 1807–1818. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)33212-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)33212-4)
97. Cerdeira A. S., O'Sullivan J., Ohuma E. O., et al. Randomized interventional study on prediction of pre-eclampsia/eclampsia in women with suspected preeclampsia. *Hypertension*. 2019. №74 (4). P. 983–990. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12739>
98. Hurrell A., Webster L., Sparkes J., et al. Repeat placental growth factor-based testing in women with suspected preterm preeclampsia: a stratified analysis of the PARROT-2 trial. *Hypertension*. 2024. №81 (7). P. 1561–1573. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.22411>
99. Verlohren S., Brennecke S. P., Galindo A., et al. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PIGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*. 2021. №27. P. 42–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2021.12.003>
100. Frisova V. Prenatal screening for chromosomal defects. *Reproductive Medicine*. 2025. №6 (2). P. 15. DOI: <https://doi.org/10.3390/reprodmed6020015>
101. Wyness S. P., Snow T. M., Villanueva M., et al. Impact of unconjugated estriol (uE3) assay interference on prenatal screening tests. *Clinica Chimica Acta*. 2022. №536. P. 1–5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.08.027>
102. Turkogeldi L. S., Turkogeldi E., Kiyak H., et al. Abnormal first and second trimester maternal serum marker levels for aneuploidy screening and adverse pregnancy outcomes. *Eastern Journal of Medicine*. 2021. №26 (3). P. 418–425. DOI: <https://doi.org/10.5505/ejm.2021.77775>
103. Vannuccini S., Clifton V. L., Fraser I. S., et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome. *Human Reproduction Update*. 2015. №22 (1). P. 104–115. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv044>
104. Xie M., Li Y., Meng Y. Z., et al. Uterine natural Killer cells: a rising star in human pregnancy regulation. *Frontiers in Immunology*. 2022. №13. P. 946539. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918550>
105. Yang S., Wang H., Li D., et al. An estrogen–NK cells regulatory axis in endometriosis, related infertility, and miscarriage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. №25 (6). P. 3362. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25063362>
106. Zhang X., Wei H. Role of decidual natural killer cells in human pregnancy and related pregnancy complications. *Frontiers in Immunology*. 2021. №12. P. 728291. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.728291>
107. Thakur P., Bhalerao A. High homocysteine levels during pregnancy and its association with placenta-mediated complications: a scoping review. *Cureus*. 2023. №15 (2). P. e35244. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.35244>
108. You Y., Stelzl P., Joseph D. N., et al. TNF- α regulated endometrial stroma secretome promotes trophoblast invasion. *Frontiers in Immunology*. 2021. №12. P. 737401. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.737401>
109. Wu H., You Q., Jiang Y., et al. Tumor necrosis factor inhibitors as therapeutic agents for recurrent spontaneous abortion (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2021. №24 (6). P. 847. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12487>
110. Vilotić A., Nacka-Aleksić M., Pirković A., et al. IL-6 and IL-8: An overview of their roles in healthy and pathological pregnancies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (23). P. 14574. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232314574>
111. Cela V., Daniele S., Obino M. E. R., et al. Endometrial dysbiosis is related to inflammatory factors in women with repeated implantation failure: a pilot study. *Journal of Clinical Medicine*. 2022. №11 (9). P. 2481. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11092481>
112. Yang J., Yang X., Yang H., et al. Interleukin 6 in follicular fluid reduces embryo fragmentation and improves the clinical pregnancy rate. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020. №37 (5). P. 1171–1176. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01737-2>
113. Molka B., Gwladys B., Dorian B., et al. Follicular fluid growth factors and interleukin profiling as potential predictors of IVF outcomes. *Frontiers in Physiology*. 2022. №13. P. 859790. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.859790>
114. Kanter J. R., Mani S., Gordon S. M., et al. Uterine natural killer cell biology and role in early pregnancy establishment and outcomes. *F&S Reports*. 2021. №2 (4). P. 265–286. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xfnr.2021.06.002>
96. Duhig KE, Myers J, Seed PT, Sparkes J, Lowe J, Hunter RM, et al. Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial. *The Lancet*. 2019;393(10183):1807–18. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)33212-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)33212-4)
97. Cerdeira AS, O'Sullivan J, Ohuma EO, Harrington D, Szafranski P, Black R, et al. Randomized interventional study on prediction of pre-eclampsia/eclampsia in women with suspected preeclampsia. *Hypertension*. 2019;74(4):983–90. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12739>
98. Hurrell A, Webster L, Sparkes J, Battersby C, Brockbank A, Clark K, et al. Repeat placental growth factor-based testing in women with suspected preterm preeclampsia: a stratified analysis of the PARROT-2 trial. *Hypertension*. 2024;81(7):1561–73. DOI: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.22411>
99. Verlohren S, Brennecke SP, Galindo A, Karumanchi SA, Mirkovic LB, Schlembach D, et al. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PIGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*. 2021;27:42–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2021.12.003>
100. Frisova V. Prenatal screening for chromosomal defects. *Reproductive Medicine*. 2025;6(2):15. DOI: <https://doi.org/10.3390/reprodmed6020015>
101. Wyness SP, Snow TM, Villanueva M, Kunzler T, Seiter J, Genzen JR, et al. Impact of unconjugated estriol (uE3) assay interference on prenatal screening tests. *Clinica Chimica Acta*. 2022;536:1–5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.08.027>
102. Turkogeldi LS, Turkogeldi E, Kiyak H, Yücel N. Abnormal first and second trimester maternal serum marker levels for aneuploidy screening and adverse pregnancy outcomes. *Eastern Journal of Medicine*. 2021;26(3):418–25. DOI: <https://doi.org/10.5505/ejm.2021.77775>
103. Vannuccini S, Clifton VL, Fraser IS, Taylor HS, Critchley H, Giudice LC, et al. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome. *Human Reproduction Update*. 2015;22(1):104–115. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv044>
104. Xie M, Li Y, Meng YZ, Xu P, Yang YG, Dong S, et al. Uterine natural Killer cells: a rising star in human pregnancy regulation. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:946539. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918550>
105. Yang S, Wang H, Li D, Li M. An estrogen–NK cells regulatory axis in endometriosis, related infertility, and miscarriage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(6):3362. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25063362>
106. Zhang X, Wei H. Role of decidual natural killer cells in human pregnancy and related pregnancy complications. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:728291. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.728291>
107. Thakur P, Bhalerao A. High homocysteine levels during pregnancy and its association with placenta-mediated complications: a scoping review. *Cureus*. 2023;15(2):e35244. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.35244>
108. You Y, Stelzl P, Joseph DN, Aldo PB, Maxwell AJ, Dekel N, et al. TNF- α regulated endometrial stroma secretome promotes trophoblast invasion. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:737401. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.737401>
109. Wu H, You Q, Jiang Y, Mu F. Tumor necrosis factor inhibitors as therapeutic agents for recurrent spontaneous abortion (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2021;24(6):847. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12487>
110. Vilotić A, Nacka-Aleksić M, Pirković A, Bojić-Trbojević Ž, Dekanski D, Jovanović Krivokuća M. IL-6 and IL-8: An overview of their roles in healthy and pathological pregnancies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(23):14574. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232314574>
111. Cela V, Daniele S, Obino MER, Ruggiero M, Zappelli E, Ceccarelli L, et al. Endometrial dysbiosis is related to inflammatory factors in women with repeated implantation failure: a pilot study. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(9):2481. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11092481>
112. Yang J, Yang X, Yang H, Bai Y, Zha H, Jiang F, et al. Interleukin 6 in follicular fluid reduces embryo fragmentation and improves the clinical pregnancy rate. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020;37(5):1171–6. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01737-2>
113. Molka B, Gwladys B, Dorian B, Lucie M, Mustapha B, Rosalie C, et al. Follicular fluid growth factors and interleukin profiling as potential predictors of IVF outcomes. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:859790. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.859790>
114. Kanter JR, Mani S, Gordon SM, Mainigi M. Uterine natural killer cell biology and role in early pregnancy establishment and outcomes. *F&S Reports*. 2021;2(4):265–86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xfnr.2021.06.002>

115. Von Woon E., Greer O., Shah N., et al. Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2022. №28 (4). P. 548–582. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac006>
116. Singh N., Dogra Y., Kumar P., et al. Establishment of cut-off values for uterine and peripheral blood natural killer cells during the peri-implantation period in fertile controls and women with unexplained recurrent implantation failure. *Journal of Reproduction and Infertility*. 2023. №24 (4). P. 248–256. DOI: <https://doi.org/10.18502/jri.v24i4.14152>
117. Lei F., Zhang L., Wang L., et al. Association between early spontaneous abortion and homocysteine metabolism. *Frontiers in Medicine*. 2024. №11. P. 1310112. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1310112>
118. Levin B.L., Varga E. MTHFR: Addressing genetic counseling dilemmas using evidence-based literature. *Journal of Genetic Counseling*. 2016. №25 (5). P. 901–911. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10897-016-9956-7>
115. Von Woon E., Greer O., Shah N., Nikolaou D., Johnson M., Male V. Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2022;28(4):548–82. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac006>
116. Singh N., Dogra Y., Kumar P., Mathur S., Sharma A., Patel G. Establishment of cut-off values for uterine and peripheral blood natural killer cells during the peri-implantation period in fertile controls and women with unexplained recurrent implantation failure. *Journal of Reproduction and Infertility*. 2023;24(4):248–56. DOI: <https://doi.org/10.18502/jri.v24i4.14152>
117. Lei F., Zhang L., Wang L., Wu W., Wang F. Association between early spontaneous abortion and homocysteine metabolism. *Frontiers in Medicine*. 2024;11:1310112. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1310112>
118. Levin BL, Varga E. MTHFR: Addressing genetic counseling dilemmas using evidence-based literature. *Journal of Genetic Counseling*. 2016;25(5):901–11. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10897-016-9956-7>

Обмеження дослідження

Автори свідомо визнають, що результати цього огляду мають певні обмеження, пов'язані з обраними рамками тематики, часовими періодами та типами досліджень, а також доступністю джерел. Пошукова стратегія охоплювала бази даних PubMed, Scopus, Web of Science та Google Scholar за період 2015–2025 років. Включені роботи різнилися за дизайном, розміром вибірки та методологічною якістю; у частині досліджень спостерігався підвищений ризик упередженості, а міждослідницька варіабельність показників залишалася істотною. Це обмежує внутрішню валідність узагальнених оцінок та переносимість висновків на інші популяції й клінічні контексти. Для зменшення впливу зазначених факторів застосовано незалежний подвійний відбір і вилучення даних, а також використано розширені комбінації ключових слів і логічних операторів при пошуку літератури

Limitations of the study

The authors acknowledge that the results of this review have certain limitations related to the defined scope of the topic, time frame, and types of studies, as well as the availability of sources. The search strategy covered PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar for the period 2015–2025. The included studies varied in design, sample size, and methodological quality; some studies presented an increased risk of bias, and substantial inter-study variability of outcomes was observed. This limits the internal validity of aggregated estimates and the generalizability of findings to other populations and clinical contexts. To minimize the impact of these factors, independent double screening and data extraction were performed, and extended combinations of keywords and logical operators were used in the literature search.

Перспективи подальших досліджень

Сучасні репродуктивні технології є поширеною практикою, що має велике значення для сучасної демографічної ситуації в країні. Вагітності у такому разі розглядаються як вагітності високого ризику і має певну частоту ускладнень. Для підвищення ефективності екстракорпорального запліднення та оптимізації ведення гестаційного процесу, що розпочався внаслідок штучного запліднення, необхідне подальше поглиблене вивчення складних фізіологічних процесів, починаючи з моменту імплантації заплідненої яйцеклітини, формування хоріону і плаценти, розвитку ембріона та плода. Рациональний менеджмент вагітностей високого ризику дозволить покращити наслідки вагітності та її перинатальні показники.

Prospects for further research

Modern reproductive technologies are a widespread practice that is of great importance for the current demographic situation in the country. Pregnancies in this case are considered high-risk pregnancies and have a certain frequency of complications. To increase the effectiveness of in vitro fertilization and optimize the management of the gestational process that began as a result of artificial insemination, further in-depth study of complex physiological processes is necessary starting from the moment of implantation of the fertilized egg, the formation of the chorion and placenta, the development of the embryo and fetus. Rational management of high-risk pregnancies will improve the outcomes of pregnancy and its perinatal indicators.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису 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 declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject of the materials provided, or who sponsored the research conducted.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що підготовка рукопису здійснювалась виключно на основі відкрито опублікованих наукових джерел. У роботі не використовувались ніякі персоналізовані дані пацієнтів, або результати первинних клінічних, доклінічних досліджень. У зв'язку з цим отримання схвалення комісії з питань біоетики не вимагалось. Дослідження виконане з дотриманням принципів належної

Ethics statement

The authors of the manuscript consciously certify that the preparation of the manuscript was carried out exclusively on the basis of openly published scientific sources. No personalized patient data or the results of primary clinical, preclinical studies were used in the work. In this regard, obtaining approval from the bioethics committee was not required. The study was performed in compliance with the principles of good scientific practice and

наукової практики та відповідно до міжнародних етичних стандартів, зокрема рекомендацій Комітету з публікаційної етики «COPE» (*Committee on Publication Ethics*).

in accordance with international ethical standards, in particular the recommendations of the Committee on Publication Ethics "COPE" (*Committee on Publication Ethics*).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідчать, що при проведенні дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи до фінального редагування включно виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript declare that during the research and preparation of this manuscript, no generative artificial intelligence tools or services were used to perform any tasks listed in the *Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy* (GAIDeT, 2025). All stages of the work up to and including final editing were performed without the involvement of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що первинна медична документація (історії хвороби, амбулаторні картки, протоколи обстежень, результати лабораторних та інструментальних досліджень конкретних пацієнтів) та статистичні бази даних у роботі не використовувалися. Усі твердження та узагальнення підкріплені посиланнями на першоджерела, доступні у відкритому доступі або через наукові бібліотечні ресурси. Додаткові матеріали, що стосуються процесу відбору джерел чи деталізації методології аналізу, можуть бути надані автором-кореспондентом за обґрунтованим запитом.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that primary medical documentation (case histories, outpatient cards, examination protocols, results of laboratory and instrumental studies of specific patients) and statistical databases were not used in the work. All statements and generalizations are supported by references to primary sources, available in the open access or through scientific library resources. Additional materials related to the process of source selection or detailing the analysis methodology can be provided by the corresponding author upon reasonable request.

Інформація про фінансування

Автори заявляють, що вони не отримували жодної фінансової підтримки від інших осіб чи організацій для проведення чи публікації поточної роботи.

Funding information

The authors declare that they have not received any financial support from other individuals or organizations for the conduct or publication of the current work.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Коваленко Микола Миколайович – здобувач вищої освіти третього рівня очної форми навчання кафедри загальної практики-сімейної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; лікар акушер-гінеколог акушерського відділення Пологового будинку «Лелека», вул. Квітки Цісик, буд. 56, м. Київ, Україна, 04057;
e-mail: niko_pm@ukr.net
mob.: +38 (050) 929-55-18

Внесок автора: формулювання мети роботи, підбір літературних джерел за темою роботи, формулювання висновків, написання статті.

Грищенко Ольга Валентинівна – доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, професор кафедри загальної практики-сімейної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: gryshchenko1954@gmail.com
mob.: +38 (050) 590-62-75

Внесок автора: формулювання мети роботи, формулювання висновків, концепція та дизайн дослідження, редагування статті, остаточне затвердження статті.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Kovalenko Mykola Mykolayovych – a third-level full-time higher education student in general practice and family medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; obstetrician-gynecologist of the Obstetrics department of the Maternity Hospital «Leleka»; 56 Kvitky Tsisyk Str., Kyiv, Ukraine, 04057;

e-mail : niko_pm@ukr.net
mob .: +38 (050) 929-55-18

Author's contribution: formulation of the purpose of the work, selection of literary sources on the topic of the work, formulation of conclusions, writing the article.

Hryshchenko Olga Valentynivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Professor of the Department of General Practice and Family Medicine of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;
email: gryshchenko1954@gmail.com
mobile: +38 (050) 590-62-75

Author's contribution: formulation of the purpose of the work, formulation of conclusions, concept and design of the study, editing of the article, final approval of the article.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
04.08.2025

Отримано після рецензування
Received after review
01.10.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-15>
УДК: 616.12-005.4:612.014.46:612.135:616.13-092



Багаторівневі детермінанти ішемічного ушкодження серця: клітинні стресові відповіді, порушення мітохондріальної функції та ендотеліальна дисфункція

Чиж М.О.¹, <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, e-mail: n.chizh@ukr.net
Гладких Ф.В.^{2,3}, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Лядова Т.І.², <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>, e-mail: t.lyadova@karazin.ua
Ляшок А.Л.², <https://orcid.org/0000-0003-2098-1697>, e-mail: andrii.liashok@karazin.ua
Матвєєнко М.С.², <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
Каніщева О.В.², <https://orcid.org/0000-0002-2955-5478>, e-mail: elena.petrenko@karazin.ua
Кошурба І.В.², <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, e-mail: koshurba@gmail.com

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини

Національної академії наук України, Харків, Україна

²Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

³Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Multilevel determinants of ischemic cardiac injury: cellular stress responses, mitochondrial insufficiency, and endothelial dysfunction

Chyzh M.O.¹, <https://orcid.org/0000-0003-0085-296X>, e-mail: n.chizh@ukr.net
Hladkykh F.V.^{2,3}, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
Liadova T.I.², <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>, e-mail: t.lyadova@karazin.ua
Liashok A.L.², <https://orcid.org/0000-0003-2098-1697>, e-mail: andrii.liashok@karazin.ua
Matvieienko M.S.², <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua
Kanishcheva O.V.², <https://orcid.org/0000-0002-2955-5478>, e-mail: elena.petrenko@karazin.ua
Koshurba I.V.², <https://orcid.org/0000-0002-4595-9245>, e-mail: koshurba@gmail.com

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkiv National University

of Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

³State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

ішемія серця, енергетичний метаболізм, клітинне ушкодження, ендотеліальна дисфункція.

Для кореспонденції:

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

© Чиж М.О., Гладких Ф.В., Лядова Т.І.,
Ляшок А.Л., Матвєєнко М.С.,
Каніщева О.В., Кошурба І.В., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Порушення кровопостачання серця призводить до глибоких метаболічних, клітинних та мікросудинних змін, що визначають масштаб гострого ушкодження та подальше формування серцевої недостатності. Розуміння узгодженої дії енергетичних, іонних, мітохондріальних та запальних механізмів є необхідним для розробки сучасних підходів до лікування й профілактики ускладнень після гострої ішемії серця.

Мета роботи – систематизація та узагальнення сучасних даних щодо ключових клітинних, молекулярних, мітохондріальних, мікроциркуляторних та ендотеліальних механізмів ішемічного та ішемічно-реперфузійного ушкодження міокарда.

Матеріали та методи. Літературний пошук проведено у міжнародних наукових базах, що містять клінічні й експериментальні дані з патофізіології серцевого ушкодження. На першому етапі використано тематичні ключові слова. На другому етапі виконано відбір публікацій на основі аналізу резюме. На третьому етапі проведено повнотекстове вивчення та контент-аналіз джерел, які висвітлювали клітинні, метаболічні та мікросудинні механізми гострої ішемії.

Результати. Ішемія спричиняє швидку перебудову енергетичного обміну з накопиченням продуктів неповного окиснення, розвитком кислотно-лужних зсувів та порушенням іонного балансу. Відбувається прогресуюче накопичення кальцію, зниження

активності мембранних насосів і втрата структурної цілісності клітини. Мітохондрії в умовах нестачі кисню та відновлення кровотоку стають джерелом надмірних кисневих радикалів, що запускають відкриття проникної пори, енергетичний колапс і загибель клітин. Порушення мікроциркуляції та ендотеліальна дисфункція обмежують ефективність відновлення кровотоку. Сукупність цих механізмів визначає обсяг ушкодження, темпи відновлення та масштаб ремоделювання серця.

Висновки. Ішемічне та реперфузійне ушкодження є результатом взаємодії метаболічних, іонних, мітохондріальних та мікросудинних змін. Виявлення їх ключових вузлів створює основу для розробки нових методів цілеспрямованої терапії.

Для цитування:

Чиж М.О., Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Ляшок А.Л., Матвієнко М.С., Каніщева О.В., Кошурба І.В. Багаторівневі детермінанти ішемічного ушкодження серця: клітинні стресові відповіді, порушення мітохондріальної функції та ендотеліальна дисфункція. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. Т. 33 № 5(56). С. 896–917. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-15>

Keywords:

cardiac ischemia, energy metabolism, cell damage, endothelial dysfunction.

For correspondence:

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

© Chyzh M.O., Hladkykh F.V.,
Liadova T.I., Liashok A.L.,
Matvieienko M.S., Kanishcheva O.V.,
Koshurba I.V., 2025

ABSTRACT

Background. Impaired blood supply to the heart leads to profound metabolic, cellular, and microvascular changes that determine the extent of acute injury and the subsequent development of heart failure. Understanding the coordinated action of energy, ionic, mitochondrial, and inflammatory mechanisms is essential for developing modern approaches to the treatment and prevention of complications after acute cardiac ischemia. **Purpose** – to systematize and summarize current data on the key cellular, molecular, mitochondrial, microcirculatory, and endothelial mechanisms of ischemic and ischemia-reperfusion myocardial injury.

Materials and Methods. A literature search was conducted in international scientific databases containing clinical and experimental data on the pathophysiology of cardiac injury. The first stage used thematic keywords. The second stage selected publications based on abstract analysis. The third stage conducted a full-text study and content analysis of sources that covered the cellular, metabolic, and microvascular mechanisms of acute ischemia.

Results. Ischemia causes a rapid restructuring of energy metabolism with the accumulation of incomplete oxidation products, the development of acid-base shifts and a violation of the ionic balance. There is a progressive accumulation of calcium, a decrease in the activity of membrane pumps and a loss of structural integrity of the cell. Mitochondria in conditions of oxygen deficiency and restoration of blood flow become a source of excessive oxygen radicals, which trigger the opening of the permeability pore, energy collapse and cell death. Microcirculation disorders and endothelial dysfunction limit the effectiveness of blood flow restoration. The combination of these mechanisms determines the extent of damage, the rate of recovery and the scale of cardiac remodeling.

Conclusions. Ischemic and reperfusion injury is the result of an interaction of metabolic, ionic, mitochondrial, and microvascular changes. Identification of their key nodes creates the basis for the development of new methods of targeted therapy.

For citation:

Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Liashok AL, Matvieienko MS, Kanishcheva OV, Koshurba IV. Multilevel determinants of ischemic cardiac injury: cellular stress responses, mitochondrial insufficiency, and endothelial dysfunction. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;33(5(56)):896-917. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-15>

ВСТУП

Серце потребує значного та безперервного енергопостачання для підтримання скоротливої, електричної та метаболічної активності, оскільки функціонує у режимі постійного високого навантаження. Основним джерелом енергії для кардіоміоцитів є аденозинтрифосфат (АТФ), синтез якого здійснюється переважно шляхом окисного фосфорилування у мітохондріях, де забезпечується найбільш ефективне перетворення енергетичних субстратів у макроергічні фосфатні зв'язки [1, 2, 3]. Відомо, що кардіоміоцити характеризуються надзвичайно високою залежністю від стабільного надходження кисню, оскільки понад 90% їхнього АТФ-генеруючого потенціалу ґрунтується саме на аеробних метаболічних шляхах [4]. Навіть короточасне зниження парціального

INTRODUCTION

The heart requires substantial and continuous energy supply to sustain its contractile, electrical, and metabolic activity, as it operates under conditions of constant high workload. The primary energy source for cardiomyocytes is adenosine triphosphate (ATP), which is generated predominantly through oxidative phosphorylation in mitochondria, where the most efficient conversion of energetic substrates into high-energy phosphate bonds is ensured [1, 2, 3]. It is well established that cardiomyocytes exhibit an exceptionally high dependence on continuous oxygen delivery, as more than 90% of their ATP-generating capacity relies specifically on aerobic metabolic pathways [4]. Even a short-term reduction in the partial pressure of oxygen leads to a rapid disruption

тиску кисню призводить до швидкого порушення електронтранспортного ланцюга, зменшення продукції АТФ та активації анаеробного гліколізу з накопиченням лактату та внутрішньоклітинного ацидозу, що створює додаткове метаболічне та іонне навантаження на клітину [5, 6, 7].

Переривання коронарного кровотоку швидко формує критичний стрес для кардіоміоцитів, оскільки порушується доставка не лише кисню, а й ключових метаболітів, необхідних для підтримання іонного гомеостазу та мембранного потенціалу. В умовах ішемії спостерігається прогресуюча дисфункція кальцієвого обміну, надмірне накопичення внутрішньоклітинного Ca^{2+} , виснаження енергетичних резервів і дестабілізація мітохондріальних мембран, що запускає каскади апоптозу та некрозу кардіоміоцитів [6]. Паралельно формується локальний ендотеліальний дисфункціональний стан, погіршення мікроциркуляції та розвиток вторинного запального uszkodження, що ще більше посилює структурні та функціональні порушення міокарда [8]. Сукупність цих змін визначає масштаб загибелі клітин у зоні ішемії та ступінь розвитку подальшого ремоделювання серця.

З'ясування механізмів, що беруть участь в інфаркті серця, є принципово важливим для ідентифікації терапевтичних мішеней, здатних модифікувати перебіг гострого ішемічного uszkodження. Особливої актуальності це набуває з огляду на те, що міокард характеризується надзвичайно низьким регенеративним потенціалом, зумовленим обмеженою проліферативною здатністю зрілих кардіоміоцитів та високим рівнем диференціації цих клітин [9]. Відповідно, будь-яке втручання, спрямоване на модулювання клітинної загибелі, зниження інтенсивності оксидативного стресу, стабілізацію мітохондріальних структур або корекцію метаболічних зрушень, може виступати потенційно ефективним інструментом для зменшення первинного uszkodження та покращення прогнозу пацієнтів [10]. Додаткового значення набувають стратегії контролю запальної відповіді, спрямовані на обмеження вторинного некрозу та формування надмірного рубцювання [11].

Нові біотехнологічні підходи відкривають можливості для регенерації постішемічного міокарда та корекції структурних дефектів, що виникають унаслідок інфаркту. Використання плюрипотентних стовбурових клітин, здатних диференціюватися у кардіоміоцитарний та судинний напрямки, розглядається як потенційний спосіб відновлення втрачених тканинних структур [12, 13]. Гідрогелі можуть виконувати роль біосумісних каркасів для доставки клітинних або молекулярних терапевтичних агентів і створення сприятливого середовища для локальної регенерації [14]. Нанотехнологічні платформи, у свою чергу, дозволяють більш точно модулювати локальну доставку препаратів, контролювати вивільнення біологічно активних молекул та впливати на міжклітинні сигнальні шляхи [15]. Сукупність цих напрямків формує основу сучасних перспективних стратегій, спрямованих на покращення структурно-функціонального відновлення міокарда та зменшення обсягу постінфарктного ремоделювання.

Мета роботи – систематизація та узагальнення сучасних даних щодо ключових клітинних, молекулярних, мітохондріальних, мікроциркуляторних

of the electron transport chain, decreased ATP production, and activation of anaerobic glycolysis with accumulation of lactate and intracellular acidosis, creating additional metabolic and ionic stress on the cell [5, 6, 7].

Interruption of coronary blood flow rapidly creates critical stress for cardiomyocytes, as it disrupts the delivery not only of oxygen but also the key metabolites required to maintain ionic homeostasis and membrane potential. Under ischemic conditions, progressive dysfunction of calcium handling occurs, accompanied by excessive intracellular Ca^{2+} accumulation, depletion of energy reserves, and destabilization of mitochondrial membranes, triggering cascades of cardiomyocyte apoptosis and necrosis [6]. Concurrently, a state of localized endothelial dysfunction develops, accompanied by impaired microcirculation and secondary inflammatory injury, which further exacerbates the structural and functional disturbances of the myocardium [8]. The combination of these processes determines the extent of cell death within the ischemic region and the degree of subsequent cardiac remodeling.

Elucidating the mechanisms involved in myocardial infarction is fundamentally important for identifying therapeutic targets capable of modifying the course of acute ischemic injury. This is particularly relevant given that the myocardium possesses an extremely low regenerative potential, attributable to the limited proliferative capacity of mature cardiomyocytes and the high degree of differentiation of these cells [9]. Accordingly, any intervention aimed for modulating cell death, reducing the intensity of oxidative stress, stabilizing mitochondrial structures, or correcting metabolic disturbances may serve as a potentially effective tool for limiting primary injury and improving patient outcomes [10]. Strategies to control the inflammatory response targeted at reducing secondary necrosis and preventing excessive scar formation are also of particular importance [11].

Recent biotechnological approaches offer opportunities for regenerating post-ischemic myocardium and correcting structural defects that came as a consequence of infarction. The use of pluripotent stem cells capable of differentiating into cardiomyocytic and vascular lineages is being considered as a potential method for restoring lost tissue structures [12, 13]. Hydrogels may serve as biocompatible scaffolds for delivering cellular or molecular therapeutic agents and for creating a favorable environment for localized regeneration [14]. Nanotechnological platforms, in turn, enable more precise modulation of local drug delivery, control over the release of biologically active molecules, and influence on intercellular signaling pathways [15]. Together, these approaches form the foundation of contemporary advanced strategies aimed at improving the structural and functional recovery of the myocardium and reducing the extent of post-infarction remodeling.

Objective – To systematize and summarize current data on the key cellular, molecular, mitochondrial, microcirculatory, and endothelial mechanisms of ischemic

та ендотеліальних механізмів ішемічного та ішемічно-реперфузійного ушкодження міокарда з акцентом на дисрегуляцію енергетичного метаболізму, порушення кальцієвого гомеостазу, окисний стрес і каскади клітинної загибелі, а також визначення потенційних терапевтичних мішеней для модифікації перебігу гострої ішемії серця.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Підбір публікацій виконано за базами даних. (<https://ncbi.nlm.nih.gov/>), Clinical Key Elsevier (<https://www.clinicalkey.com>), Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com/>), eBook Business Collection (EBSCO) (<https://www.ebsco.com/>) та Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), у яких висвітлювалися відомості щодо клітинних, молекулярних, мітохондріальних, мікроциркуляторних та ендотеліальних механізмів ішемічного та ішемічно-реперфузійного ушкодження міокарда.

На **першому етапі** здійснювали пошук літературних джерел за ключовими словами: «*myocardial ischemia*», «*ischemia-reperfusion injury*», «*mitochondrial dysfunction*», «*calcium overload*», «*oxidative stress*», «*microcirculation*», «*endothelial dysfunction*», «*cell death pathways*», «*apoptosis*», «*necrosis*», «*necroptosis*», а також їх українськими відповідниками.

На **другому етапі** проводився аналіз резюме відібраних статей з метою попереднього визначення відповідності тематичному профілю та виключення публікацій, що не відповідали критеріям дослідження, включно з низькою науковою якістю, відсутністю первинних даних або недостатньою деталізацією клітинно-молекулярних механізмів.

На **третьому етапі** здійснювалося повнотекстове вивчення відібраних статей та аналітичне зіставлення отриманих даних щодо механізмів, що лежать в основі ішемічного ушкодження міокарда, включно з порушенням енергетичного метаболізму, кальцієвого гомеостазу, окисного стресу, активації пори мітохондріальної проникності, формуванням мікроваскулярної дисфункції та феномену «no-reflow».

Критеріями включення публікацій до вибірки, яка підлягала контент-аналізу, були:

1. Висвітлення сучасних, експериментально або клінічно обґрунтованих відомостей щодо клітинних, молекулярних та мікросудинних механізмів ішемії та реперфузійного ушкодження міокарда;

2. Відповідність досліджень ключовим засадам доказової медицини, у тому числі чітке описання дизайну, методології та статистичної обробки;

3. Наявність відкритого доступу до повного тексту статті для забезпечення повноцінного аналізу.

Додатково враховувалися публікації високої цитованості, огляди провідних наукових груп та актуальні експериментальні роботи, що формують сучасне уявлення про патогенетичні шляхи ішемії та реперфузійного ушкодження міокарда.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ішемічне ушкодження міокарда та його реперфузійні наслідки є складним багатофакторним процесом,

and ischemia-reperfusion myocardial injury, with a focus on dysregulation of energy metabolism, disturbances in calcium homeostasis, oxidative stress, and cell death cascades, as well as to identify potential therapeutic targets for modifying the course of acute cardiac ischemia.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The selection of publications was performed using the following databases: NCBI (<https://ncbi.nlm.nih.gov/>), ClinicalKey Elsevier (<https://www.clinicalkey.com>), Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com/>), eBook Business Collection (EBSCO) (<https://www.ebsco.com/>), and Google Scholar (<https://scholar.google.com/>). The included studies provided information on the cellular, molecular, mitochondrial, microcirculatory, and endothelial mechanisms of ischemic and ischemia-reperfusion myocardial injury.

At the first stage, a literature search was conducted using the following keywords: «*myocardial ischemia*», «*ischemia-reperfusion injury*», «*mitochondrial dysfunction*», «*calcium overload*», «*oxidative stress*», «*microcirculation*», «*endothelial dysfunction*», «*cell death pathways*», «*apoptosis*», «*necrosis*», «*necroptosis*», as well as their Ukrainian equivalents.

At the second stage, the abstracts of the selected articles were analyzed to preliminarily assess their relevance to the thematic scope and to exclude publications that did not meet the study criteria, including those of low scientific quality, lacking primary data, or providing insufficient detail on cellular and molecular mechanisms.

At the third stage, a full-text review of the selected articles was conducted, followed by an analytical comparison of the obtained data regarding the mechanisms underlying ischemic myocardial injury, including disturbances in energy metabolism, calcium homeostasis, oxidative stress, activation of the mitochondrial permeability transition pore, development of microvascular dysfunction, and the «no-reflow» phenomenon.

The inclusion criteria for publications in the sample subjected to content analysis were:

1. Presentation of contemporary, experimentally or clinically substantiated information on the cellular, molecular, and microvascular mechanisms of myocardial ischemia and reperfusion injury;

2. Compliance of the studies with the key principles of evidence-based medicine, including clear description of study design, methodology, and statistical analysis;

3. Availability of full-text access to the article to ensure comprehensive analysis.

Additionally, highly cited publications, reviews by leading research groups, and recent experimental studies that shape the current understanding of the pathogenetic pathways of ischemic and reperfusion myocardial injury were also considered.

RESULTS AND DISCUSSION

Myocardial ischemic injury and its reperfusion consequences constitute a complex multifactorial process

що охоплює цілу низку взаємопов'язаних клітинних, молекулярних, біоенергетичних та мікросудинних порушень. Незважаючи на значний прогрес у кардіології та вдосконалення методів ранньої реперфузії, ішемічно-реперфузійне пошкодження залишається ключовим патофізіологічним чинником, який визначає обсяг некрозу, ступінь дисфункції серця та довгостроковий прогноз пацієнта. Сучасні експериментальні та клінічні дослідження демонструють, що ішемія ініціює складний каскад внутрішньоклітинних змін, включно з гіпоксичною перебудовою метаболізму, порушенням кислотно-лужної рівноваги, дисрегуляцією кальцієвого гомеостазу та активацією сигналів клітинної загибелі.

Особливу роль у формуванні тяжкості ушкодження відіграють мітохондріальні дисфункції, зокрема відкриття пори мітохондріальної проникності, зниження синтезу АТФ та генерація надмірної кількості активних форм кисню (АФК). Ці зміни запускають низку механізмів некрозу, апоптозу та запрограмованого некрозу (некроптозу), які визначають структурно-функціональну деградацію кардіоміоцитів. Паралельно в умовах ішемії активуються інтенсивні процеси окисного стресу, виснаження антиоксидантних систем та порушення редокс-балансу, що потенціює ушкоджувальний ефект метаболічних та іонних змін.

Не менш важливими у контексті гострої ішемії міокарда є мікроциркуляторні та ендотеліальні порушення, які обмежують адекватне відновлення кровотоку та оксигенації тканин навіть після успішної реперфузії. Дисфункція ендотелію, зниження біодоступності оксиду азоту, підвищена проникність судинної стінки, активація адгезії лейкоцитів та формування феномену «no-reflow» істотно погіршують результати лікування.

У цьому огляді узагальнено сучасні уявлення про ключові клітинні, мітохондріальні, молекулярні та мікросудинні механізми ішемічного й ішемічно-реперфузійного ушкодження міокарда. Представлений аналіз надає цілісне бачення патогенетичних взаємозв'язків, підкреслює роль критичних біологічних шляхів та окреслює потенційні мішені для майбутніх терапевтичних втручань.

1. Клітинні та молекулярні механізми ішемії: роль гіпоксії, ацидозу та порушення кальцієвого гомеостазу

Гіпоксія під час гострої коронарної оклюзії зумовлює негайне зміщення енергетичного метаболізму кардіоміоцитів від окисного фосфорилування до анаеробного гліколізу [16, 17]. Така перебудова є адаптивною лише на ранніх етапах: вона підтримує мінімально необхідний синтез АТФ для іонного транспорту та базової механохімічної роботи скоротливого апарату, але супроводжується накопиченням лактату й іонів H^+ , формуванням внутрішньоклітинного ацидозу та зниженням ефективності ензимних реакцій [18]. За умов тривалішої ішемії скорочується пул високоенергетичних фосфатів, зростає частка неорганічного фосфату, а в саркомерах формується стан кальцієзалежної «жорсткої» фіксації актоміозинових містків із розвитком контрактурного заціпеніння. Сукупно це переводить клітину з режиму оборотних порушень в фазу структурної дезінтеграції з ризиком незворотних ушкоджень [18].

encompassing a wide range of interconnected cellular, molecular, bioenergetic, and microvascular disturbances. Despite significant advances in cardiology and improvements in early reperfusion strategies, ischemia-reperfusion injury remains a key pathophysiological factor that determines the extent of necrosis, the degree of cardiac dysfunction, and the long-term prognosis of the patient. Contemporary experimental and clinical studies demonstrate that ischemia initiates a complex cascade of intracellular changes, including hypoxic metabolic remodeling, disturbances in acid-base balance, dysregulation of calcium homeostasis, and activation of cell death signaling pathways.

Mitochondrial dysfunction plays a particularly important role in determining the severity of injury, including the opening of the mitochondrial permeability transition pore, decreased ATP synthesis, and excessive generation of reactive oxygen species (ROS). These alterations trigger a series of necrotic, apoptotic, and programmed necrotic (necroptotic) mechanisms that drive the structural and functional degradation of cardiomyocytes. Concurrently, ischemic conditions activate intense oxidative stress, deplete antioxidant defenses, and disrupt redox balance, thereby potentiating the injurious effects of metabolic and ionic disturbances.

Equally important in the context of acute myocardial ischemia are microcirculatory and endothelial disturbances, which limit adequate restoration of blood flow and tissue oxygenation even after successful reperfusion. Endothelial dysfunction, reduced bioavailability of nitric oxide, increased vascular permeability, activation of leukocyte adhesion, and the development of the «no-reflow» phenomenon significantly worsen treatment outcomes.

This review summarizes current understanding of the key cellular, mitochondrial, molecular, and microvascular mechanisms of ischemic and ischemia-reperfusion myocardial injury. The analysis provides a comprehensive view of pathogenetic interrelationships, highlights the role of critical biological pathways, and outlines potential targets for future therapeutic interventions.

1. Cellular and Molecular Mechanisms of Ischemia: The Role of Hypoxia, Acidosis, and Disruption of Calcium Homeostasis

During acute coronary occlusion, hypoxia induces an immediate shift in cardiomyocyte energy metabolism from oxidative phosphorylation to anaerobic glycolysis [16, 17]. This metabolic adaptation is beneficial only at early stages: it sustains the minimally required ATP synthesis for ion transport and basic mechano-chemical function of the contractile apparatus, but it is accompanied by lactate and H^+ ion accumulation, development of intracellular acidosis, and reduced efficiency of enzymatic reactions [18]. With prolonged ischemia, the pool of high-energy phosphates decreases, the proportion of inorganic phosphate rises, and a state of calcium-dependent «rigor» cross-bridge fixation forms within the sarcomeres, leading to contracture stiffening. Collectively, these changes shift the cell from a state of reversible disturbances to a phase of structural disintegration, increasing the risk of irreversible injury [18].

Ацидоз є центральною ланкою метаболічної відповіді на гіпоксію та потужним модифікатором іонного гомеостазу. Падіння внутрішньоклітинного pH активує протонекструзійні системи плазматичної мембрани, насамперед Na^+/H^+ -обмін і бікарбонатзалежний транспорт [19]. Нормалізуючи pH, ці механізми автокумулятивно підвищують вміст Na^+ у цитозолі. Натрієве перевантаження, у свою чергу, зміщує роботу $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника у «зворотний» режим із входом Ca^{2+} до клітини, що спричиняє кальцієву перевантаженість саркоплазми [20]. Паралельно ацидоз і дефіцит АТФ знижують активність Ca^{2+} -АТФаз саркоплазматичного ретикулу та сарколеми, погіршуючи реабсорбцію Ca^{2+} у ретикулум і його вичерпання зі скоротливого апарату під час діастолі. Результатом є діастолічна дисфункція, гіперскоротливість окремих сегментів і зростання енергетичної вартості одиниці механічної роботи [20].

Мітохондрії інтегрують наслідки гіпоксії, ацидозу й кальцієвої дисрегуляції. За ішемії порушується електрохімічний градієнт на внутрішній мембрані, зменшується швидкість переносу електронів, накопичуються відновлені субстрати та формується субстрат для сплеску АФК у момент реперфузії [21]. Надходження Ca^{2+} у матрикс знижує поріг відкриття мітохондріальної перехідної пори проникності (mPTP), а відновлення pH під час реперфузії додатково полегшує цей перехід [18, 22, 23]. Транзиторне або тривале відкриття mPTP призводить до розсіювання мембранного потенціалу, роз'єднання окисного фосфорилування, набряку мітохондрій, вивільнення проапоптотичних факторів і лавиноподібного підсилення АФК (рис. 1) [18, 21].

Acidosis is a central component of the metabolic response to hypoxia and a potent modulator of ionic homeostasis. A decrease in intracellular pH activates plasma membrane proton extrusion systems, primarily the Na^+/H^+ exchanger and bicarbonate-dependent transport mechanisms [19]. By normalizing pH, these mechanisms cumulatively increase cytosolic Na^+ levels. Sodium overload, in turn, shifts the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger into a «reverse» mode, allowing Ca^{2+} influx into the cell, which leads to sarcoplasmic calcium overload [20]. Concurrently, acidosis and ATP depletion reduce the activity of Ca^{2+} -ATPases in the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma, impairing Ca^{2+} reuptake into the reticulum and its removal from the contractile apparatus during diastole. This results in diastolic dysfunction, hypercontractility of individual segments, and an increased energetic cost per unit of mechanical work [20].

Mitochondria integrate the consequences of hypoxia, acidosis, and calcium dysregulation. During ischemia, the electrochemical gradient across the inner mitochondrial membrane is disrupted, the rate of electron transport decreases, reduced substrates accumulate, and a substrate pool is formed that contributes to a burst of reactive oxygen species (ROS) upon reperfusion [21]. Ca^{2+} entry into the mitochondrial matrix lowers the threshold for opening of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP), and pH restoration during reperfusion further facilitates this transition [18, 22, 23]. Transient or sustained opening of the mPTP results in dissipation of the membrane potential, uncoupling of oxidative phosphorylation, mitochondrial swelling, release of pro-apoptotic factors, and a cascade-like amplification of reactive oxygen species (ROS) (Fig. 1) [18, 21].

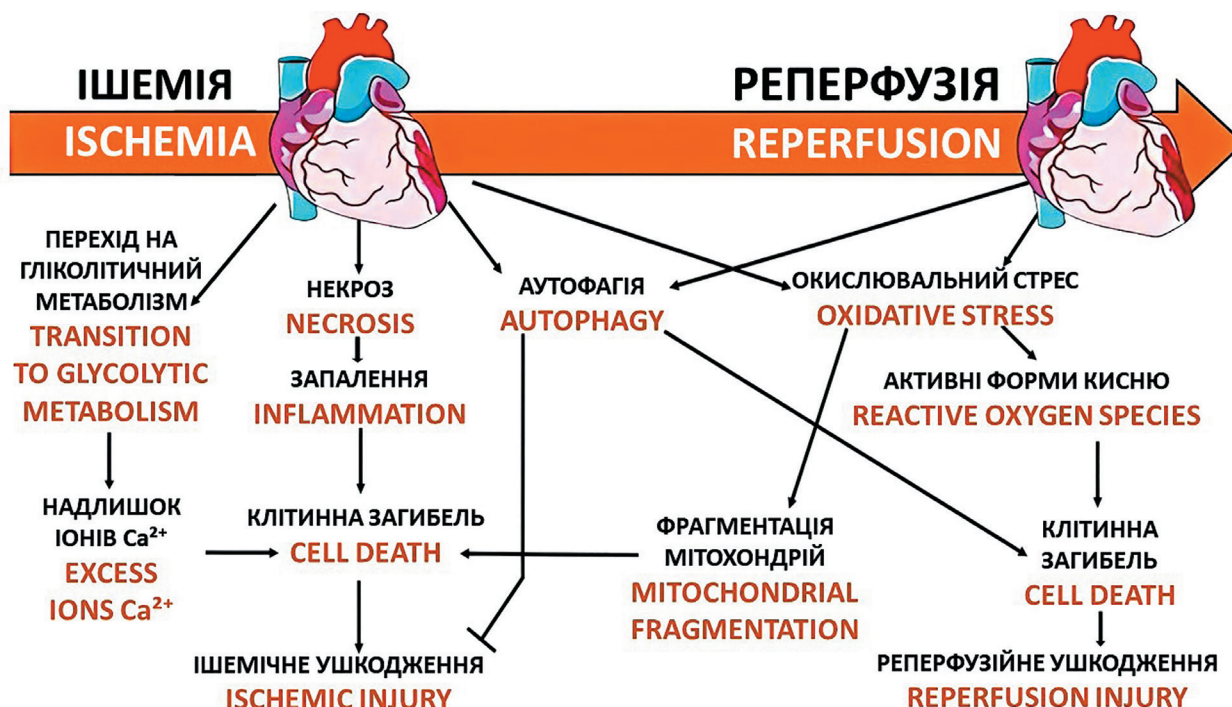


Рис. 1. Схематичне зображення молекулярних механізмів, що сприяють ішемії та реперфузійному пошкодженню [1]
Fig. 1. Schematic representation of molecular mechanisms contributing to ischemia and reperfusion injury [1]

Кисотно-лужні зсуви мають часову «парадоксальність»: у фазі глибокої ішемії ацидоз частково гальмує протеолітичні ферменти та зменшує чутливість

Acid-base shifts exhibit a temporal «paradox»: during the phase of severe ischemia, acidosis partially inhibits proteolytic enzymes and reduces the contractile

скоротливого апарату до Ca^{2+} , обмежуючи структурні пошкодження; натомість швидка нормалізація рН із початком реперфузії «розблоковує» кальцієві й протеолітичні каскади, підсилює роботу Na^+/H^+ -обміну та полегшує зворотний режим $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника [18, 19]. Унаслідок цього зростає амплітуда цитозольних піків Ca^{2+} , підвищується діастолічний рівень Ca^{2+} , відбуваються аритмогенні коливання вмісту іонів у саркоплазматичному ретикулумі та посилюється витік Ca^{2+} через ріанодинові рецептори [24]. На тлі відновлення кисню мітохондріальний ланцюг транспорту електронів генерує імпульс АФК, які окиснюють ліпіди та білки мембран, ушкоджують ріанодинові рецептори й Ca^{2+} -АТРази, ще глибше порушуючи кальцієвий гомеостаз [21, 24]. Додатковий внесок мають ендотеліальні зсуви: дисбаланс оксиду азоту з формуванням пероксинітриду, мікросудинна дисфункція та клітинна адгезія, що підтримують локальну гіпоксію попри відновлений макроциркуляцію.

З системної позиції гіпоксія-ацидоз-кальцій утворюють триаду, яка визначає клінічну траєкторію ушкодження: (1) гіпоксія запускає енергетичний дефіцит і метаболічне «підкиснення» [17]; (2) ацидоз, коригуючись через натрійзалежні механізми, перемикає іонні обміни в режим, що накопичує Ca^{2+} [19]; (3) кальцієве перевантаження, синхронізоване з реперфузійним відновленням рН та кисню, тригерує дисфункцію мітохондрій, відкриття mPTP і каскади запрограмованої та неконтрольованої клітинної смерті [18, 23]. Клінічна релевантність цієї послідовності полягає в тому, що таргетування будь-якої з її ланок – контроль швидкості корекції рН на початку реперфузії, обмеження зворотного режиму $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника, стабілізація ріанодинових рецепторів і насосів Ca^{2+} , а також зсув метаболізму від окиснення жирних кислот до більш кисневоефективного окиснення глюкози – потенційно зменшує амплітуду реперфузійного ушкодження [18, 19, 24]. Водночас варіабельність відповіді визначається вихідним станом міокарда (гіпертрофія, діабет, старіння), що модифікує буферні системи, експресію транспортерів і порогові кальцієвих та мітохондріальних тригерів [18].

Підсумовуючи можна зазначити, що ішемічна гіпоксія ініціює енергетичну нестачу та ацидоз, які через натрійзалежні механізми корекції рН запускають кальцієве перевантаження; на тлі реперфузії ця триада реалізує мітохондріально опосередковане пошкодження із характерним розсинхронізуванням метаболічного й механічного відновлення [18, 21]. Розуміння часової логіки та вузлів перехресної регуляції між рН-гомеостазом, кальцієвою сигналізацією та мітохондріальною функцією створює основу для раціонального поєднання протективних підходів, спрямованих на зменшення розміру інфаркту та покращення відновлення скоротливої функції без введення нових аббревіатур чи числових припущень [18, 25].

2. Мітохондріальні порушення та відкриття пори мітохондріальної проникності

Міокардальна ішемія ініціює багатокomпонентний каскад порушень мітохондріального гомеостазу, у якому кожна ланка послідовно

apparatus's sensitivity to Ca^{2+} , thereby limiting structural damage; in contrast, rapid normalization of pH at the onset of reperfusion «unleashes» calcium and proteolytic cascades, enhances Na^+/H^+ exchanger activity, and facilitates the reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger [18, 19]. As a result, the amplitude of cytosolic Ca^{2+} peaks increases, diastolic Ca^{2+} levels rise, arrhythmogenic fluctuations in sarcoplasmic reticulum ion content occur, and Ca^{2+} leak through ryanodine receptors is enhanced [24]. Upon oxygen restoration, the mitochondrial electron transport chain generates a burst of reactive oxygen species (ROS), which oxidize membrane lipids and proteins, damage ryanodine receptors and Ca^{2+} -ATPases, further disrupting calcium homeostasis [21, 24]. Endothelial disturbances also contribute: nitric oxide imbalance with peroxynitrite formation, microvascular dysfunction, and cellular adhesion sustain local hypoxia despite restored macrocirculation.

From a systemic perspective, hypoxia–acidosis–calcium form a triad that determines the clinical trajectory of injury: (1) hypoxia initiates an energy deficit and metabolic «acidification» [17]; (2) acidosis, when corrected via sodium-dependent mechanisms, shifts ionic exchanges into a mode that promotes Ca^{2+} accumulation [19]; (3) calcium overload, synchronized with reperfusion-driven restoration of pH and oxygen, triggers mitochondrial dysfunction, mPTP opening, and cascades of programmed and uncontrolled cell death [18, 23]. The clinical relevance of this sequence lies in the fact that targeting any of its components—such as controlling the rate of pH correction at the onset of reperfusion, limiting the reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, stabilizing ryanodine receptors and Ca^{2+} pumps, and shifting metabolism from fatty acid oxidation toward more oxygen-efficient glucose oxidation—has the potential to reduce the magnitude of reperfusion injury [18, 19, 24]. At the same time, variability in the response is determined by the baseline state of the myocardium (e.g., hypertrophy, diabetes, aging), which modifies buffering systems, transporter expression, and the thresholds for calcium- and mitochondria-dependent triggers [18].

In summary, ischemic hypoxia initiates an energy deficit and acidosis, which, through sodium-dependent pH correction mechanisms, trigger calcium overload; during reperfusion, this triad mediates mitochondria-dependent injury characterized by desynchronization of metabolic and mechanical recovery [18, 21]. Understanding the temporal dynamics and points of cross-regulation between pH homeostasis, calcium signaling, and mitochondrial function provides a foundation for rationally combining protective strategies aimed at reducing infarct size and improving contractile recovery without introducing new abbreviations or numerical assumptions [18, 25].

2. Mitochondrial Dysfunction and Opening of the Mitochondrial Permeability Transition Pore

Myocardial ischemia initiates a multicomponent cascade of mitochondrial homeostasis disturbances, in which each step sequentially and synergistically

і взаємодію вільно формує умови для критичного зростання ймовірності відкриття пори мітохондріальної проникності (mPTP) під час реперфузії [26, 27, 28]. На етапі ішемії основним детермінантом дисфункції стає дефіцит кисню, що перериває транслокацію електронів уздовж дихального ланцюга й обмежує термінальне окиснення субстратів. Внаслідок цього метаболізм зміщується в бік субстратного рівня фосфорилування, який має низьку ефективність і супроводжується швидким виснаженням пулу АТФ та креатинфосфату. Падіння енергетичного резерву призводить до пригнічення йонозалежних насосів і порушення електрохімічних градієнтів [23]. Наростаючий ацидоз активує Na^+/H^+ -обмінник, що спричиняє внутрішньоклітинне накопичення Na^+ та підвищення осмотичного навантаження; за цих умов $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінник переходить у реверсний режим із підвищенням входу Ca^{2+} у кардіоміоцит [23]. Оскільки активність SERCA пригнічена через дефіцит АТФ, порушується реабсорбція Ca^{2+} у саркоплазматичний ретикулум, що у поєднанні з діастолічною втратою Ca^{2+} через RyR2, створює високе цитозольне навантаження на мітохондріальний Ca^{2+} -уніпортер (MCU) [23].

Попри те, що кисле внутрішньоклітинне рН на ішемічному етапі частково стабілізує внутрішню мітохондріальну мембрану та утримує mPTP у закритому стані, у матриксі поступово накопичуються ключові тригери її майбутнього відкриття: надмірний Ca^{2+} , підвищена концентрація неорганічного фосфату, накопичення відновлених еквівалентів NADH/FADH₂ та сукцинату [23]. Сукупність цих факторів формує високу готовність системи до переходу у провідний стан за умов, що зміняться під час реперфузії.

Сукцинат виступає центральним метаболічним маркером ішемії: його накопичення за ішемії та швидке окиснення комплексом II на початку реперфузії відновлює убіхінон і за умов високого $\Delta\mu$ запускає зворотний транспорт електронів (RET) у комплексі I – домінантне джерело раннього сплеску мітохондріальних активних форм кисню [29, 30]. Саме RET-асоційовані ROS, у поєднанні зі швидкою нормалізацією рН та персистуючим перевантаженням Ca^{2+} , різко знижують поріг відкриття mPTP [23].

Структурні зміни внутрішньої мембрани відіграють важливу роль у втраті її бар'єрних властивостей. Окиснення кардіоліпіну – ключового ліпиду, що стабілізує дихальні суперкомплекси, – порушує організацію мембрани та дестабілізує роботу комплексів, підсилюючи RET-генерацію ROS і схильність мембрани до провідного стану [31]. Терапевтична стабілізація кардіоліпіну зменшує ушкодження та підтримує функцію електронтранспортного ланцюга в умовах I/P та механічної підтримки кровообігу [32].

На молекулярному рівні регуляція mPTP є наслідком інтегральної взаємодії білково-ліпідного комплексу внутрішньої мембрани з Ca^{2+} , ROS, неорганічним фосфатом та рН; циклофілін D модулює чутливість пори до кальцієвого перевантаження та редокс-зсувів, а транзиторні «блукання» mPTP у нормі відрізняються від стійкого відкриття за I/P [28, 33]. Сійке відкриття супроводжується колапсом мембранного потенціалу, набуханням матриксу, розривом зовнішньої мембрани та вивільненням

creates conditions that critically increase the likelihood of mitochondrial permeability transition pore (mPTP) opening during reperfusion [26, 27, 28]. During the ischemic phase, the primary determinant of dysfunction is oxygen deficiency, which interrupts electron translocation along the respiratory chain and limits terminal substrate oxidation. Consequently, metabolism shifts toward substrate-level phosphorylation, which is inefficient and rapidly depletes the ATP and creatine phosphate pools. The decline in energy reserves leads to suppression of ion-dependent pumps and disruption of electrochemical gradients [23]. Progressive acidosis activates the Na^+/H^+ exchanger, leading to intracellular Na^+ accumulation and increased osmotic load; under these conditions, the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger operates in reverse mode, enhancing Ca^{2+} influx into the cardiomyocyte. Since SERCA activity is suppressed due to ATP depletion, Ca^{2+} reuptake into the sarcoplasmic reticulum is impaired, which, combined with diastolic Ca^{2+} loss through RyR2, creates a high cytosolic load on the mitochondrial Ca^{2+} uniporter (MCU) [23].

Although the acidic intracellular pH during the ischemic phase partially stabilizes the inner mitochondrial membrane and keeps the mPTP closed, key triggers for its future opening gradually accumulate in the matrix: excessive Ca^{2+} , elevated inorganic phosphate concentration, accumulation of reduced equivalents NADH/FADH₂, and succinate [23]. The combination of these factors establishes a high predisposition of the system to transition into an open state under conditions that change during reperfusion.

Succinate serves as a central metabolic marker of ischemia: its accumulation during ischemia and rapid oxidation by complex II at the onset of reperfusion reduces ubiquinone and, under conditions of high $\Delta\mu$, drives reverse electron transport (RET) at complex I—a dominant source of the early burst of mitochondrial reactive oxygen species (ROS) [29, 30]. RET-associated ROS, in combination with rapid pH normalization and persistent Ca^{2+} overload, sharply lower the threshold for mPTP opening [23].

Structural alterations of the inner mitochondrial membrane play a critical role in the loss of its barrier properties. Oxidation of cardiolipin—a key lipid that stabilizes respiratory supercomplexes—disrupts membrane organization and destabilizes complex function, enhancing RET-driven ROS generation and increasing membrane susceptibility to the open state [31]. Therapeutic stabilization of cardiolipin reduces injury and preserves electron transport chain function under ischemia/reperfusion and mechanical circulatory support conditions [32].

At the molecular level, mPTP regulation results from the integrated interaction of the inner membrane protein–lipid complex with Ca^{2+} , ROS, inorganic phosphate, and pH. Cyclophilin D modulates the pore's sensitivity to calcium overload and redox shifts, and transient «flickering» of the mPTP under normal conditions differs from the sustained opening observed during ischemia/reperfusion (I/R) [28, 33]. Persistent opening is accompanied by collapse of the membrane potential, matrix swelling, rupture of the outer membrane, and release of cytochrome c and Smac/DIABLO; under critically low ATP levels, necrosis

цитохрому C і Smac/DIABLO; при критично низькому АТФ переважає некроз, тоді як часткове збереження енергетики сприяє апоптозу [23].

Детермінанти відкриття mPTP за умов ішемії/реперфузії можуть бути структуровані у три взаємопідсилювальні осі:

1. кальцієве перевантаження, пов'язане з RyR2-витоком, пригніченням SERCA, реверсним NCX, підвищенням навантаження на MCU та недостатнім експортом через NCLX [23, 34];

2. оксидативний стрес RET-походження на тлі прискореного окиснення сукцинату комплексом II [29, 30];

3. реперфузійний pH-зсув, який усуває кислотно-тонічне гальмування mPTP [23].

Ліпідні модифікації кардіоліпіну та дезорганізація суперкомплексів додатково знижують стабільність мембрани та підсилюють її схильність до провідного стану [31].

Терапевтичні стратегії спрямовані на розрив хоча б однієї з цих критичних осей. Ішемічне пре- та посткондиціонування модулюють ранній ROS-сплеск і чутливість mPTP через сигнальні осі PKC-ε, RISK/SAFE та підтримання деактивованого стану комплексу I на початку реперфузії [23]. Фармакологічне гальмування RET-асоційованої генерації ROS через інгібування сайту IQ комплексу I (S1QEL) знижує продукцію ROS без істотного пригнічення OXPHOS [35, 36]. Модуляція Ca²⁺-потоків включає інгібіцію Na⁺/H⁺-обмінника (NHE1), стабілізацію RyR2, посилення експорту Ca²⁺ через NCLX та зниження навантаження на MCU [34, 37]. Десенситизація mPTP через інгібування циклофіліну D є перспективною, але потребує точного відбору пацієнтів і виваженого таймінгу [33].

3. Механізми некрозу, апоптозу та запрограмованого некрозу кардіоміоцитів

Ішемія міокарда ініціює багаторівневу каскадну перебудову внутрішньоклітинного гомеостазу, що призводить до швидкого погіршення енергетичного стану кардіоміоцита та порушення цілісності мембранних структур. Брак O₂ різко пригнічує окисне фосфорилування в мітохондріях, що спричиняє падіння АТФ, накопичення АДФ та АМФ, а також компенсаторну активацію анаеробного гліколізу [38, 39, 40]. Унаслідок цього утворюється лактат та розвивається метаболічний ацидоз, який змінює кислотно-лужний баланс цитозоля. Глибина ацидозу безпосередньо визначає ступінь пригнічення основних АТФаз кардіоміоциту: Na⁺/K⁺-АТФаза та Ca²⁺-АТФази сарколеми і саркоплазматичного ретикулума поступово втрачають функціональну активність. Це створює біохімічні умови для прогресуючого Na⁺- та Ca²⁺-перевантаження, що є ключовим патогенетичним вузлом ішемічного пошкодження [23].

Ацидоз активує Na⁺/H⁺-обмінник, який виводить H⁺, але вводить Na⁺ у клітину; надлишок Na⁺, у свою чергу, переключає Na⁺/Ca²⁺-обмінник (NCX) у реверсний режим, спрямований на проникнення Ca²⁺ у цитозоль [23].

Порушення іонного гомеостазу поширюється на всі компартменти кардіоміоциту. Пригнічення Ca²⁺-АТФази

predominates, whereas partial preservation of energy favors apoptosis [23].

The determinants of mPTP opening under ischemia/reperfusion conditions can be structured into three mutually reinforcing axes:

1. Calcium overload, associated with RyR2 leak, SERCA inhibition, reverse-mode NCX, increased load on the mitochondrial Ca²⁺ uniporter (MCU), and insufficient export via NCLX [23, 34];

2. Oxidative stress of RET origin, driven by accelerated succinate oxidation through complex II [29, 30];

3. Reperfusion pH shift, which relieves acidotic inhibition of the mPTP [23].

Lipid modifications of cardiolipin and disorganization of respiratory supercomplexes further reduce membrane stability and increase its susceptibility to the open state [31].

Therapeutic strategies aim to disrupt at least one of these critical axes. Ischemic pre- and post-conditioning modulate the early ROS burst and mPTP sensitivity via the PKC-ε, RISK/SAFE signaling pathways, and by maintaining complex I in a deactivated state at the onset of reperfusion [23]. Pharmacological inhibition of RET-associated ROS generation through inhibition of the IQ site of complex I (S1QEL) reduces ROS production without substantially impairing oxidative phosphorylation (OXPHOS) [35, 36]. Modulation of Ca²⁺ fluxes includes inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger (NHE1), stabilization of RyR2, enhancement of Ca²⁺ export via NCLX, and reduction of load on the MCU [34, 37]. Desensitization of the mPTP via cyclophilin D inhibition is promising but requires careful patient selection and precise timing [33].

3. Mechanisms of Necrosis, Apoptosis, and Programmed Necrosis in Cardiomyocytes

Myocardial ischemia initiates a multilevel cascade of intracellular homeostasis remodeling, leading to a rapid deterioration of the cardiomyocyte's energetic state and disruption of membrane integrity. Oxygen deprivation sharply suppresses mitochondrial oxidative phosphorylation, causing a decline in ATP, accumulation of ADP and AMP, and compensatory activation of anaerobic glycolysis [38, 39, 40]. As a result, lactate is produced and metabolic acidosis develops, altering cytosolic acid-base balance. The severity of acidosis directly determines the degree of inhibition of key cardiomyocyte ATPases: Na⁺/K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPases of the sarcolemma and sarcoplasmic reticulum gradually lose functional activity [23]. This creates the biochemical conditions for progressive Na⁺ and Ca²⁺ overload, which constitutes a key pathogenic node of ischemic injury [23].

Acidosis activates the Na⁺/H⁺ exchanger, which extrudes H⁺ but imports Na⁺ into the cell; the excess Na⁺, in turn, switches the Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) to reverse mode, promoting Ca²⁺ influx into the cytosol [23].

Disruption of ionic homeostasis extends across all cardiomyocyte compartments. Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) reduces the efficiency of Ca²⁺ reuptake into the reticulum, causing Ca²⁺ accumulation in the cytosol and contributing

саркоплазматичного ретикула (SERCA) знижує ефективність реабсорбції Ca^{2+} у ретикулум, унаслідок чого Ca^{2+} затримується у цитозолі та бере участь у патологічній активації скоротливого апарату. Паралельно ріанодинові рецептори RyR2 стають джерелом неконтрольованого витоку Ca^{2+} , оскільки їхня функція порушується через оксидативні модифікації та зниження здатності до закриття. Скупчення Ca^{2+} у цитозолі створює надмірне навантаження на мітохондріальний Ca^{2+} -уніпортер (MCU), який транспортує значні об'єми Ca^{2+} у матрикс. Це призводить до мітохондріального кальцієвого перевантаження, деполяризації мембранного потенціалу, зменшення ефективності АТФ-синтази та накопичення відновлених еквівалентів, які в ішемічних умовах не можуть бути використані в дихальному ланцюзі [21].

Реперфузія, попри життєву необхідність, є періодом максимальної біохімічної нестабільності. Раптове надходження кисню запускає зворотний електронний транспорт у комплексі I, формуючи ранній реперфузійний спалах активних форм кисню (АФК). Мітохондрії, які протягом ішемії накопичили сукцинат та відновлені еквіваленти, у перші хвилини реперфузії окиснюють їх надзвичайно швидко [39]. Такий різкий стрибок електронного потоку призводить до генерації АФК у концентраціях, що перевищують природні антиоксидантні можливості клітини. На тлі нормалізації рН, яка усуває кислотне гальмування, АФК і Ca^{2+} синхронно знижують поріг відкриття пори мітохондріальної проникності (mPTP) [23]. Як тільки mPTP переходить у відкритий стан, відбувається миттєве роз'єднання окисного фосфорилювання, деполяризація мембрани, неконтрольована втрата АТФ та інших метаболітів, осмотичний набряк мітохондрій і руйнування їх структури. Формується енергетичний колапс, відновити який клітина вже не здатна [21].

Морфологічно та функціонально це призводить до набухання цитозоля, руйнування цитоскелету, розриву плазматичної мембрани та виникнення некрозу. Некробіотичні зміни розвиваються лавиноподібно: осмотичний дисбаланс посилюється через втрату іонної регуляції, мембрани втрачають бар'єрну функцію, внутрішньоклітинні компоненти виходять у міжклітинний простір, що стимулює гостре стерильне запалення. Такий некроз є домінантним механізмом загибелі кардіоміоцитів при тривалій ішемії та реперфузії в умовах глибокого енергетичного дефіциту [41, 42].

Проте за умов часткового збереження енергетичного потенціалу активуються регульовані програми клітинної смерті. Апоптоз виступає еволюційно сформованим механізмом контрольованої елімінації клітини. Внутрішній шлях апоптозу запускається АФК, ушкодженням ДНК та ендоплазматичним стресом, які активують BH3-тільки білки. Вивільнений цитохром C активує каскад каспаз через APAF-1 та каспазу-9, а надалі каспази-3/7, що забезпечує фрагментацію хроматину [41].

На відміну від апоптозу, некроптоз активується при блокаді каспази-8, що дозволяє RIPK1/RIPK3 формувати комплекс і фосфорилувати MLKL, який утворює пори у мембрані. У серці RIPK3 активує CaMKII, що додатково відкриває mPTP. PGAM5 та Drp1 посилюють фрагментацію мітохондрій [41].

to pathological activation of the contractile apparatus. Simultaneously, ryanodine receptors (RyR2) become sources of uncontrolled Ca^{2+} leak due to oxidative modifications and impaired closure. Cytosolic Ca^{2+} accumulation imposes excessive load on the mitochondrial Ca^{2+} uniporter (MCU), which transports large amounts of Ca^{2+} into the matrix. This results in mitochondrial calcium overload, membrane potential depolarization, decreased ATP synthase efficiency, and accumulation of reduced equivalents that, under ischemic conditions, cannot be utilized in the respiratory chain [21].

Reperfusion, despite being vital, represents a period of maximal biochemical instability. The sudden influx of oxygen triggers reverse electron transport at complex I, generating an early reperfusion burst of reactive oxygen species (ROS). Mitochondria that have accumulated succinate and reduced equivalents during ischemia rapidly oxidize these substrates within the first minutes of reperfusion [39]. This abrupt surge in electron flow produces ROS at concentrations that exceed the cell's natural antioxidant capacity. Concurrently, pH normalization, which removes acidotic inhibition, along with ROS and Ca^{2+} , synergistically lowers the threshold for opening of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) [23]. Once the mPTP transitions to the open state, oxidative phosphorylation is abruptly uncoupled, the mitochondrial membrane depolarizes, ATP and other metabolites are lost uncontrollably, mitochondria undergo osmotic swelling, and their structural integrity is disrupted. This results in an energetic collapse that the cell can no longer recover from [21].

Morphologically and functionally, this leads to cytosolic swelling, cytoskeletal disruption, plasma membrane rupture, and the onset of necrosis. Necrobiotic changes develop in a cascading manner: osmotic imbalance is exacerbated by loss of ionic regulation, membranes lose their barrier function, and intracellular components leak into the interstitial space, triggering acute sterile inflammation. Such necrosis represents the dominant mechanism of cardiomyocyte death during prolonged ischemia and reperfusion under conditions of severe energetic deficit [41, 42].

However, under conditions of partial preservation of energetic potential, regulated cell death programs are activated. Apoptosis represents an evolutionarily conserved mechanism for controlled cell elimination. The intrinsic apoptotic pathway is triggered by ROS, DNA damage, and endoplasmic reticulum stress, which activate BH3-only proteins. Released cytochrome c then activates the caspase cascade via APAF-1 and caspase-9, followed by caspases-3/7, leading to chromatin fragmentation [41].

In contrast to apoptosis, necroptosis is activated when caspase-8 is inhibited, allowing RIPK1/RIPK3 to form a complex and phosphorylate MLKL, which creates membrane pores. In the heart, RIPK3 also activates CaMKII, further promoting mPTP opening. PGAM5 and Drp1 enhance mitochondrial fragmentation [41].

Ferroptosis is an iron-dependent form of programmed necrosis characterized by massive lipid peroxidation due to GPX4 deficiency, accumulation of Fe^{2+} , and LOX activity [43]. The reperfusion burst of ROS significantly accelerates this process [39].

Фероптоз – залізоалежна форма запрограмованого некрозу, що характеризується масивною ліпопероксидацією через дефект GPX4, накопичення Fe²⁺ і LOX-активність [43]. Реперфузійний спалах АФК суттєво прискорює цей процес [39].

Піроптоз – запальна форма некротичної смерті, керована інфламасомою NLRP3 та каспазою-1, що розщеплює Gasdermin D і формує пори у мембрані [41].

Крос-ток між апоптозом, некроптозом і піроптозом формує пластичний континуум фенотипів. ZBP1 і Piezo1 можуть запускати PANoptosis [44, 45]. Реперфузійний стан зміщує баланс у бік некротичних форм смерті клітин [41].

Узагальнюючи, доля кардіоміоцита визначається взаємодією енергетичного дефіциту, інтенсивності АФК, рівня Ca²⁺-перевантаження та мітохондріальних механізмів [23]. Некроз домінує при критичній енергетичній кризі; апоптоз – при сублетальному стресі; фероптоз, некроптоз і піроптоз активуються при реперфузійній турбулентності [46]. Це обґрунтовує комбіновані інтервенції, спрямовані на RET-АФК, ER-мітохондріальний кальцієвий потік та інфламасому.

4. Роль окисного стресу та дисфункції антиоксидантної системи в ішемічному ушкодженні

Ішемічне ушкодження тканин розглядається як багаторівневий і високоорганізований патологічний процес, у центрі якого домінує оксидативний стрес – дисбаланс між швидкістю утворення активних форм кисню (АФК) та ефективністю ендогенних антиоксидантних механізмів. У фізіологічних умовах базові концентрації АФК виконують низку регуляторних функцій: модулюють активність протеїнкіназ, регулюють експресію генів шляхом впливу на транскрипційні фактори та забезпечують тонке налаштування скоротливості кардіоміоцитів через контроль за іонними потоками [47, 48]. Проте у стані ішемії, а особливо в перші хвилини реперфузії, редокс-гомеостаз порушується настільки глибоко, що кількісні й якісні відхилення утворення супероксиду, перекису водню, гідроксильних радикалів і пероксинітриду стають визначальними для прогресування клітинної дисфункції. На тлі цього ферментативні та низькомолекулярні антиоксиданти стрімко виснажуються, що призводить до неконтрольованого росту перекисного навантаження [49].

Утворення надлишкових АФК формує патологічну редокс-матрицю, яка зумовлює електрофізіологічну нестабільність, прогресивне кальцієве перевантаження, дисфункцію мітохондрій та активацію програмованих форм загибелі клітин [18].

Головні джерела генерації АФК при ішемії та реперфузії охоплюють кілька вузлових структур. Центральною ланкою залишаються мітохондріальні комплекси електрон-транспортного ланцюга, в яких за умов гіпоксії різко зростає ймовірність «реверсного» транспорту електронів через комплекс I у ранню реперфузію. Таке «реверсне» перенаправлення електронів підсилюється високими концентраціями сукцинату, що накопичується під час ішемії, і після відновлення доступу кисню перетворюється на потужне джерело супероксиду. Паралельно активуються NADPH-оксидази, які в умовах кальцієвого навантаження та дії

Pyroptosis is an inflammatory form of necrotic cell death, regulated by the NLRP3 inflammasome and caspase-1, which cleaves Gasdermin D to form pores in the membrane [41].

Crosstalk between apoptosis, necroptosis, and pyroptosis forms a plastic continuum of phenotypes. ZBP1 and Piezo1 can trigger PANoptosis [44, 45]. The reperfusion state shifts the balance toward necrotic forms of cell death [41].

In summary, the fate of a cardiomyocyte is determined by the interplay of energetic deficit, ROS intensity, Ca²⁺ overload, and mitochondrial mechanisms [23]. Necrosis predominates under critical energetic crisis; apoptosis occurs under sublethal stress; ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis are activated during reperfusion turbulence [46]. This rationale supports combined interventions targeting RET-derived ROS, ER-mitochondrial Ca²⁺ flux, and the inflammasome.

4. Role of Oxidative Stress and Antioxidant System Dysfunction in Ischemic Injury

Ischemic tissue injury is considered a multi-level and highly organized pathological process, in which oxidative stress an imbalance between the rate of reactive oxygen species (ROS) generation and the efficiency of endogenous antioxidant mechanisms—plays a central role. Under physiological conditions, basal ROS concentrations perform a variety of regulatory functions: they modulate protein kinase activity, regulate gene expression via effects on transcription factors, and fine-tune cardiomyocyte contractility by controlling ion fluxes [47, 48]. However, during ischemia – particularly in the first minutes of reperfusion—redox homeostasis is disrupted so profoundly that quantitative and qualitative deviations in the production of superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and peroxynitrite become critical determinants of progressive cellular dysfunction. In this context, enzymatic and low-molecular-weight antioxidants are rapidly depleted, leading to uncontrolled accumulation of oxidative load [49].

The excessive generation of reactive oxygen species (ROS) establishes a pathological redox milieu, which induces electrophysiological instability, progressive calcium overload, mitochondrial dysfunction, and the activation of programmed cell death pathways [18].

The primary sources of reactive oxygen species (ROS) generation during ischemia and reperfusion encompass several critical structures. A central role is played by the mitochondrial electron transport chain complexes, where hypoxic conditions markedly increase the likelihood of reverse electron transport through complex I during early reperfusion. This «reverse» electron flow is potentiated by high concentrations of succinate, which accumulate during ischemia and, upon reoxygenation, serve as a potent source of superoxide. Concurrently, NADPH oxidases are activated; under conditions of calcium overload and proinflammatory signaling, they release superoxide into the cytoplasm and extracellular

прозапальних сигналів вивільняють супероксид у цитоплазму та позаклітинний простір. Додатковий внесок забезпечує ксантинооксидаза, яка у нормі функціонує у формі дегідрогенази, але за ішемії переходить у форму, що продукує супероксид [49]. У ендотеліальній NO-синтазі за умов дефіциту тетрагідробіоптерину відбувається «роз'єднання», у результаті чого фермент замість синтезу NO генерує супероксид. Реакції за участю Fe^{2+} підсилюють окисне навантаження: вільне залізо, що вивільняється з білкових кластерів у мітохондріях та цитозолі, запускає реакцію Фентона з утворенням гідроксильних радикалів [50]. Ці потужні окисники ініціюють ланцюгову ліпопероксидацію, порушують еластичність та проникність мембран сарколеми, мітохондрій і саркоплазматичного ретикулу, підсилюють втрату іонного контролю та спричиняють прогресуюче порушення скоротливості клітини.

Редокс-чутливі іонні канали формують ключову ланку зв'язку між окисативним стресом і порушенням електрофізіології. Окисні модифікації тіолових груп калієвих каналів призводять до пригнічення реполяризовуючих струмів Ito, IKr, IKs та IK1. Паралельно АФК модифікують натрієві та кальцієві канали Nav1.5 і Cav1.2 шляхом S-нітрозилювання та глутатіонілювання, підвищуючи їхню активність та створюючи умови для надмірного припливу іонів. Окиснені ріанодинові рецептори сприяють діастолічному «витоку» Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулу, що формує тригерні зони для ранніх і пізніх післядеполяризацій. На цьому тлі АФК пригнічують активність SERCA та змінюють роботу обмінника NCX, що посилює кальцієве перевантаження та переводить мітохондрії у стан критичного стресу. Надлишок Ca^{2+} у матриксі мітохондрій знижує поріг відкриття переходової пори проникності (mPTP), і її нефізіологічне раннє відкриття на тлі реперфузії спричиняє втрату мембранного потенціалу, набухання органел і некротичну загибель клітин [18, 24].

Окисативний стрес виконує роль пускового механізму кількох програмованих форм загибелі клітин. Апоптоз активується через ушкодження ДНК, ендоплазматичний стрес і активацію шляху BH3 → BAX/BAK, що веде до вивільнення цитохрому C та запуску каспазного каскаду. Некроптоз посилюється завдяки АФК-опосередкованій активації комплексу RIPK1/3–MLKL та через кальцієво-залежну активацію CaMKII, яка сприяє відкриттю mPTP. Фероптоз формується у середовищі дефіциту GPX4 та транспортної системи SLC7A11, підвищеної активності ACSL4 й ліпоксигеназ та наявності надлишку вільного заліза. За цих умов порушується антиоксидантний ліпідний бар'єр і прогресує ліпопероксидація. Паралельно АФК і кальцієве перевантаження провокують активацію інфламасоми NLRP3 та піроптоз із формуванням пор GSDMD, що підтримує локальне запалення та посилює вторинне ушкодження клітин [51, 52].

Антиоксидантна система кардіоміоцитів включає ферментативні (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза/редуктаза, тіоредоксин/глутатіонредоксин) та неферментативні (відновлений глутатіон, аскорбат, α -токоферол, каротиноїди, флавоноїди) компоненти [49]. Під дією ішемії/ацидозу порушується співвідношення GSH/GSSG, знижується

space. An additional contribution comes from xanthine oxidase, which normally functions as a dehydrogenase but converts to a superoxide-producing form during ischemia [49]. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS), in the context of tetrahydrobiopterin deficiency, becomes «uncoupled», generating superoxide instead of nitric oxide. Iron-dependent reactions further exacerbate oxidative stress: free Fe^{2+} released from protein clusters in mitochondria and the cytosol triggers Fenton reactions, producing highly reactive hydroxyl radicals [50]. These potent oxidants initiate chain lipid peroxidation, disrupt the elasticity and permeability of sarcolemmal, mitochondrial, and sarcoplasmic reticulum membranes, exacerbate the loss of ionic control, and cause progressive impairment of cellular contractility.

Redox-sensitive ion channels constitute a critical link between oxidative stress and electrophysiological disturbances. Oxidative modifications of thiol groups in potassium channels lead to suppression of repolarizing currents Ito, IKr, IKs, and IK1. Simultaneously, ROS modify sodium and calcium channels Nav1.5 and Cav1.2 via S-nitrosylation and glutathionylation, increasing their activity and creating conditions for excessive ion influx. Oxidized ryanodine receptors promote diastolic Ca^{2+} «leak» from the sarcoplasmic reticulum, forming trigger zones for early and delayed afterdepolarizations. In this context, ROS suppress SERCA activity and alter NCX function, exacerbating calcium overload and pushing mitochondria into a state of critical stress. Excess Ca^{2+} in the mitochondrial matrix lowers the threshold for opening the mitochondrial permeability transition pore (mPTP), and its aberrant early opening during reperfusion leads to loss of membrane potential, organelle swelling, and necrotic cell death [18, 24].

Oxidative stress acts as a trigger for multiple programmed cell death pathways. Apoptosis is activated via DNA damage, endoplasmic reticulum stress, and the BH3 → BAX/BAK pathway, leading to cytochrome c release and initiation of the caspase cascade. Necroptosis is potentiated through ROS-mediated activation of the RIPK1/3–MLKL complex and via calcium-dependent activation of CaMKII, which facilitates mPTP opening. Ferroptosis develops under conditions of GPX4 and SLC7A11 deficiency, increased ACSL4 and lipoxygenase activity, and excess free iron, resulting in disruption of the antioxidant lipid barrier and progressive lipid peroxidation. Concurrently, ROS and calcium overload provoke activation of the NLRP3 inflammasome and pyroptosis, with formation of GSDMD pores, promoting local inflammation and exacerbating secondary cell injury [51, 52].

The cardiomyocyte antioxidant system comprises enzymatic components—superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase/reductase, thioredoxin/glutaredoxin and non-enzymatic elements, including reduced glutathione, ascorbate, α -tocopherol, carotenoids, and flavonoids [49]. Ischemia and acidosis disrupt the GSH/GSSG ratio, decrease GPx and catalase activity, and deplete NADPH reserves, impairing antioxidant regeneration. Suppression of the Nrf2–HO-1 axis reduces expression of redox-protective genes, including the cystine transporter SLC7A11 and enzymes maintaining the lipid antioxidant barrier. Concurrently, ferritinophagy pathways via NCOA4 are activated, and iron import

активність GPx і каталази, виснажуються запаси NADPH, що порушує відновлення антиоксидантів. Пригнічення осі Nrf2–HO-1 зменшує експресію генів редокс-захисту, включно з транспортером цистину SLC7A11 і ферментами, що підтримують ліпідний антиоксидантний бар'єр. Одночасно активуються шляхи феритинолізу через NCOA4 і збільшується імпорт заліза через TFR1, що поглиблює ліпопероксидацію та підсилює ймовірність фероптозу [53]. У таких умовах навіть помірні «спалахи» АФК стають деструктивними, а не сигнальними, що сприяє прогресуванню ушкодження.

Мікросудинна дисфункція виступає ще одним ключовим наслідком оксидативного стресу. Ендотеліоцити втрачають здатність підтримувати вазодилатацію через зниження біодоступності оксиду азоту: його швидка реакція із супероксидом супроводжується утворенням пероксинітриту, який ушкоджує білки та ліпіди. Порушення ендотеліальної функції сприяє агрегації тромбоцитів, лейкоцитозу, дисфункції глікокаліксу та активації матриксних металопротеїназ. Підвищення проникності капілярів погіршує мікроперфузію навіть за умов відновлення коронарного кровотоку («no-reflow»), збільшуючи ефективну зону некрозу. Запальні медіатори та продукти ліпопероксидації, такі як малоновий діальдегід та 4-гідроксинафталаль, формують замкнене коло позитивного зворотного зв'язку, що підтримує «редокс-пожежу» у зоні ушкодження [54].

Біомаркерами редокс-стресу та структурного ушкодження тканин є МДА/4-HNE, 8-оксогуанін, мієлопероксидаза та показники електрофізіологічної нестабільності. Їхні концентрації та динаміка корелюють з обсягом інфаркту, ступенем порушення функції лівого шлуночка та ризиком виникнення аритмій, а також можуть бути використані для оцінки ефективності редокс-орієнтованих втручань [55, 56].

Терапевтичні стратегії корекції оксидативного стресу повинні враховувати часові особливості процесу реперфузії та комбінувати підходи, спрямовані на (1) зменшення генерації АФК, (2) підсилення антиоксидантних буферів і (3) переривання редокс-чутливих ланок ушкодження. До першої групи належать інгібування мітохондріальних джерел АФК, застосування мітохондріально-адресованих антиоксидантів, пригнічення ксантиноксидази та NADPH-оксидаз, а також нормалізація роботи eNOS [49, 55]. До другої групи відносять відновлення пулу GSH (наприклад, N-ацетилцистеїн), активацію осі Nrf2–HO-1, підтримання активності GPx і каталази та захист селен-залежних механізмів GPX4 [49, 53]. Третя група охоплює модулювання редокс-чутливих іонних каналів та антифероптозні підходи – підсилення SLC7A11/GPX4, пригнічення ACSL4 та ліпоксигеназ, контроль за балансом заліза [51]. Процедурні заходи – контрольовані режими реперфузії, пост- і прекодиціювання – додатково знижують пікові спалахи АФК та кальцієві коливання, зменшуючи масштаб ушкодження [54].

Таким чином, оксидативний стрес та дисфункція антиоксидантної системи становлять центральне патогенетичне ядро ішемічного ушкодження. Вони інтегрують порушений метаболізм кисню, дисфункцію іонних каналів, кальцієвий дисбаланс у системі ER–мітохондрії, відкриття mPTP, мікросудинну недостатність та мультипрограму

through TFR1 increases, exacerbating lipid peroxidation and enhancing the likelihood of ferroptosis [53]. Under these conditions, even moderate ROS «bursts» become destructive rather than signaling, promoting progression of cellular injury.

Microvascular dysfunction represents another key consequence of oxidative stress. Endothelial cells lose their ability to sustain vasodilation due to reduced bioavailability of nitric oxide (NO); its rapid reaction with superoxide generates peroxynitrite, which damages proteins and lipids. Endothelial impairment promotes platelet aggregation, leukocytosis, glycocalyx dysfunction, and activation of matrix metalloproteinases. Increased capillary permeability worsens microperfusion even after restoration of coronary blood flow («no-reflow»), thereby expanding the effective necrotic zone. Inflammatory mediators and lipid peroxidation products, such as malondialdehyde and 4-hydroxynonenal, establish a vicious positive-feedback loop that sustains a «redox fire» within the injury zone [54].

Biomarkers of redox stress and structural tissue injury include malondialdehyde (MDA)/4-hydroxynonenal (4-HNE), 8-oxoguanine, myeloperoxidase, and indices of electrophysiological instability. Their concentrations and temporal dynamics correlate with infarct size, the degree of left ventricular dysfunction, and the risk of arrhythmias, and they can also be used to evaluate the efficacy of redox-targeted interventions [55, 56].

Therapeutic strategies to correct oxidative stress should consider the temporal characteristics of reperfusion and combine approaches aimed at: (1) reducing reactive oxygen species (ROS) generation, (2) enhancing antioxidant buffers, and (3) interrupting redox-sensitive pathways of injury. Approaches in the first group include inhibition of mitochondrial ROS sources, administration of mitochondria-targeted antioxidants, suppression of xanthine oxidase and NADPH oxidases, and normalization of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function [49, 55]. The second group includes restoration of the GSH pool (e.g., N-acetylcysteine), activation of the Nrf2–HO-1 pathway, maintenance of GPx and catalase activity, and protection of selenoprotein-dependent GPX4 mechanisms [49, 53]. The third group encompasses modulation of redox-sensitive ion channels and anti-ferroptotic strategies – enhancement of SLC7A11/GPX4, inhibition of ACSL4 and lipoxygenases, and regulation of iron homeostasis [51]. Procedural interventions, such as controlled reperfusion protocols, postconditioning, and preconditioning, further reduce peak ROS bursts and calcium oscillations, thereby limiting the extent of tissue injury [54].

Thus, oxidative stress and antioxidant system dysfunction constitute a central pathogenic core of ischemic injury. They integrate impaired oxygen metabolism, ion channel dysfunction, calcium imbalance within the ER–mitochondrial axis, mPTP opening, microvascular insufficiency, and multi-programmed cell death. Combinatorial, temporally targeted redox therapy – simultaneously aimed at suppressing ROS sources, enhancing endogenous antioxidants, and modulating redox-sensitive channels and iron-dependent mechanisms – has the potential to substantially reduce infarct size, stabilize cardiac rhythm, and improve

загибель клітин. Комбінаторна, часово таргетована редокс-терапія, що одночасно спрямована на пригнічення джерел АФК, підсилення ендogenous антиоксидантів та модифікацію редокс-чутливих каналів і залізо-залежних механізмів, має потенціал істотно зменшити розмір інфаркту, стабілізувати ритм і покращити відновлення насосної функції серця. Інтеграція цих втручань із сучасними методами реваскуляризації створює можливість перетворення редокс-лабільності ішемічної тканини на керований терапевтичний вектор.

5. Мікроциркуляторні та ендотеліальні зміни в умовах гострої ішемії міокарда

Гостра ішемія міокарда з подальшою реперфузією ініціює каскад мікроциркуляторних і ендотеліальних змін, що не зводяться до епікардіальної обструкції та істотно визначають обсяг ішемічного ушкодження [57]. В основі лежить коронарна мікросудинна дисфункція – поєднання структурного ремоделювання преартеріол і артеріол з функціональними порушеннями ендотелій-залежного контролю тону [58]. У зоні дистальнішого стенозу тривала адаптація до зниженого перфузійного тиску обмежує резерв вазодилатації навіть після відновлення просвіту, а в найтяжчому випадку формується мікросудинна обструкція з феноменом «no-reflow», коли капілярна перфузія не відновлюється попри реканалізацію епікардіальної артерії [59]. Структурні зміни охоплюють стеноз інтрамуральних артеріол (<100 μm), периваскулярний фіброз і розрідження капілярів (<10 μm), що збільшує частку мікросудинного опору та поглиблює ішемію.

Центральною ланкою гострого ушкодження є ендотеліальна дисфункція. У резистивних судинах порушується відповідь на ендотелій-залежні вазодилатори, зростає утворення активних форм кисню (ROS) і прогресивно знижується біодоступність оксиду азоту (NO) [60]. Дисбаланс між вазодилаторами ендотеліального походження – NO, простагліцином, брадікініном, ендотелій-зумовленим гіперполяризуючим фактором – та вазоконстрикторами – ендотеліном-1, тромбоксаном A₂, супероксид-аніоном – зсуває вазомоторний тонус у бік звуження. Паралельно ендотелій переходить у активований прозапальний стан із підвищеною експресією молекул адгезії та хемокинів і посиленою взаємодією з тромбоцитами та лейкоцитами; це сприяє мікроагрегації, порушенню реології та закріпленню феномена «no-reflow». У сукупності ці процеси підсилюють гетерогенність перфузії та формують субстрат для аритмогенезу й подальшого ремоделювання.

Ключовим адаптивно-патогенним модулем у гострій ішемії є аутофагія ендотеліальних клітин (ендотеліальні клітини, англ. EC). Аутофагія – еволюційно консервативний шлях деградації пошкоджених білків і органел, що послідовно включає: ініціацію преініціаційного комплексу ULK1/2–ATG13–FIP200 під контролем АМФ-активованої протеїнкінази (AMPK) та мішені рапаміцину 1 в ссавців (mTORC1); нуклеацію мембрани фагофору комплексом VPS34–VPS15–Beclin-1; елонгацію/закриття за участю систем ATG12/ATG5/ATG16L1 та конюгації LC3 з фосфатидилетаноламіном; злиття аутофагосоми з лізосоною за участю синтаксину-17 (Stx17), SNAP29, VAMP8 та LAMP1/2.

recovery of myocardial contractile function. Integrating these interventions with contemporary revascularization strategies offers the possibility of converting the redox lability of ischemic tissue into a controlled therapeutic vector.

5. Microcirculatory and Endothelial Alterations in Acute Myocardial Ischemia

Acute myocardial ischemia followed by reperfusion triggers a cascade of microcirculatory and endothelial alterations that cannot be reduced to epicardial obstruction and significantly determine the extent of ischemic injury [57]. At the core lies coronary microvascular dysfunction – a combination of structural remodeling of prearterioles and arterioles with functional impairment of endothelium-dependent tone regulation [58]. In regions distal to the stenosis, prolonged adaptation to reduced perfusion pressure limits vasodilatory reserve even after restoration of the vessel lumen. In the most severe cases, microvascular obstruction develops, manifesting as the «no-reflow» phenomenon, where capillary perfusion fails to recover despite epicardial artery recanalization [59]. Structural changes include stenosis of intramural arterioles (<100 μm), perivascular fibrosis, and capillary rarefaction (<10 μm), which increase microvascular resistance and exacerbate ischemia.

A central element of acute injury is endothelial dysfunction. In resistive vessels, the response to endothelium-dependent vasodilators is impaired, reactive oxygen species (ROS) production increases, and nitric oxide (NO) bioavailability progressively declines [60]. The imbalance between endothelium-derived vasodilators – NO, prostacyclin, bradykinin, and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) – and vasoconstrictors – endothelin-1, thromboxane A₂, and superoxide anion – shifts vascular tone toward constriction. Concurrently, the endothelium adopts a pro-inflammatory activated phenotype, with upregulated adhesion molecules and chemokines, enhancing interactions with platelets and leukocytes. This promotes microvascular aggregation, disrupts rheology, and reinforces the «no-reflow» phenomenon. Collectively, these processes increase perfusion heterogeneity and create a substrate for arrhythmogenesis and subsequent remodeling.

A key adaptive–pathogenic module in acute ischemia is endothelial cell (EC) autophagy. Autophagy is an evolutionarily conserved pathway for degrading damaged proteins and organelles, sequentially involving: initiation of the pre-initiation ULK1/2–ATG13–FIP200 complex under the control of AMP-activated protein kinase (AMPK) and the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1); nucleation of the phagophore membrane by the VPS34–VPS15–Beclin-1 complex; elongation and closure mediated by the ATG12/ATG5/ATG16L1 system and LC3 conjugation with phosphatidylethanolamine; and fusion of the autophagosome with the lysosome involving syntaxin-17 (Stx17), SNAP29, VAMP8, and LAMP1/2.

У контексті ішемії/реперфузії (I/R) активація цього контуру має різноспрямований ефект [61].

З одного боку, помірний аутофагічний потік виконує цитопротекторні функції: видаляє дисфункційні мітохондрії та токсичні білкові агрегати, знижує надлишок ROS, підтримує біодоступність NO через стабілізацію eNOS-сигналіну, обмежує активацію інфламасоми та експресію прозапальних медіаторів. Важливою складовою є мітофагія – селективна елімінація пошкоджених мітохондрій. Вона реалізується шляхом PINK1–Parkin з убіквітинуванням білків зовнішньої мембрани та рекрутуванням адаптерів p62/OPTN/NDP52 до LC3, а також рецептор-залежними механізмами за участю BNIP3, NIX/BNIP3L, FUNDC1, BCL2L13 та FKBP8. Підтримання мітохондріального гомеостазу через ці осі зменшує ендотеліальний апоптоз, покращує реактивність мікросудин і полегшує відновлення перфузії.

З іншого боку, надмірна або дизрегульована аутофагія на тлі інтенсивного окисдативного/гіпоксичного стресу може набувати цитотоксичних рис. Гіпераутофагія пов'язується з депонуванням деградаційних продуктів, енергетичною децентралізацією клітини та запуском аутофагічної (тип II) загибелі, що посилює втрату ендотеліального покриву й мікросудинну обструкцію [62]. У таких умовах пригнічення надмірної аутофагії або її таргетоване перенаправлення на мітофагію відновлює життєздатність EC, зменшує ROS-перевантаження та покращує вазодилаторну відповідь.

Отже, клінічно релевантна мета – не «ввимкнути» чи «вимкнути» аутофагію, а відновити фізіологічний потік і селективність утилізації пошкоджених органел.

Суттєвим є перехресний зв'язок між ендотеліальною аутофагією та вазомоторикою. Активация AMPK у відповідь на енергетичний дефіцит одночасно стимулює аутофагію та eNOS-залежний синтез NO, тоді як гіперактивація mTORC1 пригнічує обидва контури, сприяючи вазоконстрикції. Окисно-редукційні зсуви модулюють ці шляхи: підвищення NADPH-оксидаз-залежних ROS у гострій ішемії може індукувати компенсаторну AMPK-mTOR-керовану аутофагію та покращувати EC-залежну коронарну вазодилатацію; натомість надлишковий гіпоксичний стимул через FoxO3a здатний переключити аутофагію в проапоптичний режим. У фазі реперфузії транскрипційний фактор EB (TFEB) підтримує лізосомальний біогенез і завершення аутофагічного циклу; його активація узгоджується зі зменшенням запалення та кращою виживаністю тканини.

В умовах інтервенційного відновлення кровотоку мікрооточення стента здатне модулювати ендотеліальну аутофагію. Індукція аутофагії під впливом антипроліферативних агентів із покриття може гальмувати реендотелізацію, зменшувати продукцію NO та сприяти тромбозу стента й рестенозу. Це підкреслює, що контроль над якістю й інтенсивністю аутофагічного потоку в перистентовій зоні є складовою профілактики мікросудинних ускладнень у гострому періоді.

Запалення та ендотеліально-мезенхімальна транзиція (endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT) формують відкладені наслідки гострої ішемії. Дефектний аутофагічний потік у EC сприяє NF-κB-залежній активації запалення та підсилює EndMT, що посилює периваскулярний фіброз і закріплює мікросудинну жорсткість;

In the context of ischemia/reperfusion (I/R), activation of this pathway exhibits a dual effect [61].

On one hand, moderate autophagic flux exerts cytoprotective functions: it removes dysfunctional mitochondria and toxic protein aggregates, reduces ROS overload, maintains NO bioavailability via stabilization of eNOS signaling, and limits inflammasome activation and proinflammatory mediator expression. A critical component of this process is mitophagy – the selective elimination of damaged mitochondria. Mitophagy is mediated through the PINK1–Parkin pathway, involving ubiquitination of outer mitochondrial membrane proteins and recruitment of adapters p62/OPTN/NDP52 to LC3, as well as receptor-dependent mechanisms involving BNIP3, NIX/BNIP3L, FUNDC1, BCL2L13, and FKBP8. Maintenance of mitochondrial homeostasis through these pathways decreases endothelial apoptosis, enhances microvascular reactivity, and facilitates restoration of perfusion.

On the other hand, excessive or dysregulated autophagy in the context of intense oxidative/hypoxic stress can acquire cytotoxic characteristics. Hyperautophagy is associated with accumulation of degradation products, energetic decentralization of the cell, and the initiation of autophagic (type II) cell death, which exacerbates endothelial denudation and microvascular obstruction [62]. Under these conditions, inhibition of excessive autophagy or its targeted redirection toward mitophagy restores endothelial cell viability, reduces ROS overload, and improves vasodilatory responsiveness.

Thus, the clinically relevant goal is not to simply «switch on» or «switch off» autophagy, but to restore physiological flux and selective clearance of damaged organelles.

A critical aspect is the crosstalk between endothelial autophagy and vasomotor function. AMPK activation in response to energy deficit simultaneously stimulates autophagy and eNOS-dependent NO synthesis, whereas hyperactivation of mTORC1 inhibits both pathways, promoting vasoconstriction. Redox shifts further modulate these circuits: increased NADPH-oxidase-dependent ROS during acute ischemia can induce compensatory AMPK-mTOR-regulated autophagy, enhancing EC-dependent coronary vasodilation; conversely, excessive hypoxic stimulus via FoxO3a can shift autophagy toward a pro-apoptotic mode. During reperfusion, the transcription factor EB (TFEB) supports lysosomal biogenesis and completion of the autophagic cycle; its activation is associated with reduced inflammation and improved tissue survival.

Under conditions of interventional reperfusion, the stent microenvironment can modulate endothelial autophagy. Autophagy induction by antiproliferative agents from the stent coating may inhibit reendothelialization, reduce NO production, and promote stent thrombosis and restenosis. This underscores that controlling the quality and intensity of autophagic flux in the persistent zone is a critical component of preventing microvascular complications during the acute phase.

Inflammation and endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) constitute delayed consequences of acute ischemia. Defective autophagic flux in ECs promotes NF-κB-dependent inflammatory activation and enhances EndMT, thereby increasing perivascular fibrosis and consolidating microvascular stiffness;

навпаки, відновлення аутофагії через TFEB-залежні механізми пригнічує EndMT і підтримує ангиогенез. Хоч ці події розгортаються поза гострою фазою, їхній початок закладається саме під час ішемії/реперфузії через зсуви в аутофагічних і мітофагічних контурах.

Таким чином, гостра ішемія міокарда характеризується взаємопов'язаними мікроциркуляторними та ендотеліальними порушеннями: структурним ремоделюванням резистивних судин і капілярів, дисбалансом ендотелій-залежних вазоактивних медіаторів, окисно-запальними зсувами та контекст-залежною перебудовою аутофагії/мітофагії. Клінічно значущим є те, що кероване відновлення ендотеліального аутофагічного потоку, збереження мітохондріального гомеостазу та підтримка eNOS-залежної біодоступності NO потенційно пом'якшують феномен «no-reflow», покращують коронарний мікрокровотік і зменшують обсяг ішемічного ушкодження. Це визначає аутофагію ЕС як перспективну мішень для модифікації перебігу гострого ушкодження та запобігання подальшому мікросудинному ремоделюванню.

ВИСНОВКИ

Гостра ішемія з подальшою реперфузією запускає послідовність «гіпоксія – ацидоз – кальцієве перевантаження», яка призводить до відкриття мітохондріальної перехідної пори проникності, роз'єднання окисного фосфорилування та енергетичного колапсу клітини. На цьому тлі активуються шляхи некрозу, апоптозу, некроптозу, піроптозу й фероптозу, що в сукупності визначає розмір інфаркту та ступінь ранньої дисфункції лівого шлуночка. Практичний висновок: будь-яка стратегія, що пом'якшує ці ланки послідовності, зменшує первинне ушкодження міокарда.

Окислювальний стрес у періоді реперфузії є центральним драйвером пошкодження: надмірне утворення активних форм кисню з мітохондрій, НАДФН-оксидаз, ксантиноксидази та «роз'єднаної» синтази оксиду азоту руйнує ліпіди і білки мембран, порушує роботу іонних каналів і насосів, посилює кальцієву дизрегуляцію та ураження мітохондрій. Виснаження ендогенних антиоксидантних систем робить навіть помірні окисні спалахи руйнівними. Тому своєчасне поєднання засобів, що зменшують утворення активних форм кисню і відновлюють антиоксидантні буфери, має ключове значення для обмеження інфаркт-розміру.

Мікроциркуляторна та ендотеліальна дисфункція є самостійними детермінантами несприятливого перебігу: зниження біодоступності оксиду азоту, підвищення судинної проникності, активація клітинної адгезії та запалення підтримують феномен «no-reflow» і гіпоксію тканини попри відновлення просвіту епікардіальної артерії. Ці процеси формують гетерогенність перфузії, підвищують ризик аритмій і сприяють патологічному ремоделюванню. Отже, таргетована корекція ендотеліальної функції є невід'ємною складовою кардіопротекції разом із відновленням коронарного кровотоку.

Найбільший терапевтичний потенціал мають комбіновані, часово узгоджені втручання: контроль швидкості нормалізації кислотно-лужного стану на початку реперфузії, обмеження зворотного транспорту електронів у мітохондріях і чутливості мітохондріальної

conversely, restoration of autophagy via TFEB-dependent mechanisms suppresses EndMT and supports angiogenesis. Although these processes unfold beyond the acute phase, their initiation is established during ischemia/reperfusion due to shifts in autophagic and mitophagic pathways.

Thus, acute myocardial ischemia is characterized by interrelated microcirculatory and endothelial disturbances: structural remodeling of resistive vessels and capillaries, imbalance of endothelium-dependent vasoactive mediators, redox-inflammatory shifts, and context-dependent remodeling of autophagy/mitophagy. Clinically, it is significant that controlled restoration of endothelial autophagic flux, maintenance of mitochondrial homeostasis, and preservation of eNOS-dependent NO bioavailability have the potential to mitigate the «no-reflow» phenomenon, improve coronary microcirculation, and reduce the extent of ischemic injury. This positions EC autophagy as a promising target for modulating the course of acute injury and preventing subsequent microvascular remodeling.

CONCLUSIONS

Acute ischemia followed by reperfusion triggers a pathophysiological sequence of «hypoxia – acidosis – calcium overload», which leads to the opening of the mitochondrial permeability transition pore, uncoupling of oxidative phosphorylation, and energetic collapse of the cell. Against this background, the pathways of necrosis, apoptosis, necroptosis, pyroptosis, and ferroptosis become activated, collectively determining the infarct size and the degree of early left ventricular dysfunction. Practical implication: any strategy that attenuates these elements of the sequence reduces the extent of primary myocardial injury.

Oxidative stress during reperfusion is a central driver of tissue injury: excessive generation of reactive oxygen species from mitochondria, NADPH oxidases, xanthine oxidase, and «uncoupled» nitric oxide synthase damages membrane lipids and proteins, disrupts the function of ion channels and pumps, and exacerbates calcium dysregulation and mitochondrial injury. Depletion of endogenous antioxidant systems renders even moderate oxidative bursts destructive. Therefore, timely combination strategies that both reduce reactive oxygen species formation and restore antioxidant buffers are crucial for limiting infarct size.

Microcirculatory and endothelial dysfunction are independent determinants of an unfavorable clinical course: reduced bioavailability of nitric oxide, increased vascular permeability, activation of cellular adhesion and inflammation sustain the «no-reflow» phenomenon and tissue hypoxia despite restoration of the epicardial artery lumen. These processes generate perfusion heterogeneity, increase the risk of arrhythmias, and promote pathological remodeling. Therefore, targeted correction of endothelial function is an essential component of cardioprotection alongside the restoration of coronary blood flow.

The greatest therapeutic potential lies in combined, temporally coordinated interventions: controlling the rate of acid–base normalization at the onset of reperfusion, limiting reverse electron transport in mitochondria and the sensitivity of the mitochondrial permeability transition

перехідної пори проникності, стабілізація кальцієвого гомеостазу, а також відновлення фізіологічного потоку аутофагії та мітофагії ендотеліальних клітин із підтриманням синтезу оксиду азоту. Додавання мікросудинно спрямованих підходів і сучасних регенеративних технологій створює підґрунтя для реального зменшення обсягу ушкодження, поліпшення перфузії та довгострокового відновлення скоротливої функції серця.

pore, stabilizing calcium homeostasis, and restoring the physiological flux of autophagy and mitophagy in endothelial cells while maintaining nitric oxide synthesis. The addition of microvascular-targeted strategies and modern regenerative technologies provides a foundation for a true reduction in injury extent, improved perfusion, and long-term recovery of the heart's contractile function.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Schirone L., Forte M., D'Ambrosio L., et al. An Overview of the Molecular Mechanisms Associated with Myocardial Ischemic Injury: State of the Art and Translational Perspectives. *Cells*. 2022. №11 (7). P. 1165. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11071165>
- Dambrova M., Zuurbier C. J., Borutaite V., et al. Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2021. №165. P. 24–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.036>
- Гладких Ф. В., Чиж М. О., Кошурба І. В., та ін. Антрациклінові ушкодження серця та вплив кріоекстракту плаценти на стан міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2023; №31 (2). С. 190–205. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>
- Wasylyuk W., Nowicka-Stążka P., Zwolak A. Heart Metabolism in Sepsis-Induced Cardiomyopathy-Unusual Metabolic Dysfunction of the Heart. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. №18 (14). P. 7598. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18147598>
- Чиж М. О., Матвієнко М. С., Гладких Ф. В., та ін. Оцінка кардіопротекторної активності кріоекстракту серця на моделі адреналінової міокардіодистрофії за показниками вільнорадикального окиснення. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2025. №2 (53). С. 178–193. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-02>
- Mastoor Y., Murphy E., Roman B. Mechanisms of postischemic cardiac death and protection following myocardial injury. *The Journal of Clinical Investigation*. 2025. №135 (1). P. e184134. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI184134>
- Чиж М. О., Гладких Ф. В., Лядова Т. І., та ін. Метаболічні зміни в міокарді під час ураження, викликаного адреналіном, та вплив кріоекстракту серця на метаболізм лактату-пірувату. *Український журнал серцево-судинної хірургії*. 2025. №33 (2). С. 53–61. DOI: [https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33(2).53-61)
- Zhao B. H., Ruze A., Zhao L., et al. The role and mechanisms of microvascular damage in the ischemic myocardium. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023. №80 (11). P. 341. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04998-z>
- Johnson J., Mohsin S., Houser S. R. Cardiomyocyte Proliferation as a Source of New Myocyte Development in the Adult Heart. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. № 22 (15). P. 7764. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22157764>
- Uchikado Y., Ikeda Y., Ohishi M. Current Understanding of the Pivotal Role of Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Diseases and Senescence. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022. №9. P. 905072. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.905072>
- Caiati C., Jirillo E. The Immune System, An Arrow into the Heart. Principles of Cardioimmunology, An Emerging Branch in Medicine. *Current Vascular Pharmacology*. 2025. №23 (12). P. 162–171. DOI: <https://doi.org/10.2174/0115701611325234241202073459>
- Yan W., Xia Y., Zhao H., et al. Stem cell-based therapy in cardiac repair after myocardial infarction: Promise, challenges, and future directions. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2024. №188. P. 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmcc.2023.12.009>
- Гладких Ф. В., Лядова Т. І., Коморовський Р. Р., та ін. Ультразвукова характеристика функціональних змін міокарда при застосуванні кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного міокардиту. *Український радіологічний журнал*. 2024. №31 (6). С. 35–46. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>
- Chen X., Zhu L., Wang X., et al. Insight into Heart-Tailored Architectures of Hydrogel to Restore Cardiac Functions after Myocardial Infarction. *Molecular Pharmaceutics*. 2023. №20 (1). P. 57–81. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00650>
- Lv Q., Ma B., Li W., et al. Nanomaterials-Mediated Therapeutics and Diagnosis Strategies for Myocardial Infarction. *Frontiers in Chemistry*. 2022. №10. P. 943009. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.943009>

REFERENCES

- Schirone L., Forte M., D'Ambrosio L., Valenti V., Vecchio D., Schiavon S., et al. An Overview of the Molecular Mechanisms Associated with Myocardial Ischemic Injury: State of the Art and Translational Perspectives. *Cells*. 2022;11(7):1165. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11071165>
- Dambrova M., Zuurbier C.J., Borutaite V., Liepinsh E., Makrecka-Kuka M. Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2021;165:24–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.036>
- Hladkykh F., Chyzh M., Koshurba I., Belochkina I., Komorovsky R., Marchenko M., et al. Anthracycline-induced cardiac injuries and the effect of placenta cryoextract on the myocardium in doxorubicin cardiomyopathy. *Ukrainian Journal of Radiology and Oncology*. 2023;31(2):190–205. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2023.190-205>
- Wasylyuk W., Nowicka-Stążka P., Zwolak A. Heart Metabolism in Sepsis-Induced Cardiomyopathy-Unusual Metabolic Dysfunction of the Heart. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(14):7598. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18147598>
- Chyzh MO, Matvieienko MS, Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR, Kozlova TV. Evaluation of the cardioprotective activity of cardiac cryoextract in an adrenaline-induced myocardiodystrophy model based on oxidative stress markers. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2025;2(53):178–193. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-02>
- Mastoor Y, Murphy E, Roman B. Mechanisms of postischemic cardiac death and protection following myocardial injury. *The Journal of Clinical Investigation*. 2025;135(1):e184134. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI184134>
- Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS, Komorovsky RR. Metabolic Changes in the Myocardium during Adrenaline-Induced Injury and the Effect of Heart Cryoextract on Lactate-Pyruvate Metabolism. *Ukrainian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2025;33(2):53–61. (In Ukrainian). DOI: [https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33\(2\).53-61](https://doi.org/10.63181/ujcv.2025.33(2).53-61)
- Zhao BH, Ruze A, Zhao L, Li QL, Tang J, Xiefukaiti N, et al. The role and mechanisms of microvascular damage in the ischemic myocardium. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2023;80(11):341. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04998-z>
- Johnson J, Mohsin S, Houser SR. Cardiomyocyte Proliferation as a Source of New Myocyte Development in the Adult Heart. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(15):7764. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22157764>
- Uchikado Y, Ikeda Y, Ohishi M. Current Understanding of the Pivotal Role of Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Diseases and Senescence. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:905072. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.905072>
- Caiati C, Jirillo E. The Immune System, An Arrow into the Heart. Principles of Cardioimmunology, An Emerging Branch in Medicine. *Current Vascular Pharmacology*. 2025;23(12):162–71. DOI: <https://doi.org/10.2174/0115701611325234241202073459>
- Yan W, Xia Y, Zhao H, Xu X, Ma X, Tao L. Stem cell-based therapy in cardiac repair after myocardial infarction: Promise, challenges, and future directions. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2024;188:1–14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmcc.2023.12.009>
- Hladkykh FV, Liadova TI, Komorovsky RR, Chyzh MO. Ultrasonic characterization of the effect of conditioned medium from mesenchymal stem cells on cardiac function in experimental autoimmune myocarditis. *Ukrainian Journal of Cardiology*. 2024;31(6):35–46. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.6.3546>
- Chen X, Zhu L, Wang X, Xiao J. Insight into Heart-Tailored Architectures of Hydrogel to Restore Cardiac Functions after Myocardial Infarction. *Molecular Pharmaceutics*. 2023;20(1):57–81. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00650>
- Lv Q, Ma B, Li W, Fu G, Wang X, Xiao Y. Nanomaterials-Mediated Therapeutics and Diagnosis Strategies for Myocardial Infarction. *Frontiers in Chemistry*. 2022;10:943009. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.943009>

16. Ghanta S. N., Kattamuri L. P. V., Oduke A., et al. Molecular Insights into Ischemia-Reperfusion Injury in Coronary Artery Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications: A Comprehensive Review. *Antioxidants*. 2025. №14 (2). P. 213. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox1402021>
17. Dong S., Qian L., Cheng Z., et al. Lactate and Myocardial Energy Metabolism. *Frontiers in Physiology*. 2021. №12. P. 715081. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.715081>
18. Buja L. M. Pathobiology of Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury: Models, Modes, Molecular Mechanisms, Modulation, and Clinical Applications. *Cardiology Reviews*. 2023. №31 (5). P. 252–264. DOI: <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000440>
19. Xia H., Zahra A., Jia M., et al. Na⁺/H⁺ Exchanger 1, a Potential Therapeutic Drug Target for Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Pharmaceuticals*. 2022. №15 (7). P. 875. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15070875>
20. Kho C. Targeting calcium regulators as therapy for heart failure: focus on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase pump. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023. №10. P. 1185261. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1185261>
21. Chen C. L., Zhang L., Jin Z., et al. Mitochondrial redox regulation and myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2022. №322 (1). P. C12–C23. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00131.2021>
22. Alves-Figueiredo H., Silva-Platas C., Lozano O., et al. A systematic review of post-translational modifications in the mitochondrial permeability transition pore complex associated with cardiac diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2021. №1867 (1). P. 165992. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165992>
23. Bertero E., Popoiu T. A., Maack C. Mitochondrial calcium in cardiac ischemia/reperfusion injury and cardioprotection. *Basic Research in Cardiology*. 2024. №119. P. 569–585. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-024-01060-2>
24. Benitah J. P., Perrier R., Mercadier J. J., et al. RyR2 and Calcium Release in Heart Failure. *Frontiers in Physiology*. 2021. №12. P. 734210. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734210>
25. Гладких Ф. В., Лядова Т. І., Чиж М. О., та ін. Кардіоселективність кріобіотехнологічних засобів у терапії серцево-судинних захворювань (Монографія). *Вінниця: Теорія*. 2025. DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
26. Bernardi P., Gerle C., Halestrap A. P., et al. Identity, structure, and function of the mitochondrial permeability transition pore: controversies, consensus, recent advances, and future directions. *Cell Death & Differentiation*. 2023. №30. P. 1869–1885. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41418-023-01187-0>
27. Zong Y., Li H., Liao P., et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024. №9. P. 124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>
28. Boyenle I. D., Oyedele A. K., Ogunlana A. T., et al. Targeting the mitochondrial permeability transition pore for drug discovery: Challenges and opportunities. *Mitochondrion*. 2022. №63. P. 57–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2022.01.00>
29. Prag H. A., Pala L., Kula-Alwar D., et al. Ester Prodrugs of Malonate with Enhanced Intracellular Delivery Protect Against Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury In Vivo. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2022. №36. P. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10557-020-07033-6>
30. Chavda V., Lu B. Reverse Electron Transport at Mitochondrial Complex I in Ischemic Stroke, Aging, and Age-Related Diseases. *Antioxidants*. 2023. №12 (4). P. 895. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040895>
31. Xing Y., Xie S. Y., Deng W., et al. Cardiolipin in myocardial ischaemia-reperfusion injury: From molecular mechanisms to clinical strategies. *Biomedical Pharmacotherapy*. 2024. №176. P. 116936. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116936>
32. Swain L., Bhav S., Qiao X., et al. Novel Role for Cardiolipin as a Target of Therapy to Mitigate Myocardial Injury Caused by Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Circulation*. 2024. №149 (17). P. 1341–1353. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.065298>
33. Haleckova A., Benek O., Zemanová L., et al. Small-molecule inhibitors of cyclophilin D as potential therapeutics in mitochondria-related diseases. *Medicinal Research Reviews*. 2022. №42 (5). P. 1822–1855. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21892>
34. Garbincius J. F., Luongo T. S., Jadia P., et al. Enhanced NCLX-dependent mitochondrial Ca²⁺ efflux attenuates pathological remodeling in heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2022. №167. P. 52–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2022.03.001>
35. Piao L., Fang Y. H., Hamanaka R. B., et al. Suppression of Superoxide-Hydrogen Peroxide Production at Site I_o of Mitochondrial Complex
16. Ghanta SN, Kattamuri LPV, Oduke A, Mehta JL. Molecular Insights into Ischemia-Reperfusion Injury in Coronary Artery Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications: A Comprehensive Review. *Antioxidants*. 2025;14(2):213. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox1402021>
17. Dong S, Qian L, Cheng Z, Chen C, Wang K, Hu S, et al. Lactate and Myocardial Energy Metabolism. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:715081. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.715081>
18. Buja L. M. Pathobiology of Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury: Models, Modes, Molecular Mechanisms, Modulation, and Clinical Applications. *Cardiology Reviews*. 2023;31(5):252–64. DOI: <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000440>
19. Xia H, Zahra A, Jia M, Wang Q, Wang Y, Campbell SL, et al. Na⁺/H⁺ Exchanger 1, a Potential Therapeutic Drug Target for Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Pharmaceuticals*. 2022;15(7):875. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15070875>
20. Kho C. Targeting calcium regulators as therapy for heart failure: focus on the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase pump. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;10:1185261. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1185261>
21. Chen CL, Zhang L, Jin Z, Kasumov T, Chen YR. Mitochondrial redox regulation and myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2022;322(1):C12–23. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00131.2021>
22. Alves-Figueiredo H, Silva-Platas C, Lozano O, Vázquez-Garza E, Guerrero-Beltrán CE, Zarain-Herzberg A, et al. A systematic review of post-translational modifications in the mitochondrial permeability transition pore complex associated with cardiac diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2021;1867(1):165992. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165992>
23. Bertero E, Popoiu TA, Maack C. Mitochondrial calcium in cardiac ischemia/reperfusion injury and cardioprotection. *Basic Research in Cardiology*. 2024;119:569–85. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00395-024-01060-2>
24. Benitah JP, Perrier R, Mercadier JJ, Pereira L, Gómez AM. RyR2 and Calcium Release in Heart Failure. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:734210. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734210>
25. Hladkykh FV, Liadova TI, Chyzh MO, Komorovsky RR, Babaeva HH, Matvieienko MS. Cardiospecificity of cryobiotechnological agents in the treatment of cardiovascular diseases. (Monograph). *Vinnitsia: Tvory*. 2025. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.46879/2025.4>
26. Bernardi P, Gerle C, Halestrap AP, Jonas EA, Karch J, Mnatsakanyan N, et al. Identity, structure, and function of the mitochondrial permeability transition pore: controversies, consensus, recent advances, and future directions. *Cell Death & Differentiation*. 2023;30:1869–85. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41418-023-01187-0>
27. Zong Y, Li H, Liao P, Chen L, Pan Y, Zheng Y, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024;9:124. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01839-8>
28. Boyenle ID, Oyedele AK, Ogunlana AT, Adeyemo AF, Oyeler FS, Akinola OB, et al. Targeting the mitochondrial permeability transition pore for drug discovery: Challenges and opportunities. *Mitochondrion*. 2022;63:57–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mito.2022.01.00>
29. Prag HA, Pala L, Kula-Alwar D, Mulvey JF, Luping D, Beach TE, et al. Ester Prodrugs of Malonate with Enhanced Intracellular Delivery Protect Against Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury In Vivo. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2022;36:1–13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10557-020-07033-6>
30. Chavda V, Lu B. Reverse Electron Transport at Mitochondrial Complex I in Ischemic Stroke, Aging, and Age-Related Diseases. *Antioxidants*. 2023;12(4):895. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040895>
31. Xing Y, Xie SY, Deng W, Tang QZ. Cardiolipin in myocardial ischaemia-reperfusion injury: From molecular mechanisms to clinical strategies. *Biomedical Pharmacotherapy*. 2024;176:116936. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116936>
32. Swain L, Bhav S, Qiao X, Reyelt L, Everett KD, Awata J, et al. Novel Role for Cardiolipin as a Target of Therapy to Mitigate Myocardial Injury Caused by Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Circulation*. 2024;149(17):1341–53. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.065298>
33. Haleckova A, Benek O, Zemanová L, Dolezal R, Musilek K. Small-molecule inhibitors of cyclophilin D as potential therapeutics in mitochondria-related diseases. *Medicinal Research Reviews*. 2022;42(5):1822–55. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21892>
34. Garbincius JF, Luongo TS, Jadia P, Hildebrand AN, Kolmetzky DW, et al. Enhanced NCLX-dependent mitochondrial Ca²⁺ efflux attenuates pathological remodeling in heart failure. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2022;167:52–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2022.03.001>
35. Piao L, Fang YH, Hamanaka RB, Mutlu GM, Dezfulian C, Archer SL, et al. Suppression of Superoxide-Hydrogen Peroxide Production at Site I_o of

- I Attenuates Myocardial Stunning and Improves Postcardiac Arrest Outcomes. *Critical Care Medicine*. 2020. №48 (2). P. e133–e140. DOI: <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004095>
36. Fang J., Wong H. S., Brand M. D. Production of superoxide and hydrogen peroxide in the mitochondrial matrix is dominated by site I_o of complex I in diverse cell lines. *Redox Biology*. 2020. №37. P. 101722. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101722>
37. Escudero D. S., Pérez N. G., Díaz R. G. Myocardial Impact of NHE1 Regulation by Sildenafil. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021. №8. P. 617519. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.617519>
38. Tsurusaki S., Kizana E. Mechanisms and Therapeutic Potential of Multiple Forms of Cell Death in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. №25 (24). P. 13492. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms252413492>
39. Marin W., Marin D., Ao X., et al. Mitochondria as a therapeutic target for cardiac ischemia reperfusion injury (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2021. №47 (2). P. 485–499. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4823>
40. Чиж М. О., Гладких Ф. В., Ядлова Т. І., та ін. Кріоекстракт серця як модулятор гліколізу в умовах експериментальної міокардіодистрофії. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2025. №13 (3). С. 712–722. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(3):712-722)
41. Du B., Fu Q., Yang Q., et al. Different types of cell death and their interactions in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Discovery*. 2025. №11. P. 87. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02372-5>
42. Гладких Ф. В. Імунопатологічні аспекти етіопатогенезу міокардиту. *Український кардіологічний журнал*. 2024. №31 (1). P. 103–112. DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>
43. Jin B., Zhang Z., Zhang Y., et al. Ferroptosis and myocardial ischemia-reperfusion: mechanistic insights and new therapeutic perspectives. *Frontiers in Pharmacology*. 2024. №15. P. 1482986. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1482986>
44. Cui B., Qi Z., Liu W., et al. ZBP1-mediated PANoptosis: A possible novel mechanism underlying the therapeutic effects of penehyclidine hydrochloride on myocardial ischemia-reperfusion injury. *International Immunopharmacology*. 2024. №137. P. 112373. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112373>
45. Li P. B., Bai J. Q., Jiang W. X., et al. The mechanosensitive Piezo1 channel exacerbates myocardial ischaemia/reperfusion injury by activating caspase-8-mediated PANoptosis. *International Immunopharmacology*. 2024. №139. P. 112664. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112664>
46. Xiang Q., Yi X., Zhu X. H., et al. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2024. №35 (3). P. 219–234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.10.010>
47. Orfali R., Gamal El-Din A. H., Karthick V., et al. Modulation of Redox-Sensitive Cardiac Ion Channels. *Antioxidants*. 2025. №14 (7). P. 836. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox14070836>
48. Daiber A., Andreadou I., Oelze M., et al. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Free Radical Biology and Medicine*. 2021. №163. P. 325–343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
49. Chen Q. M. Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2021. №42 (9). P. 729–744. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.06.005>
50. Lee J., Hyun D. H. The Interplay between Intracellular Iron Homeostasis and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*. 2023. №12 (4). P. 918. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040918>
51. Zhao W. K., Zhou Y., Xu T. T., et al. Ferroptosis: Opportunities and Challenges in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021. №2021 (1). P. 9929687. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9929687>
52. Wang Q., Wu J., Zeng Y., et al. Pyroptosis: A pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*. 2020. №510. P. 62–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.044>
53. Rochette L., Dogon G., Rigal E., et al. Lipid Peroxidation and Iron Metabolism: Two Corner Stones in the Homeostasis Control of Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №24 (1). P. 449. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24010449>
54. Fischesser D. M., Bo B., Benton R. P., et al. Controlling Reperfusion Injury With Controlled Reperfusion: Historical Perspectives and New Paradigms. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2021. №26 (6). P. 504–523. DOI: <https://doi.org/10.1177/10742484211046674>
55. Daiber A., Andreadou I., Oelze M., et al. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Free Radical Mitochondrial Complex I Attenuates Myocardial Stunning and Improves Postcardiac Arrest Outcomes. Critical Care Medicine*. 2020;48(2):e133–40. DOI: <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004095>
36. Fang J, Wong HS, Brand MD. Production of superoxide and hydrogen peroxide in the mitochondrial matrix is dominated by site I_o of complex I in diverse cell lines. *Redox Biology*. 2020;37:101722. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101722>
37. Escudero DS, Pérez NG, Díaz RG. Myocardial Impact of NHE1 Regulation by Sildenafil. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021;8:617519. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.617519>
38. Tsurusaki S, Kizana E. Mechanisms and Therapeutic Potential of Multiple Forms of Cell Death in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(24):13492. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms252413492>
39. Marin W, Marin D, Ao X, Liu Y. Mitochondria as a therapeutic target for cardiac ischemia reperfusion injury (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. 2021;47(2):485–99. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4823>
40. Chyzh MO, Hladkykh FV, Liadova TI, Matvienko MS, Komorovsky RR. Modulatory effects of porcine cardiac cryoextract on glycogenolysis in experimental models of myocardial dystrophy. *Eastern Ukrainian Medical Journal*. 2025;13(3):712–22. (In Ukrainian) DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(3\):712-722](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(3):712-722)
41. Du B, Fu Q, Yang Q, Yang Y, Li R, Yang X, et al. Different types of cell death and their interactions in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Discovery*. 2025;11:87. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02372-5>
42. Hladkykh FV. Immunopathological aspects of etiopathogenesis of myocarditis. *Ukrainian Journal of Cardiology*. 2024;31(1):103–12. (In Ukrainian) DOI: <https://doi.org/10.31928/2664-4479-2024.1.103112>
43. Jin B, Zhang Z, Zhang Y, Yang M, Wang C, Xu J, et al. Ferroptosis and myocardial ischemia-reperfusion: mechanistic insights and new therapeutic perspectives. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1482986. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1482986>
44. Cui B, Qi Z, Liu W, Zhang G, Lin D. ZBP1-mediated PANoptosis: A possible novel mechanism underlying the therapeutic effects of penehyclidine hydrochloride on myocardial ischemia-reperfusion injury. *International Immunopharmacology*. 2024;137:112373. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112373>
45. Li PB, Bai JQ, Jiang WX, Li HH, Li CM. The mechanosensitive Piezo1 channel exacerbates myocardial ischaemia/reperfusion injury by activating caspase-8-mediated PANoptosis. *International Immunopharmacology*. 2024;139:112664. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112664>
46. Xiang Q, Yi X, Zhu XH, Wei X, Jiang DS. Regulated cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2024;35(3):219–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.10.010>
47. Orfali R, Gamal El-Din AH, Karthick V, Lamis E, Xiao V, Ramanishka A, et al. Modulation of Redox-Sensitive Cardiac Ion Channels. *Antioxidants*. 2025;14(7):836. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox14070836>
48. Daiber A, Andreadou I, Oelze M, Davidson SM, Hausenloy DJ. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Free Radical Biology and Medicine*. 2021;163:325–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
49. Chen QM. Nrf2 for cardiac protection: pharmacological options against oxidative stress. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2021;42(9):729–44. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.06.005>
50. Lee J, Hyun DH. The Interplay between Intracellular Iron Homeostasis and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*. 2023;12(4):918. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12040918>
51. Zhao WK, Zhou Y, Xu TT, Wu Q. Ferroptosis: Opportunities and Challenges in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021(1):9929687. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9929687>
52. Wang Q, Wu J, Zeng Y, Chen K, Wang C, Yang S, et al. Pyroptosis: A pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*. 2020;510:62–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.044>
53. Rochette L, Dogon G, Rigal E, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Lipid Peroxidation and Iron Metabolism: Two Corner Stones in the Homeostasis Control of Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;24(1):449. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24010449>
54. Fischesser DM, Bo B, Benton RP, Su H, Jahanpanah N, Haworth KJ. Controlling Reperfusion Injury With Controlled Reperfusion: Historical Perspectives and New Paradigms. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2021;26(6):504–23. DOI: <https://doi.org/10.1177/10742484211046674>
55. Daiber A, Andreadou I, Oelze M, Davidson SM, Hausenloy DJ. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Free*

- Biology and Medicine*. 2021. №163. P. 325–343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
56. Mangoni A. A., Zinellu A. Serum Concentrations of Ischaemia-Modified Albumin in Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2022. №11 (14). P. 4205. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11144205>
57. Vancheri F., Longo G., Vancheri S., et al. Coronary Microvascular Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. 2020. №9 (9). P. 2880. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9092880>
58. Merz C. N., Pepine C. J., Shimokawa H., et al. Treatment of coronary microvascular dysfunction. *Cardiovascular Research*. 2020. №116 (4). P. 856–870. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa006>
59. Ghobrial M., Bawamia B., Cartledge T., et al. Microvascular Obstruction in Acute Myocardial Infarction, a Potential Therapeutic Target. *Journal of Clinical Medicine*. 2023. №12 (18). P. 5934. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12185934>
60. Park S. K., Cho J. M., Mookherjee S., et al. Recent Insights Concerning Autophagy and Endothelial Cell Nitric Oxide Generation. *Current Opinion in Physiology*. 2022. №30. P. 100614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100614>
61. Marzoug B. A. Endothelial cell autophagy in the context of disease development. *Anatomy & Cell Biology*. 2023. №56 (1). P. 16–24. DOI: <https://doi.org/10.5115/acb.22.098>
62. Tang L., Zhang W., Liao Y., et al. Autophagy: a double-edged sword in ischemia-reperfusion injury. *Cellular & Molecular Biology Letters*. 2025. №30. P. 42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11658-025-00713-x>
- Radical Biology and Medicine*. 2021;163:325–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.026>
56. Mangoni AA, Zinellu A. Serum Concentrations of Ischaemia-Modified Albumin in Acute Coronary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(14):4205. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11144205>
57. Vancheri F, Longo G, Vancheri S, Henein M. Coronary Microvascular Dysfunction. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(9):2880. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm9092880>
58. Merz CN, Pepine CJ, Shimokawa H, Berry C. Treatment of coronary microvascular dysfunction. *Cardiovascular Research*. 2020;116(4):856–70. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa006>
59. Ghobrial M, Bawamia B, Cartledge T, Spyridopoulos I, Kunadian V, Zaman A, et al. Microvascular Obstruction in Acute Myocardial Infarction, a Potential Therapeutic Target. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(18):5934. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12185934>
60. Park SK, Cho JM, Mookherjee S, Pires PW, Symons JD. Recent Insights Concerning Autophagy and Endothelial Cell Nitric Oxide Generation. *Current Opinion in Physiology*. 2022;30:100614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100614>
61. Marzoug BA. Endothelial cell autophagy in the context of disease development. *Anatomy & Cell Biology*. 2023;56(1):16–24. DOI: <https://doi.org/10.5115/acb.22.098>
62. Tang L, Zhang W, Liao Y, Wang W, Deng X, Wang C, et al. Autophagy: a double-edged sword in ischemia-reperfusion injury. *Cellular & Molecular Biology Letters*. 2025;30:42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11658-025-00713-x>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що обмеження цього огляду зумовлені як попередньо окресленими рамками тематики, часових періодів і типів досліджень, так і доступністю джерел. Пошукова стратегія охоплювала [Clinical Key Elsevier; Cochrane Library; eBook Business Collection (EBSCO); Google Scholar] із визначеними датами індексації. Включені роботи відрізнялися за дизайном і методологічною якістю; у частини досліджень ризик упередженості був підвищеним, а міждослідницька варіабельність показників залишалася істотною, що знижує внутрішню валідність сукупних оцінок і обмежує узагальнюваність висновків на інші популяції та клінічні контексти. Для зменшення зазначених впливів застосовано незалежний подвійний відбір та вилучення даних, розширені комбінації ключових слів і логічних операторів.

Перспективи подальших досліджень

Хоча вже відомо, що ішемічне ушкодження серця пов'язане зі стресовими реакціями клітин, порушенням роботи мітохондрій та проблемами у функції ендотелію, усе ще бракує комплексних досліджень, які б поєднували ці процеси. Подальші роботи мають показати, як саме молекулярні та клітинні зміни впливають на перебіг ушкодження й відновлення тканини з часом, а також допомогти визначити надійні біомаркери та оптимальні періоди для лікувальних втручань.

Конфлікт інтересів

Всі автори подали до редакції заповнену Єдину форму розкриття конфлікту інтересів Міжнародного комітету редакторів медичних журналів «ICMJE» (*International Committee of Medical Journal Editors*). 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.

Дотримання етичних норм

Автори рукопису свідомо засвідчують, що підготовка рукопису здійснювалась виключно на основі відкрито опублікованих наукових джерел. У роботі не використовувалися

Limitations of the study

The authors of the manuscript acknowledge that the limitations of this review are due to both the previously outlined scope of the subject, time periods and types of studies, and the availability of sources. The search strategy covered [Clinical Key Elsevier; Cochrane Library; eBook Business Collection (EBSCO); Google Scholar] with specified indexing dates. The included studies varied in design and methodological quality; some studies had an increased risk of bias, and inter-study variability in indicators remained substantial, which reduces the internal validity of the aggregate estimates and limits the generalizability of the conclusions to other populations and clinical contexts. Independent double selection and data extraction, expanded combinations of keywords and logical operators were used to reduce these effects.

Prospects for further research

Although it is already known that ischemic heart injury is associated with cellular stress responses, mitochondrial dysfunction, and endothelial dysfunction, comprehensive studies that integrate these processes are still lacking. Further work should show how molecular and cellular changes influence the course of injury and tissue repair over time, as well as help identify reliable biomarkers and optimal periods for therapeutic interventions.

Conflict of interest

All authors have submitted to the editorial office a completed ICMJE (*International Committee of Medical Journal Editors*) Uniform Conflict of Interest Disclosure Form. The authors of the manuscript consciously declare that they have no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the submitted materials or that sponsored the conducted research.

Ethics statement

The authors of the manuscript consciously certify that the preparation of the manuscript was carried out exclusively on the basis of openly published scientific sources. The work did not

персоніфіковані дані пацієнтів, результати первинних клінічних та доклінічних досліджень. У зв'язку з цим отримання схвалення комісії з питань біоетики не вимагалось. Дослідження виконане з дотриманням принципів належної наукової практики та відповідно до міжнародних етичних стандартів, зокрема рекомендацій Комітету з публікаційної етики «COPE» (*Committee on Publication Ethics*).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту «GAIDeT» (*Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy*, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що первинна медична документація (результати лабораторних та інструментальних досліджень конкретних пацієнтів) та статистичні бази даних у роботі не використовувалися. Усі твердження та узагальнення підкріплені посиланнями на першоджерела, доступні у відкритому доступі або через наукові бібліотечні ресурси. Додаткові матеріали, що стосуються процесу відбору джерел чи деталізації методології аналізу, можуть бути надані автором-кореспондентом за обґрунтованим запитом.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України. Роботу виконано в рамках відомчої науково-дослідної роботи відділу експериментальної кріомедицини 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 – виконуючий обов'язки завідувача відділу експериментальної кріомедицини Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, кандидат медичних наук, старший дослідник М.О. Чиж.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

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
mob.: +38 (097) 361-68-61

Внесок автора: концепція та дизайн дослідження, збір даних, остаточне затвердження статті.

Гладких Федір Володимирович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; старший науковий співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С.П. Григор'єва Національної академії

use personalized patient data, the results of primary clinical and preclinical studies. In this regard, obtaining approval from the bioethics committee was not required. The study was performed in compliance with the principles of good scientific practice and in accordance with international ethical standards, in particular the recommendations of the Committee on Publication Ethics «COPE» (*Committee on Publication Ethics*).

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that in the process of conducting the research and preparing this manuscript, they did not use any generative artificial intelligence tools or services to perform any tasks listed in the Generative Artificial Intelligence Delegation Taxonomy (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed without the involvement of generative artificial intelligence, exclusively by the authors.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that primary medical documentation (results of laboratory and instrumental studies of specific patients) and statistical databases were not used in the work. All statements and generalizations are supported by references to primary sources available in the open access or through scientific library resources. Additional materials related to the process of source selection or detailing the analysis methodology can be provided by the corresponding author upon reasonable request.

Funding information

Funding from the State Budget of Ukraine. The work was carried out within the framework of the departmental research work of the Department of Experimental Cryomedicine of the Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine «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, implementation period: 2022–2026, supervisor – Acting Head of the Department of Experimental Cryomedicine of the Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher M.O. Chyzh.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

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: research concept and design, data collection, final approval of the article.

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Doctoral student of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of the V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine of the State Organization «Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical

медицини України», вул. Григорія Сковороди, буд. 82,
м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladykh@gmail.com
моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: підбір літературних джерел, 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.

Ляшок Андрій Леонідович – кандидат медичних наук, доцент кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: andrii.liashok@karazin.ua
моб.: +38 (050) 325-20-59

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, написання тексту статті, формулювання висновків.

Матвієнко Марія Сергіївна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: maria.matvieienko@karazin.ua
моб.: +38 (050) 161-98-36

Внесок автора: аналіз та інтерпретація даних, написання статті, редагування статті, остаточне затвердження статті.

Каніщева Олена Володимирівна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», 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: elena.petrenko@karazin.ua
моб.: +38 (063) 044-04-74

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

Кошурба Ілля Васильович – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», доцент кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: koshurba@gmail.com
моб.: +38 (095) 417-80-06

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

Sciences of Ukraine», 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladykh@gmail.com
tel.: +38 (099) 782-78-72

Author's contribution: selection of literary sources, writing the text of the article.

Liadova Tetyana Ivanivna – Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean of the School of Medicine 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: 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.

Liashok Andrii Leonidovich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine of the School of Medicine 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: andrii.liashok@karazin.ua
tel.: +38 (050) 325-20-59.

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

Matvieienko Mariia Serhiivna – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Associate Professor, Head of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine 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: maria.matvieienko@karazin.ua
tel.: +38 (050) 161-98-36

Author's contribution: data analysis and interpretation, article writing, article editing, final approval of the article.

Kanishcheva Olena Volodymyrivna – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Associate Professor of the Internal Medicine Department 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: elena.petrenko@karazin.ua
моб.: +38 (063) 044-04-74

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

Koshurba Illia Vasylovych – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine», Associate Professor of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine 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: koshurba@gmail.com
tel.: +38 (095) 417-80-06

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
12.07.2025

Отримано після рецензування
Received after review
26.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-16>
УДК: 159.964:616.896-053.2



Річне психоаналітичне лікування невербальної дитини з розладом аутистичного спектра: клінічний випадок

Подорожна З.Б.^{1,2},  <https://orcid.org/0009-0007-5924-7349>, e-mail: psy.zpod@gmail.com

¹Українська Асоціація Психоаналізу, Київ, Україна

²«Mental Health Harmony LLC», Нью Джерсі, Сполучені Штати Америки

One-year psychoanalytic treatment of a nonverbal child with ASD: a clinical case report

Podorozhna Z.B.^{1,2},  <https://orcid.org/0009-0007-5924-7349>, e-mail: psy.zpod@gmail.com

¹Ukrainian Association of Psychoanalysis, Kyiv, Ukraine

²«Mental Health Harmony LLC», New Jersey, United States of America

Ключові слова:

психоаналіз і аутизм, психоаналітична терапія дітей, раннє втручання в аутизм, дитяча психотерапія з розладом аутистичного спектра, невербальна дитина з аутизмом, клінічний випадок РАС, символічна гра при аутизмі.

Для кореспонденції:

Подорожна Зоя Борисівна
Українська Асоціація Психоаналізу
вул. Лаврська, буд. 16, м. Київ, Україна, 01015;
e-mail: psy.zpod@gmail.com

© Подорожна З.Б., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Представлено випадок річної психоаналітичної терапії 4,5-річного хлопчика з розладом аутистичного спектра, який не розмовляв. Пацієнт (псевдонім «Ноа») демонстрував мінімальний контакт очей, відсутність мовлення та стереотипні дії, що типово для тяжких форм аутизму.

Мета роботи – проілюструвати та проаналізувати клінічний випадок, в якому застосовано оригінальний психоаналітичний підхід до невербальної дитини з аутизмом.

Матеріали та методи. Проведено одиничне клінічне дослідження за принципами CARE Guidelines: описано перебіг психоаналітичної ігрової терапії тривалістю 12 місяців із поступовим впровадженням технік віддзеркалення емоційних станів дитини, розширення її спонтанних дій та підтримки символічного творення через гру. Терапевтичний процес супроводжувався адаптацією сенсорного середовища під особливі потреби дитини.

Результати. Наприкінці року у дитини з'явилися окремі слова та виражені жести, сформувалися навички елементарної сюжетно-рольової гри (годування і одягання ляльки), значно покращилася соціальна взаємодія – хлопчик почав встановлювати зоровий контакт, ініціювати спільну гру та менше тривожився при змінах.

Висновки. Індивідуально підібрана психоаналітична терапія, що акцентує здатність дитини до символізації, може сприяти розвитку комунікативних навичок навіть за тяжкого аутизму. Випадок демонструє важливість терапевтичного альянсу, креативності клініциста й урахування сенсорних потреб пацієнта для успішної роботи з дітьми з розладом аутистичного спектра.

Для цитування:

Подорожна З.Б. Річне психоаналітичне лікування невербальної дитини з розладом аутистичного спектра: клінічний випадок. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2025. Т. 33 № 5(56). С. 918–932. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-16>

Keywords:

psychoanalysis and autism, psychoanalytic therapy for children, early intervention for autism, child psychotherapy for ASD, nonverbal children with autism, clinical case of ASD, symbolic play in autism.

For correspondence:

Podorozhna Zoia Borysivna
Ukrainian Association of Psychoanalysis;
16 Lavrska Str., Kyiv, Ukraine, 01015;
e-mail: psy.zpod@gmail.com

© Podorozhna Z.B., 2025

ABSTRACT

Background. This paper describes a year of psychoanalytic therapy with a 4.5-year-old boy with autism spectrum disorder who did not speak. The patient (nickname «Noah») showed minimal eye contact, no speech, and stereotypical behaviors common in severe autism.

Purpose – is to illustrate and analyze a clinical case in which an original psychoanalytic approach was applied to a nonverbal child with autism.

Materials and Methods. A single clinical study was conducted following the CARE Guidelines; it described a 12-month course of psychoanalytic play therapy, gradually introducing techniques to reflect the child's emotional states, expand their spontaneous actions, and support symbol formation through play. The therapeutic process included adapting the sensory environment to meet the child's specific needs.

Results. By the end of the year, the child had acquired a few words and expressive gestures, developed basic pretend play skills (feeding and dressing a doll), and showed a marked improvement in social interaction: the boy began making eye contact, initiating joint play, and exhibiting less anxiety in response to changes.

Conclusions. Individually tailored psychoanalytic therapy that emphasizes the child's ability to symbolize can foster the development of communication skills even in severe autism. This case highlights the importance of the therapeutic alliance, clinician creativity, and addressing the child's sensory needs for successful work with children with autism spectrum disorder.

For citation:

Podorozhna ZB. One-year psychoanalytic treatment of a nonverbal child with ASD: a clinical case report. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025;33(5(56)):918–932. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-56-16>

ВСТУП

Розлад аутистичного спектра (РАС) – це нейророзвитковий розлад, що характеризується стійкими дефіцитами соціальної комунікації та повторюваними стереотипними моделями поведінки [1]. Близько 25–33% дітей з РАС залишаються мінімально мовними, тобто майже не використовують функціональної мови. Також для аутизму характерні труднощі із символічною (уявною) грою – дошкільнята з РАС часто мають виражені дефіцити у грі, особливо символічній. Ранні втручання при РАС здебільшого базуються на поведінкових і розвивальних методах (прикладний аналіз поведінки, логопедія тощо) з метою покращення комунікації та адаптивності [2]. Натомість психоаналітична терапія при аутизмі застосовується рідко і лишається предметом дискусій: клінічні настанови зазвичай не рекомендують аналітичні підходи через недостатню доказову базу. Однак деякі сучасні автори вважають, що аутизм відображає глибокі порушення раннього психічного розвитку – зокрема, зрив процесу формування символізації чи «дзеркальної стадії» – і що аналітичні методи можуть коригувати ці базові порушення [3].

З огляду на складність емоційного світу дітей з аутизмом, все частіше підкреслюється необхідність врахування афективних та міжособистісних аспектів у їх лікуванні [4]. Хоча поведінкові терапії домінують у дослідженнях, визнається, що аутизм супроводжується викликами в емоційному розвитку – зокрема, порушенням здатності до емпатії, ідентифікації та інтерсуб'єктивності [5]. Відповідно, постає питання: як психотерапевтам працювати в умовах, коли звичні емоційні канали взаємодії обмежені? Сучасні теорії афекту та розвитку наголошують на первинній ролі тілесно-емоційної взаємодії в стосунку дитина–терапевт. Такі поняття як «афективна налаштованість» або «кінестетична емпатія» описують невербальне співналаштування на емоційний стан дитини через тілесні сигнали [6]. Це перегукується з положеннями теорії прив'язаності: доведено, що чимало дітей з аутизмом здатні сформувати безпечну прив'язаність до батьків, хоча для цього потрібна особливо чуйна, «інсайтна» взаємодія з боку дорослого [7, 8]. Отже, попри нетиповість комунікації, діти з РАС мають емоційні потреби у контакті та розумінні, які можуть бути адресовані через відносини. Ці наукові дані створюють обґрунтування для психоаналітичного підходу до аутизму, що фокусується на встановленні стосунків, спільному переживанні та поступовому введенні символічних форм вираження.

Психоаналітичний підхід до лікування аутизму історично наштовхувався на скепсис, частково через

INTRODUCTION

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by persistent deficits in social communication and repetitive stereotyped patterns of behavior [1]. Approximately 25–33% of children with ASD remain minimally verbal, that is, they use little to no functional language. Difficulties with symbolic (pretend) play are also characteristic of autism – preschool children with ASD often exhibit pronounced deficits in play, particularly in symbolic play. Early interventions for ASD are primarily based on behavioral and developmental approaches (applied behavior analysis, speech therapy, etc.) aimed at improving communication and adaptive functioning [2]. In contrast, psychoanalytic therapy for autism is rarely used and remains a subject of debate: clinical guidelines generally do not recommend analytical approaches due to insufficient evidence. However, some contemporary authors consider that autism reflects profound disturbances in early mental development. In particular, a disruption of the process of symbolization or the «mirror stage» and that analytical methods may correct these fundamental impairments [3].

Given the complexity of the emotional world of children with autism, there is an increasing emphasis on the need to consider affective and interpersonal aspects in their treatment [4]. Although behavioral therapies dominate research, it is recognized that autism is accompanied by challenges in emotional development – in particular, impairments in the capacity for empathy, identification, and intersubjectivity [5]. Accordingly, the question arises: how can psychotherapists work in contexts where conventional emotional channels of interaction are limited? Contemporary theories of affect and development emphasize the primary role of bodily-emotional interaction in the child–therapist relationship. Concepts such as «affective attunement» or «kinesthetic empathy» describe nonverbal synchronization with the child's emotional state through bodily cues [6]. This aligns with the principles of attachment theory: it has been shown that many children with autism are capable of forming a secure attachment to their parents, although this requires particularly sensitive, «insightful» interaction on the part of the adult [7, 8]. Thus, despite atypical communication, children with ASD have emotional needs for contact and understanding, which can be addressed through relationships. These scientific findings provide a rationale for the psychoanalytic approach to autism, focusing on establishing a relationship, shared experience, and the gradual introduction of symbolic forms of expression.

The psychoanalytic approach to the treatment of autism has historically encountered skepticism, partly

сумнозвісну гіпотезу «матері-холодильника» та брак емпіричних доказів ефективності. Утім, нині розуміння РАС значно поглибилось, і акценти змістилися від пошуку винуватців до дослідження внутрішнього переживання дитини. Аутизм розглядається не тільки як нейробіологічний розлад, але і як особливий спосіб психічного функціонування, що може включати утечу у сенсорний світ та захисне відсторонення від міжособистісного контакту [9, 10]. Психопсихіки (Ф. Тастін, Д. Штерн, А. Альварес та ін.) описували, що діти з аутизмом часто живуть у «конкретному» світі відчуттів, майже не переходячи до символічного розуміння й уяви. Іншими словами, їхнє мислення надзвичайно конкретне, а здатність до символізації ніби паралізована сенсорними переживаннями [10]. З психопсихічної точки зору, такий стан можна трактувати як регресію чи фіксацію на ранніх стадіях розвитку, коли не сформовано базових психічних структур для опосередкування досвіду (образу себе, об'єктних відносин, символів).

Водночас, сучасна психотерапевтична практика шукає шляхи встановлення контакту з такими дітьми. Дослідження підтверджують, що **емоційна регуляція** є слабким місцем при РАС, що пов'язано з підвищеним рівнем тривоги та афективними спалахами у цих пацієнтів [11, 12].

Отже, терапевтичні підходи, націлені на поліпшення афективної взаємодії та невербальної комунікації, можуть бути особливо корисними. Зокрема, в межах психопсихічного було переглянуто традиційні техніки для роботи з дітьми з РАС. Сучасні аналітики описують необхідність **гнучкої адаптації сеттингу та техніки**: більше акценту на грі, рухові, ритмі; активніше використання **терапевтичного простору** як «утримуючого середовища» (holding environment) для безпечного вираження імпульсів і афектів. Особливо підкреслюється роль **перенесення** в роботі з аутичними дітьми: хоча класичне вербальне перенесення (як у дорослих) тут виражене слабо, афективне перенесення проявляється через тілесні ігри та ситуації близькості/дистанції з терапевтом. Франчес Тастін, досліджуючи аутистичних дітей, описала специфічну фантазію «**гнізда немовлят**», що виникає у таких пацієнтів в процесі терапії: дитина уявляє себе і терапевта як згуртовану групу «особливих малят, яких годують особливою їжею», намагаючись уникнути травматичного визнання окремоті [13, 14]. Ця фантазія є проявом інтенсивного регресивного перенесення, коли терапевтична кімната переживається як закритий простір злиття. Таким чином, психопсихічна теорія дає розуміння, що навіть у дітей, які не говорять, **перенесення і контрперенесення** можуть набувати непрямих форм – через гру, ритм, фізичний контакт або його відсутність. Усвідомлення цих процесів допомагає терапевту підтримувати контакт з дитиною, не відчувачи себе відкинутим чи безпорадним.

Враховуючи вищезазначене, обґрунтуванням даного випадку є потреба продемонструвати, як психопсихічний підхід, зорієнтований на встановлення надійного терапевтичного зв'язку, відображення емоцій дитини та поступове введення символічної гри, може подолати бар'єри невербальності. Цей випадок є унікальним тим, що показує можливість синтезу класичного психопсихічного

due to the infamous «refrigerator mother» hypothesis and the lack of empirical evidence of efficacy. However, the understanding of ASD has significantly deepened, and the focus has shifted from searching for culprits to investigating the child's internal experience. Autism is viewed not only as a neurobiological disorder but also as a particular mode of mental functioning, which may include withdrawal into a sensory world and protective detachment from interpersonal contact [9, 10]. Psychoanalysts (F. Tustin, D. Stern, A. Alvarez, et al.) have described that children with autism often live in a «concrete» world of sensations, rarely progressing to symbolic understanding and imagination [10]. In other words, their thinking is extremely concrete, and the capacity for symbolization appears to be paralyzed by sensory experiences [10]. From a psychoanalytic perspective, this state can be interpreted as a regression or fixation at early developmental stages, when the basic mental structures for mediating experience (self-image, object relations, symbols) have not yet been formed.

At the same time, contemporary psychotherapeutic practice seeks ways to establish contact with such children. Research confirms that **emotional regulation** is a vulnerability in ASD, associated with elevated anxiety and affective outbursts in these patients [11, 12].

Thus, therapeutic approaches aimed at improving affective interaction and nonverbal communication may be particularly beneficial. In particular, within psychoanalysis, traditional techniques have been revised for working with children with ASD. Contemporary analysts describe the need for **flexible adaptation of the setting and techniques**: greater emphasis on play, movement, and rhythm; more active use of the **therapeutic space** as a «holding environment» for the safe expression of impulses and affects. The role of **transference** in working with autistic children is particularly emphasized: although classical verbal transference (as in adults) is weakly expressed here, affective transference manifests through bodily play and proximity/distance situations with the therapist. Frances Tustin, in her studies of autistic children, described a specific «**baby nest**» fantasy that arises in such patients during therapy: the child imagines themselves and the therapist as a cohesive group of «special little ones being fed special food», attempting to avoid the traumatic recognition of separateness [13, 14]. This fantasy is a manifestation of intense regressive transference, when the therapeutic room is experienced as a closed space of fusion. Thus, psychoanalytic theory provides an understanding that even in nonverbal children, **transference and countertransference** can assume indirect forms – through play, rhythm, physical contact or its absence. Awareness of these processes helps the therapist maintain contact with the child, without feeling rejected or helpless.

Taking the above into account, the rationale for this case is the need to demonstrate how a psychoanalytic approach oriented toward establishing a reliable therapeutic relationship, reflecting the child's emotions, and the gradual introduction of symbolic play can overcome the barriers of nonverbalness. This case is unique in that it shows the possibility of synthesizing classical psychoanalysis with contemporary knowledge about autism (sensory integration, affective regulation)

з сучасними знаннями про аутизм (сенсорна інтеграція, афективна регуляція) без втрати суті аналітичного процесу. Він ілюструє, яким чином **функції терапевтичного простору** – стабільність рамок, чутливе середовище, роль терапевта як «дзеркала» і «контейнера» – сприяють розвитку дитини з РАС.

Мета роботи – проілюструвати та проаналізувати клінічний випадок, в якому застосовано оригінальний психоаналітичний підхід до невербальної дитини з аутизмом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Випадок оформлено відповідно до CARE Guidelines для клінічних випадків. Усі дані пацієнта знеособлені: використано вигадане ім'я («Ноа»), змінено другорядні деталі для забезпечення конфіденційності. Випадок базується на реальному клінічному досвіді автора, але без будь-яких ідентифікаційних даних. Представлена терапія інтегрує класичні психоаналітичні концепції (віддзеркалення self-образу, перехідний об'єкт Віннікотта, дзеркальна стадія та входження в Symbolic Order за Лаканом) з практичними ігровими техніками, адаптованими до особливих потреб дитини з РАС [15]. Нижче наведено опис випадку, хід втручання, отримані результати та обговорення в контексті сучасних психоаналітичних поглядів на аутизм (афект, прив'язаність, перенесення, символізація та роль терапевтичного простору).

ОПИС КЛІНІЧНОГО ВИПАДКУ

Пацієнт. Хлопчик Ноа, 4 роки 6 місяців, з діагнозом «розлад аутистичного спектра, тяжкий; невербальний». Діагноз було встановлено дитячим психіатром відповідно до критеріїв DSM-5 [1] (стійкі порушення соціальної взаємодії та відсутність мовлення, повторювані поведінкові акти). На момент початку терапії (вік 4,5 роки) у Ноа практично не було мовлення – батьки відзначали лише близько десяти неформальних звуків чи жестів, якими він користувався для вираження потреб. Наприклад, замість слів він міг сказати «мм», коли не хотів чогось. Спільна увага була відсутня – дитина не реагувала на вказівки поглядом, не показувала предмети дорослим. Зоровий контакт був рідкісним і коротким: переважно Ноа відводив погляд або фіксувався на об'єктах (наприклад, на кружлянні коліс іграшкової машинки). У поведінці домінували стереотипні дії: хлопчик годинами міг стукати двома кубиками один об одного чи вишикувати іграшки в рядок. Будь-які зміни у звичному розпорядку викликали тривогу і протест – Ноа легко впадав у істеріку при порушенні рутини або новизні в оточенні. Сенсорні особливості – хлопчик був дуже чутливий до звуків (закривав вуха при гучних або різких шумах), водночас шукав тактильних відчуттів (наприклад, любив притискати м'які іграшки до обличчя). Відомостей про генетичні чи неврологічні порушення не було: вагітність і пологи у матері без ускладнень, розвиток слуху/зору – в нормі (на звук ім'я реагував поворотом голови). До звернення на психотерапію Ноа відвідував заняття з логопедом та ерготерапевтом, однак значного прогресу не відзначалося – мовлення так і не з'явилося, соціальні навички залишалися на примітивному рівні.

without losing the essence of the analytic process. It illustrates how the functions of the therapeutic space – stability of the frame, a sensitive environment, the role of the therapist as a «mirror» and a «container» – contribute to the development of a child with ASD.

Objective – is to illustrate and analyze a clinical case in which an original psychoanalytic approach was applied to a nonverbal child with autism.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The case is presented in accordance with the CARE Guidelines for clinical case reports. All patient data are anonymized: a fictitious name («Noah») is used, and secondary details are modified to ensure confidentiality. The case is based on the author's real clinical experience, but without any identifying data. The presented therapy integrates classical psychoanalytic concepts (mirroring of the self-image, Winnicott's transitional object, the mirror stage and entry into the Symbolic Order according to Lacan) with practical play techniques adapted to the specific needs of a child with ASD [15]. Below is a description of the case, the course of the intervention, the obtained results, and a discussion in the context of contemporary psychoanalytic views on autism (affect, attachment, transference, symbolization, and the role of the therapeutic space).

CASE DESCRIPTION

Patient. Noah, a 4-year-6-month-old boy, diagnosed with «severe autism spectrum disorder; nonverbal». The diagnosis was established by a child psychiatrist according to DSM-5 criteria [1] (persistent deficits in social interaction and absence of speech, repetitive behavioral acts). At the start of therapy (age 4.5 years), Noah had practically no verbal communication. The parents reported only about ten informal sounds or gestures that he used to express needs. For example, instead of words, he might say «mm» when he did not want something. Joint attention was absent. He did not respond to cues with gaze and did not show objects to adults. Eye contact was rare and brief. Noah mostly averted his gaze or focused on objects (e.g., the spinning wheels of a toy car). His behavior was dominated by stereotyped actions. The boy could spend hours banging two blocks together or lining up toys. Any changes in the usual routine caused anxiety and protest. Noah would easily have a tantrum when the routine was disrupted or when encountering novelty in the environment. Sensory features included hypersensitivity to sounds (covering his ears in response to loud or sharp noises) while simultaneously seeking tactile sensations (for example, he liked pressing soft toys against his face). There was no history of genetic or neurological disorders. The mother's pregnancy and delivery were uncomplicated, and hearing and vision development were normal (he turned his head in response to his name). Prior to starting psychotherapy, Noah attended sessions with a speech therapist and an occupational therapist, but no significant progress was observed. Speech had not emerged, and social skills remained at a primitive level.

Формулювання випадку. З психодинамічної перспективи поведінка Ноа свідчила про переважання примітивних процесів. Відсутність мовлення і символічної гри вказувала на недорозвиненість функції символізації; хлопчик ніби застряг на стадії безпосереднього чуттєвого досвіду, не переводячи його у думки чи уявні образи. Спілкування носило характер «дзеркальний» – дитина реагувала лише на дуже прості, віддзеркалюючі дії (передача предмета, повторення рухів), що наводить на думку про несформованість базового образу себе у взаємодії з іншим. Інакше кажучи, Ноа не усвідомлював себе окремим суб'єктом у стосунку – **відображення Я-образу** через іншу людину не відбулося. Ці спостереження наштовхнули терапевта на гіпотезу про те, що у розвитку Ноа був порушений процес, який Лакан називає дзеркальною стадією, коли дитина впізнає своє відображення та інтегрує цілісний образ себе. Випадок Ноа міг уособлювати ситуацію «незавершеного» дзеркального етапу – відсутність зв'язного Я, яке б відображалося через образ іншого. Таким чином, лікувальна стратегія будувалася на тому, щоб надати дитині досвід «живого дзеркала» в особі терапевта і поступово провести її від сенсомоторного рівня до рівня символів.

Втручання. Ноа почав відвідувати індивідуальні терапевтичні сесії тривалістю 45 хвилин один раз на тиждень. Терапія проводилася у спеціально обладнаній ігровій кімнаті з приглушеним освітленням та мінімумом іграшок (щоб уникнути сенсорного перенавантаження). Протягом усього курсу (12 місяців) терапевт дотримувався чіткої структури сесингу: сесії починалися і закінчувалися в один і той самий час, у кімнаті була стала розстановка предметів, мати перебувала за дверима. Така послідовність створювала передбачуваний **терапевтичний простір**, що слугував для дитини «острівцем стабільності» і сприяв формуванню базової довіри.

Основні компоненти втручання:

1. Віддзеркалення. На початковому етапі головним завданням було встановити контакт із дитиною, не викликаючи у неї тривоги. Терапевт обрав стратегію максимального віддзеркалення емоцій і поведінки Ноа. Це означало, що терапевт уважно слідував за жестами, позою, звуками хлопчика і м'яко їх повторював або відтворював. Наприклад, якщо Ноа розгойдувався вперед-назад або гойдав ногою, терапевт ненав'язливо сідав поруч і починав гойдатися в такт. Коли хлопчик притискав до щок м'яку іграшку, терапевт брав іншу подібну іграшку і віддзеркалював цю дію – притискав до свого обличчя, злегка всміхаючись, тобто відображав емоційний тон моменту. Навіть вокалізації дитини (гули, бурмотіння, писк) терапевт повторював тихим голосом, підлаштовуючись під тональність і ритм. Метою такого віддзеркалення було передати Ноа відчуття прийняття і розуміння, ніби сказати без слів: «Я бачу тебе, я налаштований на твій стан». У термінах психології розвитку, ця техніка схожа на емпатичне «**афективне налаштування**» матері на немовля. Вона також співзвучна поняттю дзеркального відображення у психоаналізі: Хайнц Кохут описував, що дитина потребує, аби її емоції «віддзеркалювалися» значущою фігурою, що дає відчуття стійкого Я. Терапевт, віддзеркалюючи Ноа, по суті виконував роль такого емпатичного дзеркала, підтверджуючи

Case Formulation. From a psychodynamic perspective, Noah's behavior indicated the predominance of primitive processes. The absence of speech and symbolic play suggested underdevelopment of the symbolization function; the boy appeared to be stuck at the stage of immediate sensory experience, without transforming it into thoughts or mental images. Communication was «mirrored» in nature – he responded only to very simple, mirroring actions (passing an object, repeating movements), suggesting an underdeveloped basic self-image in interaction with another. In other words, Noah did not perceive himself as a separate subject in relation to others – **the mirroring of the self-image** through another person did not occur. These observations led the therapist to hypothesize that Noah's development involved a disruption in the process Lacan calls the mirror stage, when a child recognizes their reflection and integrates a coherent self-image. Noah's case could represent a situation of an «unfinished» mirror stage – an absence of a coherent self that would be reflected through the image of another. Accordingly, the therapeutic strategy was based on providing the child with the experience of a **«living mirror»** in the person of the therapist and gradually guiding him from the sensorimotor level to the level of symbols.

Intervention. Noah began attending individual therapeutic sessions lasting 45 minutes once a week. Therapy was conducted in a specially equipped playroom with dim lighting and a minimal number of toys to avoid sensory overload. Throughout the 12-month course, the therapist adhered to a consistent session structure. Sessions started and ended at the same time, the room had a fixed arrangement of objects, and the mother remained outside the door. This consistency created a predictable **therapeutic space**, serving as an «island of stability» for the child and promoting the development of basic trust.

Key components of the intervention:

1. Mirroring. At the initial stage, the primary task was to establish contact with the child without causing anxiety. The therapist employed a strategy of maximal mirroring of Noah's emotions and behavior. This involved attentively observing the boy's gestures, posture, and sounds and gently repeating or reproducing them. For example, if Noah rocked back and forth or swung his leg, the therapist unobtrusively sat nearby and began rocking in synchrony. When the boy pressed a soft toy to his cheek, the therapist took a similar toy and mirrored the action, pressing it to his own face while slightly smiling, thereby reflecting the emotional tone of the moment. Even the child's vocalizations (cooing, murmuring, squeaking) were quietly repeated by the therapist, matching their tone and rhythm. The aim of this mirroring was to convey to Noah a sense of acceptance and understanding, as if to say without words: «I see you, I am attuned to your state». In developmental psychology terms, this technique resembles the empathic «**affective attunement**» of a mother to her infant. This is also consistent with the concept of mirroring in psychoanalysis. Heinz Kohut described that a child needs their emotions to be «mirrored» by a significant figure, providing a sense of a stable self. By mirroring Noah, the therapist essentially acted as such an empathic mirror, confirming the existence of the child's experiences.

існування переживань дитини. Важливо, що віддзеркалення застосовувалося обережно: спершу терапевт повністю повторював дію Ноа, а потім міг на мить призупинитися або змінити її інтенсивність, спонукаючи дитину помітити присутність іншого. Наприклад, коли Ноа легенько бив по барабану, терапевт ставив руку на інший барабан і бив у тому ж темпі; опісля робив паузу і чекав. Якщо Ноа відновлював гру, терапевт знову підхоплював ритм – таким чином встановлювався перший протодіалог (чергування дій).

2. Розширення. Після того, як протягом перших місяців вдалося досягти базового прийняття і зниження тривожності (Ноа поступово звик до присутності терапевта і вже не тікав поглядом постійно), наступним кроком стало розширення спонтанних дій дитини. Сутність техніки **розширення** – додавання до ініціативи дитини невеликого нового елемента, щоб урізноманітнити гру і непомітно ввести новий зміст. Терапевт ретельно стежив, щоб не випереджати дитину надто складними завданнями; кожне нововведення мало бути лише трохи «попереду» поточного рівня Ноа. Наприклад, якщо хлопчик вишикував три кубики в ряд, терапевт брав четвертий кубик і тихенько додавав до ряду, коментуючи простим словом: «ще». Або, коли Ноа видавав односкладовий гул, терапевт підхоплював і мелодійно протягував цей звук трохи довше чи вище – ніби перетворював його на коротку пісеньку. Якщо під час гри з машинкою Ноа штовхав її по колу, терапевт ставив поруч іншу машинку і теж котив, промовляючи: «бі-бі, поїхали!» – цим вводився простий словесний маркер дії. Важливо, що такі розширення ніколи не були нав'язливими: терапевт додавав лише один-два елементи і спостерігав за реакцією. Якщо Ноа приймав нововведення (наприклад, помічав четвертий кубик і теж починав його рухати, чи слухав звук «бі-бі»), терапевт тихо підкріплював це усмішкою або кивав головою. Якщо ж дитина ігнорувала або відверталася – терапевт повертався до простого віддзеркалення, не наполягаючи. Метою розширення було поступово вивести Ноа за межі його замкнених стереотипів, показати, що взаємодія з іншим може приносити нові цікавинки і задоволення. Через такі крихітні кроки вводилися перші поняття: назви предметів («м'яч», «машина»), дії («йде», «стоп»), прості запитання («де м'яч?»). Все це було органічно вплетено в гру, без прямих вимог до дитини. Терапевт став для Ноа співучасником гри, який трохи ускладнює сценарій, але лишається передбачуваним і підтримуючим.

3. Символізація. Після приблизно півроку терапії (умовно на етапі місяців 7–9) стало можливим перейти до цілеспрямованого розвитку **символічної гри**. Ноа вже дозволяв терапевту знаходитися поруч і брати участь у його грі, інколи навіть шукав поглядом реакції терапевта. Це був сигнал, що можна обережно знайомити його з грою «ніби-як» – тобто навчати використовувати один предмет чи дію як представник іншого (основа символізації). Терапевт підбирав дуже прості сюжетно-рольові сценарії, близькі дитині на досенсорному рівні: **годування, вкладання спати, одягання** тощо. У грі з'явилися ляльки та м'які іграшки як потенційні «дійові особи». Наприклад, терапевт садив поруч невеличку ляльку і взяв іграшкову ложку та тарілочку: починав грайливо годувати ляльку,

Importantly, mirroring was applied cautiously. Initially, the therapist fully replicated Noah's action, then could pause briefly or alter its intensity, encouraging the child to notice the presence of another. For example, when Noah lightly struck a drum, the therapist placed a hand on another drum and struck it at the same tempo; afterwards, the therapist paused and waited. If Noah resumed playing, the therapist rejoined the rhythm, thereby establishing the first protodialogue (alternation of actions).

2. Expansion. After achieving basic acceptance and reduced anxiety during the first months (Noah gradually became accustomed to the therapist's presence and no longer constantly averted his gaze), the next step was to expand the child's spontaneous actions. The essence of the **expansion** technique involves adding a small new element to the child's initiative to diversify the play and subtly introduce new content. The therapist carefully ensured not to present tasks that were too advanced; each novelty was only slightly «ahead» of Noah's current level. For example, if the boy lined up three blocks, the therapist quietly added a fourth block to the row, commenting with a simple word: «more». Alternatively, when Noah produced a monosyllabic coo, the therapist picked it up and melodically prolonged the sound slightly longer or higher, as if transforming it into a short song. If, during play with a toy car, Noah pushed it in a circle, the therapist placed another car nearby and also rolled it, saying: «beep-beep, let's go!» – thereby introducing a simple verbal marker of the action. Importantly, such expansions were never intrusive: the therapist added only one or two elements and observed the child's reaction. If Noah accepted the novelty (for example, noticing the fourth block and also beginning to move it, or attending to the «beep-beep» sound), the therapist quietly reinforced it with a smile or a nod. If the child ignored or turned away, the therapist returned to simple mirroring without insisting. The goal of expansion was to gradually lead Noah beyond his restricted stereotypies, showing that interaction with another can bring new curiosities and enjoyment. Through these tiny steps, the first concepts were introduced: names of objects («ball», «car»), actions («go», «stop»), simple questions («where is the ball?»). All of this was organically integrated into play, without direct demands on the child. The therapist became a co-participant in Noah's play, slightly increasing the complexity of the scenario while remaining predictable and supportive.

3. Symbolization. After approximately six months of therapy (roughly months 7–9), it became possible to move toward the purposeful development of **symbolic play**. Noah now allowed the therapist to be nearby and participate in his play, sometimes even seeking the therapist's reaction with his gaze. This signaled that he could be cautiously introduced to «as-if» play – learning to use one object or action as a representation of another (the basis of symbolization). The therapist selected very simple role-play scenarios close to the child's sensorimotor level: **feeding, putting to bed, dressing**, and so on. Dolls and soft toys appeared in the play as potential «agents». For example, the therapist placed a small doll nearby and took a toy spoon and plate, playfully feeding the doll while saying, «yum-yum, the bear is eating soup», and making feeding

примовляючи: «Ам-ам, ведмедик їсть суп» і роблячи жести годування. Спочатку Ноа лише спостерігав за цією сценою, не втручаючись. Терапевт повторив такі дії кілька разів у різні сесії, не тиснувши на дитину – головне, щоб Ноа звик, що *в грі предмети можуть «перетворюватись»*. Згодом хлопчик почав виявляти цікавість: одного разу, коли терапевт сказав: «Нагодуємо зайчика?» і простяг йому іграшкову морквинку, Ноа взяв морквинку і торкнувся нею рота зайчика. Ця маленька дія була величезним кроком – вперше дитина **самостійно відтворила символічний жест**. Терапевт негайно м'яко похвалив його («так, зайчик їсть») і повторив цей жест разом із Ноа, підкріплюючи нову навичку. Поступово таких елементів ставало більше: Ноа, побачивши, як терапевт «спить», поклавши ляльку на подушку, міг підійти і теж накрити ляльку ковдрою; або міг використати кубик як уявний телефон, приклавши до вуха і пробурмотівши щось на зразок «а-ал». Терапевт дуже дбайливо ставився до кожного такого прояву – активно підтримував його емоційно (усміхався, кивав, радів разом з дитиною) і тут же зміцнював у грі. Таким чином, до кінця терапії Ноа фактично опанував базові навички символічної гри: став використовувати предмети не лише за їх утилітарним призначенням, а й як заміники (кубик як ложка чи телефон, паличка як зубна щітка тощо). Це означало перехід з рівня «дія заради дії» на рівень уявних значень – те, чого йому бракувало на старті.

4. Сенсорна підтримка: Паралельно з основними техніками, терапевт постійно враховував сенсорні особливості дитини. Зважаючи на гіперчутливість Ноа до звуків, у кімнаті було тихо, зайві шуми усувалися. Яскраве світло не використовувалося – лише м'яке розсіяне освітлення. Якщо хлопчик починав тривожитися або буджуватися, терапевт застосовував **тілесно-сенсорні засоби заспокоєння**: пропонував йому м'який м'ячик для стискання, або накривав ноги важкою подушкою (імпрізована «обтяжена ковдра»), міг покачати дитину на колінах чи в кріслі-гойдалці. Ці втручання запозичені з практики сенсорної інтеграції та ерготерапії, проте вони не розглядалися як окреме лікування, а були *інтегровані в аналітичний процес*. Тобто терапевт використовував їх, аби **забезпечити оптимальний рівень збудження** для продуктивної гри: не допустити ні надмірної тривоги, ні надмірного «відключення». Наприклад, помітивши, що на початку сесії Ноа нервує (біжить по кімнаті, жмакає пальці), терапевт міг увімкнути тиху колискову мелодію або м'яко взяти його за руки і трохи погойдатися, дихаючи повільно – таким чином задавався заспокійливий ритм. Коли ж, навпаки, дитина «зависала» в монотонній дії і виглядала відстороненою, терапевт вводив легкий стимул – наприклад, пропонував побігати разом, скочити на великий м'яч, зробити вправу «потягнемось до стелі» – аби повернути Ноа до контакту з тілом і кімнатою. Цей гнучкий підхід відображав концепцію парабіозу, яку терапевт узяв на озброєння для розуміння парадоксальної чутливості Ноа. **Парабіоз** (за Миколою Введенським) [17] – це явище, коли надмірна стимуляція нервової системи призводить до її парадоксального гальмування. Терапевт припустив, що нервова система Ноа могла «вимикатися» від звичайних стимулів через перенасичення, і тому інколи

gestures. At first, Noah only observed this scene without intervening. The therapist repeated these actions several times across different sessions, without pressuring the child – the main goal was for Noah to become accustomed to the idea that *objects in play could «transform»*. Gradually, the boy began to show interest: on one occasion, when the therapist said, «Shall we feed the bunny?» and offered him a toy carrot, Noah took the carrot and touched it to the bunny's mouth. This small action represented a significant step – the first time the **child independently performed a symbolic gesture**. The therapist immediately and gently praised him («Yes, the bunny is eating») and repeated the gesture together with Noah, reinforcing the new skill. Gradually, such elements increased: seeing the therapist «sleep» by placing a doll on a pillow, Noah could approach and also cover the doll with a blanket; or he might use a block as an imaginary telephone, holding it to his ear and murmuring something like «a-al». The therapist treated each such manifestation with great care, actively supporting him emotionally (smiling, nodding, sharing in the child's joy) and immediately reinforcing it in play. Thus, by the end of therapy, Noah had effectively mastered basic symbolic play skills: he began to use objects not only for their utilitarian purpose but also as substitutes (a block as a spoon or telephone, a stick as a toothbrush, etc.). This represented a transition from the level of «action for the sake of action» to the level of imagined meaning – what he had lacked at the outset.

4. Sensory Support. In parallel with the main techniques, the therapist consistently took the child's sensory characteristics into account. Considering Noah's hypersensitivity to sounds, the room was kept quiet and extraneous noises were eliminated. Bright light was avoided, using only soft, diffused lighting. If the boy became anxious or agitated, the therapist applied **body-sensory calming strategies**: offering him a soft ball to squeeze, covering his legs with a weighted pillow (an improvised «weighted blanket»), or rocking him on the lap or in a rocking chair. These interventions were borrowed from sensory integration and occupational therapy practices; however, they were not considered a separate treatment but were *integrated into the analytic process*. The therapist used them to **ensure an optimal level of arousal** for productive play: preventing both excessive anxiety and excessive «shutdown.» For example, noticing that Noah was anxious at the beginning of a session (running around the room, wringing his fingers), the therapist might play a quiet lullaby or gently take his hands and rock slightly while breathing slowly, thereby establishing a calming rhythm. Conversely, when the child appeared «stuck» in a monotonous activity and seemed disengaged, the therapist introduced a light stimulus – for example, inviting him to run together, bounce on a large ball, or do a «reach for the ceiling» exercise – to reconnect Noah with his body and the room. This flexible approach reflected the concept of parabiotic response, which the therapist adopted to understand Noah's paradoxical sensitivity. **Parabiotic response** (according to Mykola Vvedensky) [17] refers to a phenomenon in which excessive stimulation of the nervous system leads to its paradoxical inhibition. The therapist hypothesized that Noah's nervous system could «shut down» in response to ordinary stimuli due to overstimulation, and therefore,

дитині, щоб відчути сигнал, потрібен був якраз сильніший або незвичний стимул (наприклад, міцне обіймання замість легкого дотику). Застосовуючи цю ідею, терапевт пояснював батькам і собі самому реакції хлопчика не як «упертість», а як особливість нейросенсорної обробки – що вимагало нестандартних підходів. У підсумку тактика сенсорної підтримки виправдала себе: Ноа жодного разу не мав важкого сенсорного зриву під час сесій; терапевт завжди вчасно помічав ознаки перенапруження і втручався через рух, дотик або зміну активності, щоб відновити комфорт.

РЕЗУЛЬТАТИ

Динаміка протягом року: Вже на 3–4-му місяці терапії в поведінці Ноа відбулися перші позитивні зрушення. Хлопчик перестав постійно сидіти на колінах у матері на початку заняття – почав заходити в кімнату, тримаючись за руку терапевта, і навіть проявляти зацікавленість у певних іграшках. Поступово встановився ритуал: Ноа брав свій улюблений м'яч і сідав навпроти терапевта, очікуючи на гру в перекочування. Це можна трактувати як зародження **терапевтичного альянсу** – нехай невербально, але дитина показувала, що *довіряє терапевту і готова до спільної гри*.

Через півроку (6-й місяць) у Ноа з'явилися перші нові звуки, які нагадували склади слів. Наприклад, граючись з м'ячем, хлопчик раптом сказав «ба», дивлячись на нього – ймовірно, намагаючись вимовити «ball/м'яч». Терапевт одразу підхопив: «Так, м'яч!» – і Ноа повторив «ба» знову, усміхнувшись. Цей епізод став поворотним: після нього Ноа дедалі частіше використовував окремі склади, які виконували роль слів. До 9–10-го місяця терапії у його активному «лексиконі» були звуки на кшталт «ма» (ймовірно «мама»), «ба» (м'яч/ball), «ка» (машина/car), «ням» (їсти) тощо. Хоча це ще не була мова у повному розумінні, сам факт **набуття вокалізації з комунікативним наміром** був величезним прогресом для дитини, яка півжиття мовчала. Паралельно розширився діапазон жестів: Ноа почав вказувати пальцем на бажані предмети (раніше він лише тягнув руку дорослого до об'єкта), навчився кивати «так» і мотати головою «ні» у відповідь на прості запитання.

На заключному етапі (місяці 10–12) спостерігалися найбільш разючі зміни у грі та взаємодії. Ноа вже активно брав участь у символічних іграх, ініційованих терапевтом, і навіть сам пропонував прості сюжети. Так, одного разу він з власної ініціативи взяв ляльку і почав «годувати» її іграшковою ложкою, примовляючи свій звук «ням» – фактично повністю відтворив сценарій, якому навчав терапевт. В інший день терапевт побачив, як Ноа поставив у ряд своїх улюблених іграшкових звірят і став їх погладжувати по голові, щось тихо мугикаючи; це виглядало як гра «в родину», де кожній тваринці він приділяв увагу. Такі дії свідчили про зародження **уяви та емпатії**: дитина почала переїмати на себе роль опікуна щодо іграшкових персонажів. Окрім цього, стосунок з терапевтом явно потеплішав: Ноа часто усміхався під час гри, іноді сам тягнувся доторкнутися до руки чи обличчя терапевта (раніше уникав дотиків), міг сісти ближче. Він став **шукати емоційної взаємодії** – наприклад, під час гри

at times, the child required a stronger or unusual stimulus to perceive a signal (for example, a firm hug instead of a light touch). Applying this idea, the therapist interpreted the boy's reactions to himself and the parents not as «stubbornness» but as a feature of neuro-sensory processing, necessitating unconventional approaches. Ultimately, the sensory support strategy proved effective: Noah never experienced a severe sensory meltdown during sessions; the therapist consistently detected signs of overstimulation and intervened through movement, touch, or a change of activity to restore comfort.

RESULTS

Course over the Year. By the 3rd–4th month of therapy, the first positive changes were observed in Noah's behavior. The boy stopped constantly sitting on his mother's lap at the beginning of the session – he began entering the room holding the therapist's hand and even showed interest in certain toys. Gradually, a ritual was established: Noah took his favorite ball and sat opposite the therapist, waiting for a rolling game. This can be interpreted as the emergence of a **therapeutic alliance** – albeit nonverbally, the child demonstrated *trust in the therapist and readiness for joint play*.

After six months (the 6th month), Noah produced his first new sounds resembling syllables of words. For example, while playing with a ball, he suddenly said «ba» while looking at it – likely attempting to pronounce «ball». The therapist immediately responded, «Yes, ball!» and Noah repeated «ba», smiling. This episode was a turning point: thereafter, Noah increasingly used isolated syllables functioning as words. By the 9th–10th month of therapy, his active «lexicon» included sounds such as «ma» (likely «mama»), «ba» (ball), «ka» (car), «nyam» (eat), and others. Although this was not yet fully developed speech, the **acquisition of vocalization with communicative intent** represented a significant progress for a child who had been nonverbal for half his life. In parallel, the range of gestures expanded: Noah began pointing to desired objects with his finger (previously he only guided an adult's hand toward an object) and learned to nod «yes» and shake his head «no» in response to simple questions. At the final stage (months 10–12), the most striking changes in play and interaction were observed. Noah actively participated in symbolic games initiated by the therapist and even independently proposed simple scenarios. For example, on one occasion, he spontaneously took a doll and began «feeding» it with a toy spoon, vocalizing his «nyam» sound – effectively reproducing the scenario previously modeled by the therapist. On another day, the therapist observed Noah lining up his favorite toy animals and gently stroking their heads while quietly humming; this resembled a «family» game in which he attended to each animal. These actions indicated the emergence of **imagination and empathy**: the child began assuming the role of a caretaker toward the toy characters. In addition, his relationship with the therapist clearly warmed: Noah frequently smiled during play, sometimes reached out to touch the therapist's hand or face (previously he avoided contact), and could sit closer. He began **seeking emotional interaction** – for example, during peek-a-boo play, he would peek out from behind the fabric and laugh, awaiting the therapist's

в хованки (ку-ку) сам виглядав з-за тканини і сміявся, чекаючи реакції терапевта. Батьки повідомили, що вдома син теж почав трохи більше взаємодіяти: інколи приносив книжку, щоб мама погортала з ним, або тягнув тата за руку до холодильника, показуючи що хоче їсти (раніше просто плакав біля холодильника). З їхніх слів, Ноа вперше відгукнувся на своє ім'я – не завжди, але коли мати кликала його, він іноді обертався і дивився їй в очі. Це могло свідчити про формування зв'язку між словом і собою – тобто про крок до усвідомлення власного імені і суб'єктності.

Варто підкреслити, що зміни у Ноа носили не лише поведінковий характер, а й внутрішньо-психічний (якісно новий рівень функціонування). Якщо на початку терапії його світ був обмежений сенсорними відчуттями і рутинними діями, то наприкінці ми бачимо появу **елементів символічного мислення**. У термінах Лакана, Ноа почав входити в Символічний порядок – приймати й використовувати знаки, дані Іншим. Замість «жити в Реальному» (світі сирих відчуттів) хлопчик поступово освоював світ знаків і значень. Це проявилось в тому, що він почав розуміти прості слова і реагувати на них, сам вимовляти звуки-слова, грати у рольові ігри. Фактично **місток між дією і символом було збудовано**. При цьому ніяких негативних наслідків терапії не спостерігалось: жодних регресій чи нових проблем поведінки за час спостереження не виникло. Навпаки, тривожність Ноа дещо зменшилась – наприклад, прощання після сесії минали спокійно, без плачу (раніше зміна діяльності викликала істеріку). Мати зазначила, що син став більш гнучким у побуті: легше переносить невеликі зміни (одяг, маршрут прогулянки), особливо якщо йому про це сказати заздалегідь (ми навчали її вводити словесні попередження, як робив терапевт на сесіях: «ще раз – і все», «підємо додому, бувай» тощо). Таким чином, до кінця річного курсу терапії вдалося досягти основної мети – зрушити розвиток дитини з мертвої точки, зламати її ізоляцію і показати їй шлях до спільного символічного простору.

У табл. 1 узагальнено ключові зміни в стані Ноа за доменами (комунікація, гра, соціальна взаємодія, емоційна регуляція) на початку і наприкінці терапії.

reaction. The parents reported that at home their son also began to interact more: sometimes bringing a book for his mother to look through with him, or pulling his father's hand toward the refrigerator to show that he wanted to eat (previously he would simply cry near the refrigerator). According to them, Noah responded to his name for the first time – not consistently, but occasionally, when his mother called him, he would turn and make eye contact. This may indicate the formation of a connection between the word and the self – that is, a step toward awareness of his own name and subjectivity.

It should be emphasized that the changes in Noah were not only behavioral but also intrapsychic, reflecting a qualitatively new level of functioning. Whereas at the beginning of therapy his world was limited to sensory experiences and routine actions, by the end we observe the emergence of **elements of symbolic thinking**. In Lacanian terms, Noah began to enter the Symbolic Order – accepting and using signs provided by the Other. Instead of «living in the Real» (a world of raw sensations), the boy gradually mastered a world of signs and meanings. This was manifested in his understanding of simple words and responding to them, independently producing sound-words, and engaging in role-play.

Effectively, a bridge between action and symbol was established. No negative consequences of therapy were observed: there were no regressions or new behavioral problems during the observation period. On the contrary, Noah's anxiety somewhat decreased – for example, farewells after sessions occurred calmly, without crying (previously, changes in activity would provoke tantrums). The mother reported that her son had become more flexible in daily life: he tolerated minor changes (clothing, walking routes) more easily, especially when informed in advance (we trained her to provide verbal cues as the therapist did during sessions: «one more time – and that's it», «let's go home, goodbye», etc). Thus, by the end of the one-year therapy course, the primary goal was achieved – to move the child's development forward from a standstill, break through his isolation, and show him a pathway to a shared symbolic space.

Table 1 summarizes the key changes in Noah's condition across domains (communication, play, social interaction, emotional regulation) at the beginning and at the end of therapy.

Таблиця 1. Зміни в стані Ноа за ключовими доменами
Table 1. Changes in Noah's condition across key domains

Домен Domain	Початок терапії Beginning of Therapy	Кінець терапії End of Therapy
Комунікація Communication	Відсутність вербальної мови; жести епізодичні Absence of verbal language; gestures occasional	Використання окремих слів; покращена ініціація контакту Use of isolated words; improved initiation of contact
Гра Play	Стереотипна, ритуалізована Stereotyped, ritualized	З'явилася символічна гра; нові ігрові сценарії Emergence of symbolic play; new play scenarios
Соціальна взаємодія Social Interaction	Ігнорування однолітків, не шукає контакту Ignores peers, does not seek contact	Встановлює зоровий контакт; бере участь у спільних діях Establishes eye contact; participates in joint activities
Емоційна регуляція Emotional Regulation	Часті афективні спалахи; непередбачуваність емоцій Frequent affective outbursts; unpredictable emotions	Краще стримує імпульси; використовує стратегії самозаспокоєння Better impulse control; uses self-soothing strategies

ОБГОВОРЕННЯ

Представлений випадок демонструє низку важливих положень щодо психоаналітичної роботи з дітьми з аутизмом. По-перше, він підтверджує, що **ретельно модульована ігрова взаємодія** здатна поступово розвинути символічні здібності навіть у дитини з тяжкими комунікативними порушеннями. Ключовим фактором успіху в даному разі стала **терплячість і послідовність** терапевта. Перші місяці роботи були присвячені виключно встановленню контакту через мовчазне віддзеркалення – жодних спроб «вчити» чи змушувати говорити, поки Ноа не відчув себе безпечно. Лише спираючись на сформований базис довіри, терапевт почав вводити нові елементи (слова, сюжети) і отримав відповідь від дитини. Цей процес узгоджується із загальним психотерапевтичним принципом: **терапевтичний альянс є передумовою позитивних змін**. У роботі з невербальними пацієнтами альянс важче виміряти, але його можна оцінювати за непрямими ознаками – такими, як бажання дитини приходити на сесії, зоровий контакт, спільна увага. В даному випадку поступове зростання залученості Ноа до спільної гри вказувало на міцніючий зв'язок з терапевтом. У літературі відзначається, що **якісний терапевтичний стосунок** корелює з кращими результатами втручання, особливо в дитячій терапії, і наш випадок це підтверджує [16].

По-друге, дана терапія є новаторською за рахунок структурованого використання технік **«віддзеркалення – розширення – символізація»** для складання **«містка» до внутрішнього світу дитини**. Традиційний психоаналітичний підхід до дітей передбачає вільну гру і інтерпретацію несвідомих змістів. У роботі ж з аутичною дитиною довелося суттєво змінити техніку: терапевт був надзвичайно активним та залученим, він майже не давав інтерпретацій у словах, натомість **говорив мовою тіла і гри**. Це зближує методику з не директивною ігровою терапією, але не позбавляє її аналітичної основи. Фактично, ми спостерігали **гібрид психоаналізу та клієнт-центрованої ігрової терапії**, адаптований під потреби аутизму. Терапевт водночас слідував за дитиною (не нав'язував теми гри) і скеровував її (построху ускладнював гру, вводив символи). Такий гнучкий стиль довів свою ефективність: він дав Ноа можливість почуватися лідером взаємодії і водночас непомітно навчатися новому. Цей досвід може бути корисним іншим практикам, що працюють з подібними випадками: інколи **«позиція терплячого учасника»** дає кращий результат, ніж класична роль нейтрального аналітика чи авторитарного наставника.

По-третє, інтеграція інших підходів (сенсорної регуляції, елементів розвитку) **не завадила, а навпаки допомогла** аналітичному процесу. Деякі ортодоксальні аналітики могли б скептично поставитися до використання, скажімо, масажних м'ячиків чи музики під час аналітичної сесії. Проте наш випадок демонструє, що **відповідь на сенсорні потреби** дитини жодним чином не нівелює психоаналітичну роботу, а створює умови для її можливості. Коли Ноа був надміру збуджений, застосування гойдання або глибокого

DISCUSSION

The presented case highlights several important points regarding psychoanalytic work with children with autism. First, it confirms that **carefully modulated play interaction** can gradually develop symbolic abilities even in a child with severe communicative impairments. A key factor for success in this case was the therapist's **patience and consistency**. The initial months of work were dedicated exclusively to establishing contact through silent mirroring – no attempts were made to «teach» or force speech until Noah felt safe. Only building on this foundation of trust did the therapist begin to introduce new elements (words, scenarios) and receive responses from the child. This process aligns with the general psychotherapeutic principle that the **therapeutic alliance is a prerequisite for positive change**. In working with nonverbal patients, the therapeutic alliance is more difficult to measure, but it can be assessed through indirect indicators – such as the child's willingness to attend sessions, eye contact, and joint attention. In this case, the gradual increase in Noah's engagement in shared play indicated a strengthening connection with the therapist. The literature notes that a **high-quality therapeutic relationship** correlates with better intervention outcomes, particularly in child therapy, and this case supports that observation [16].

Second, this therapy is innovative due to the structured use of the **«mirroring–expansion–symbolization»** techniques to **construct a «bridge» to the child's inner world**. Traditional psychoanalytic approaches to children rely on free play and interpretation of unconscious content. In working with an autistic child, however, the technique had to be significantly adapted: the therapist was highly active and engaged, providing almost no verbal interpretations, instead communicating through the **language of the body and play**.

This brings the method closer to nondirective play therapy while retaining its analytic foundation. In effect, we observed a hybrid of psychoanalysis and client-centered play therapy, adapted to the needs of autism. The therapist simultaneously followed the child (not imposing play themes) and guided her (gradually increasing the complexity of play and introducing symbols). This flexible style proved effective: it allowed Noah to feel like the leader of the interaction while unobtrusively learning new skills. This experience may be valuable to other practitioners working with similar cases: sometimes the **«position of a patient participant»** yields better outcomes than the classical role of a neutral analyst or an authoritarian instructor.

Third, the integration of other approaches (sensory regulation, developmental elements) did **not hinder but rather supported** the analytic process. Some orthodox analysts might be skeptical of using, for example, massage balls or music during an analytic session. However, this case demonstrates that **responding to a child's sensory needs** in no way diminishes psychoanalytic work; instead, it creates conditions for its possibility. When Noah was overly aroused, the use of rocking or deep pressure functioned as a container for him, providing bodily calming where words were not

тиску виконувало для нього функцію *контейнера*, заспокоюючи тілесно там, де слова ще не діяли. Це, по суті, підтримувало аналітичну задачу – утримувати дитину в оптимальному діапазоні емоцій, не допускаючи ні травматичної перевантаженості, ні втечі в аутичну шкаралупу. Таким чином, **сенсорні втручання в нашому випадку стали частиною терапевтичного простору**: подушка, якою дитина обіймалася, або мелодія, яка грала фоном, були своєрідними «захисними об'єктами» для Ноа, що дозволяло йому почуватися безпечніше і глибше залучатися у гру. Практичний висновок тут такий: психоаналітикам, які працюють з РАС, варто знайомитися з основами нейронауки та сенсорної інтеграції і творчо впроваджувати ці знання – це може значно розширити можливості допомоги пацієнту.

По-четверте, слід обговорити феномени **перенесення і контрперенесення** у даному випадку. Як уже згадувалося, перенесення (тобто проєкція дитиною несвідомих почуттів на терапевта) відбувалося імпліцитно, через гру. Можна припустити, що коли Ноа почав довіряти терапевту і шукати його уваги, це і було проявом *позитивного перенесення* – терапевт несвідомо ототожнювався в його психіці з турботливим об'єктом (можливо, «хорошою материнською фігурою», яка реагує на потреби). Негативного перенесення (агресії на терапевта) майже не спостерігалося відкрито, хоча, імовірно, елементи його проявлялися у початковому ігноруванні та униканні з боку дитини. Терапевт відчував це як **контрпереносну** реакцію безпорадності і розчарування: в перші тижні було важко не сприймати мовчання Ноа як «відторгнення» власної особи. Автор відверто визнає, що робота з неговорячою дитиною викликала іноді сильну тривогу у самого терапевта – чи зможе він пробитися через цю стіну? Впоратися з цими почуттями допомагали дві речі: регулярне супервізування випадку та опора на саму техніку віддзеркалення. Кожного разу, коли терапевт відчував фрустрацію, він повертався до простого і чіткого завдання – *повторити дію дитини*, – що давало йому відчуття контролю і сенсу, знижувало тривогу. Як він згодом усвідомив, така тактика була корисною і для контрперенесення: **віддзеркалення служило «якорем» для самого терапевта**, допомагаючи йому не впасти у безпорадність. Відзначимо, що у професійній літературі описані схожі переживання: терапія аутичних дітей часто провокує у аналітика відчуття ізоляції, «німу стіну», які треба навчитись терпіти і розуміти. У свою чергу, поступове встановлення контакту з такою дитиною може приносити терапевту дуже сильне емоційне задоволення – відчуття «прориву». У випадку Ноа, коли хлопчик уперше заглянув терапевту в очі і посміхнувся, це мало величезний позитивний вплив і на терапевта, підсилюючи його емпатію та віру в дитину.

З теоретичної точки зору, випадок Ноа дає цікавий матеріал для роздумів про роль *дзеркальної стадії та символізації* у виникненні аутизму. Наш досвід підтримує ідею про те, що **дзеркальні відносини можуть бути використані терапевтично**: по суті, терапевт інсценував для Ноа те, що мало відбутися в ранньому дитинстві перед дзеркалом з матір'ю.

yet effective. In essence, this supported the analytic task – maintaining the child within an optimal emotional range, avoiding both traumatic overload and retreat into the autistic shell. Thus, sensory interventions in this case became **part of the therapeutic space**: a pillow the child could hug or background music functioned as «*protective objects*» for Noah, allowing him to feel safer and engage more fully in play. The practical implication is that psychoanalysts working with ASD should familiarize themselves with the basics of neuroscience and sensory integration and creatively incorporate this knowledge – this can significantly expand the possibilities for supporting the patient.

Fourth, the phenomena of **transference and countertransference** should be discussed in this case. As mentioned, transference – that is, the projection of unconscious feelings onto the therapist by the child – occurred implicitly through play. It can be assumed that when Noah began to trust the therapist and seek their attention, this represented *positive transference* – the therapist was unconsciously identified in his psyche with a caring object (possibly a «good maternal figure» responding to needs). Negative transference (aggression toward the therapist) was rarely observed openly, although elements may have been present initially in the child's ignoring and avoidance behaviors. The therapist experienced this as a **countertransference** reaction of helplessness and frustration: during the first weeks, it was difficult not to perceive Noah's silence as a «rejection» of the therapist's own person. The author openly acknowledges that working with a nonverbal child sometimes provoked intense anxiety in the therapist – would he be able to break through this barrier? Two factors helped manage these feelings: regular case supervision and reliance on the mirroring technique itself. Each time the therapist felt frustrated, he returned to the simple, clear task of – *repeating the child's action* – which provided a sense of control and purpose and reduced anxiety. As he later realized, this strategy was also beneficial for countertransference: **mirroring served as an «anchor» for the therapist himself**, helping him avoid feelings of helplessness. It should be noted that similar experiences are described in the professional literature: therapy with autistic children often evokes in the analyst a sense of isolation, a «silent wall», which must be endured and understood. At the same time, gradually establishing contact with such a child can bring the therapist significant emotional satisfaction – a sense of «breakthrough». In Noah's case, when the boy first looked the therapist in the eyes and smiled, this had a profoundly positive effect on the therapist as well, enhancing his empathy and confidence in the child.

From a theoretical perspective, Noah's case provides interesting material for reflection on the role of the *mirror stage* and *symbolization* in the emergence of autism. Our experience supports the idea that **mirror relationships can be used therapeutically**: essentially, the therapist staged for Noah what was supposed to occur in early childhood in front of the mirror with the mother. By mirroring each of the child's gestures, the analyst acted as an «other self» for Noah, allowing him to recognize himself in another's gaze. This corresponds to Lacan's concept of Ego formation through reflection: we observed

Віддзеркалюючи кожен жест дитини, аналітик виступав як «інше Я» для Ноа, даючи йому можливість впізнати себе в іншому погляді. Це співвідноситься з лаканівським уявленням про формування Его через відображення: ми спостерігали, як Ноа поступово почав усвідомлювати себе (ознака тому – поява вказівних жестів «покажи мені» і реакції на власне ім'я). Водночас, ми бачили і початок входження дитини до **Символічного порядку**: перші слова, прийняття правил гри (черговість дій, «не можна» тощо) – все це ознаки того, що *Закон та Мова Іншого* почали структурувати психіку Ноа. Ці спостереження узгоджуються з психоаналітичними гіпотезами про аутизм як про зрив переходу від Реального до Уявного та Символічного. Наш випадок показав, що такий перехід все ж може відбутися пізніше, якщо створити спеціальні умови.

Цікавим виявилось використання поняття «**парабіоз**» для пояснення сенсорних парадоксів. Хоча це запозичення з фізіології, воно вдало допомогло терапевту не інтерпретувати поведінку дитини в термінах «опору» чи «протистояння», а побачити за цим її *біологічну потребу*. Наприклад, коли Ноа, засмучений, раптом потребував сильного стискання, замість того щоб заспокоїтися від поглажування – терапевт розумів, що це його нервова система вимагає «перезавантаження». Це вберегло від помилок на кшталт надмірного наполягання на заспокоєнні словами чи інтерпретаціями, які б не спрацювали. Отже, **інтеграція нейробіологічного розуміння** у психоаналітичну практику з аутизмом є ще одним уроком цього випадку. Вона не суперечить аналітичному підходу, а навпаки розширює його можливості, дозволяючи краще адаптувати терапевтичні втручання під особливості конкретної дитини.

Насамкінець, випадок Ноа демонструє, що хоча **психоаналітичне лікування аутизму** і не є мейнстрімом, воно *може бути ефективним* у певних обставинах. Важливо правильно відібрати пацієнта (мотивація сім'ї, ранній вік, відсутність глибокої інтелектуальної відсталості тощо) і забезпечити довготривалу роботу фахівця, підготовленого до творчого пошуку. Цей підхід не претендує на універсальність, але може стати **цінним доповненням** до комплексу допомоги при РАС. Психоаналіз пропонує те, чого не дадуть поведінкові методики: погляд на *внутрішній світ* дитини, надання значення її унікальному досвіду, віру в здатність до зміни зсередини. У випадку Ноа саме це і сталося – зміни визріли зсередини, коли вдалося пробудити його власні сховані здібності до контакту і уяви. Цей досвід підкреслює, наскільки важливо в роботі з особливими дітьми зберігати **віру в потенціал розвитку**, навіть якщо зовні прогрес видається неможливим. Психоаналітичний терапевт, озброєний терпінням, емпатією та теоретичним розумінням глибин психіки, може створити для такої дитини «простір можливостей», де вона зробить свій крок назустріч світу.

that Noah gradually began to become aware of himself, as indicated by the emergence of deictic gestures («show me») and responses to his own name. At the same time, we observed the beginning of the child's entry into the **Symbolic Order**: the first words, acceptance of game rules (turn-taking, «not allowed», etc.) – all of which indicate that the *Law and Language of the Other* began structuring Noah's psyche. These observations are consistent with psychoanalytic hypotheses of autism as a disruption in the transition from the Real to the Imaginary and Symbolic. Our case demonstrated that this transition can still occur later if appropriate conditions are provided.

The use of the concept of «**parabiosis**» to explain sensory paradoxes proved particularly interesting. Although borrowed from physiology, it effectively helped the therapist avoid interpreting the child's behavior in terms of «resistance» or «opposition» and instead recognize the underlying *biological need*. For example, when Noah, upset, suddenly required firm pressure instead of calming from gentle touch, the therapist understood that his nervous system needed a «reset». This prevented errors such as excessive insistence on verbal soothing or interpretations that would not have been effective. Thus, **integrating neurobiological understanding** into psychoanalytic practice with autism provides an additional lesson from this case. It does not contradict the analytic approach; rather, it expands its possibilities, allowing therapeutic interventions to be better adapted to the specific needs of the child.

Finally, Noah's case demonstrates that although **psychoanalytic treatment of autism** is not mainstream, it *can be effective* under certain conditions. Careful patient selection is crucial (family motivation, early age, absence of profound intellectual disability, etc.) as well as sustained work by a specialist prepared for creative exploration. This approach does not claim universality but can serve as a **valuable complement** to the overall support provided for ASD. Psychoanalysis offers what behavioral methods cannot: insight into the child's *inner world*, acknowledgment of their unique experience, and faith in their capacity for change from within. In Noah's case, change emerged internally, once his latent abilities for contact and imagination were awakened. This experience highlights the importance, when working with children with special needs, of maintaining **belief in their developmental potential**, even when progress appears impossible externally. A psychoanalytic therapist, equipped with patience, empathy, and theoretical understanding of the depths of the psyche, can create a «space of possibilities» in which the child can take their step toward the world.

ВИСНОВКИ

Представлений клінічний випадок демонструє, що навіть при тяжкому аутизмі з майже повною відсутністю мовлення можливі позитивні зрушення

CONCLUSIONS

The presented clinical case demonstrates that even in severe autism with nearly complete absence of speech, positive developmental changes are possible

за умови застосування індивідуалізованої психоаналітичної терапії. Однорічна робота з 4,5-річним хлопчиком з РАС (Ноа) показала, що метод, заснований на віддзеркаленні поведінки дитини, поступовому розширенні її ігрових дій та підтримці символізації, привів до появи елементарного мовлення, розвитку символічної гри та покращення соціальної взаємодії. Вирішальним чинником успіху було створення безпечного, стабільного терапевтичного простору і міцного альянсу, що дозволило дитині вийти із замкненого аутичного стану. Інноваційність підходу полягала у сполученні класичних психоаналітичних концептів (дзеркальна стадія, перехідний об'єкт, символічне мислення) з техніками сенсорної регуляції та розвитку гри, що були інтегровані в аналітичний процес. Це показало, що психоаналітична терапія може збагачуватися даними нейробіології та інших дисциплін без втрати своєї суті. Хоча висновки базуються на одиничному випадку і потребують обережності, вони вселяють оптимізм: навіть за глибоких комунікативних порушень внутрішні зміни можливі. Для психоаналітиків, які працюють з аутизмом, даний випадок підкреслює важливість творчої адаптації техніки, уваги до тілесного аспекту та непохитної віри в здатність дитини до розвитку символізації.

with individualized psychoanalytic therapy. One year of work with a 4.5-year-old boy with ASD (Noah) showed that a method based on mirroring the child's behavior, gradually expanding his play actions, and supporting symbolization led to the emergence of basic speech, the development of symbolic play, and improved social interaction. A critical factor for success was the creation of a safe, stable therapeutic space and a strong therapeutic alliance, which enabled the child to emerge from a closed autistic state. The novelty of the approach lay in the combination of classical psychoanalytic concepts (mirror stage, transitional object, symbolic thinking) with techniques of sensory regulation and play development, integrated into the analytic process. This demonstrated that psychoanalytic therapy can be enriched by data from neurobiology and other disciplines without losing its essence. Although the conclusions are based on a single case and should be interpreted cautiously, they are encouraging: even in the presence of profound communicative impairments, internal changes are possible. For psychoanalysts working with autism, this case underscores the importance of creatively adapting techniques, attending to the bodily dimension, and maintaining unwavering belief in the child's capacity for the development of symbolization.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. American Psychiatric Association Publishing. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition*. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
2. Tager-Flusberg H., Kasari C. Minimally verbal school-aged children with autism spectrum disorder: the neglected end of the spectrum. *Autism Research*. 2013. №6 (6). P. 468–478. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.1329>
3. Houzel D. The psychoanalysis of infantile autism. *Journal of Child Psychotherapy*. 2004. №30 (2). P. 225–237. DOI: <https://doi.org/10.1080/00754170410001727789>
4. Жадан О. І. Афективна взаємодія в терапії дітей з аутизмом. *Український вісник психоневрології*. 2020. №28 (3). С. 33–38.
5. Rogers S. J., Pennington B. F. A theoretical approach to the deficits in infantile autism. *Development and Psychopathology*. 2008. №3 (2). P. 137–162. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954579400000043>
6. Volkan M. The «Muscles of the Psyche»: From body literacy to emotional literacy. *Frontiers in Psychology*. 2021. №11. P. 548964. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.548964>
7. Rutgers A. H., Bakermans-Kranenburg M. J., van IJzendoorn M. H., van Berckelaer-Onnes I. A. Autism and attachment: a meta-analytic review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2004. №45 (6). P. 1123–1134. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2004.t01-1-00305.x>
8. Giannotti M., de Falco S. Attachment and autism spectrum disorder (without intellectual disability) during middle childhood: in search of the missing piece. *Frontiers in Psychology*. 2021. №12. P. 662024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.662024>
9. Hobson R. P. The coherence of autism. *Autism*. 2014. №18 (1). P. 6–16. DOI: <https://doi.org/10.1177/1362361313497538>
10. Tustin F. *Autistic Barriers in Neurotic Patients*. Routledge. 1986. DOI: <https://doi.org/10.4324/9780429472152>
11. Hendrix N. M., Pickard K. E., Binion G. E., Kushner E. A. A systematic review of emotion regulation in parent-mediated interventions for autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*. 2022. №13. P. 846286. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.846286>
12. Mazefsky C. A., Herrington J., Siegel M., Scarpa A., Maddox B. B., Scahill L., et al. The role of emotion regulation in autism spectrum disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 2013. №52 (7). P. 679–688. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2013.05.006>
13. Houzel D. The creation of psychic space, the «nest of babies» fantasy and the emergence of the Oedipus complex. *International Journal of Psychoanalysis*. 2008. №89 (3). P. 595–608. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-8315.2008.00144.x>
14. Klein M. Notes on some schizoid mechanisms. *International Journal of Psychoanalysis*. 1946. №3. URL: <https://surl.li/qdvhep>

REFERENCES

1. American Psychiatric Association Publishing. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition*. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
2. Tager-Flusberg H., Kasari C. Minimally verbal school-aged children with autism spectrum disorder: the neglected end of the spectrum. *Autism Research*. 2013;6(6):468–78. DOI: <https://doi.org/10.1002/aur.1329>
3. Houzel D. The psychoanalysis of infantile autism. *Journal of Child Psychotherapy*. 2004;30(2):225–37. DOI: <https://doi.org/10.1080/00754170410001727789>
4. Zhadan OI. Affective interaction in therapy of children with autism]. *Ukrains'kyi Visnyk Psykhonevrologii*. 2020;28(3):33–8. (In Ukrainian).
5. Rogers SJ, Pennington BF. A theoretical approach to the deficits in infantile autism. *Development and Psychopathology*. 2008;3(2):137–62. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954579400000043>
6. Volkan M. The «Muscles of the Psyche»: From body literacy to emotional literacy. *Frontiers in Psychology*. 2021;11:548964. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.548964>
7. Rutgers AH, Bakermans-Kranenburg MJ, van IJzendoorn MH, van Berckelaer-Onnes IA. Autism and attachment: a meta-analytic review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2004;45(6):1123–34. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2004.t01-1-00305.x>
8. Giannotti M, de Falco S. Attachment and autism spectrum disorder (without intellectual disability) during middle childhood: in search of the missing piece. *Frontiers in Psychology*. 2021;12:662024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.662024>
9. Hobson RP. The coherence of autism. *Autism*. 2014;18(1):6–16. DOI: <https://doi.org/10.1177/1362361313497538>
10. Tustin F. *Autistic Barriers in Neurotic Patients*. Routledge. 1986. DOI: <https://doi.org/10.4324/9780429472152>
11. Hendrix NM, Pickard KE, Binion GE, Kushner EA. A systematic review of emotion regulation in parent-mediated interventions for autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*. 2022;13:846286. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.846286>
12. Mazefsky CA, Herrington J, Siegel M, Scarpa A, Maddox BB, Scahill L, et al. The role of emotion regulation in autism spectrum disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. 2013;52(7):679–88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2013.05.006>
13. Houzel D. The creation of psychic space, the «nest of babies» fantasy and the emergence of the Oedipus complex. *International Journal of Psychoanalysis*. 2008;89(3):595–608. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-8315.2008.00144.x>
14. Klein M. Notes on some schizoid mechanisms. *International Journal of Psychoanalysis*. 1946;3. URL: <https://surl.li/qdvhep>

15. Lacan J. *Écrits: A Selection*. 1977. URL: <https://surl.lulouibfz>
16. Karver M. S., De Nadai A. S., Monahan M., Shirk S. R. Meta-analyses of the relation of goal consensus and collaboration to psychotherapy outcome. *Psychotherapy*. 2018. №55 (4). P. 372–383. DOI: <https://doi.org/10.1037/pst0000170>
17. Введенський М. О. Парабіоз як принцип нервової діяльності. *Вісник фізіології та патології ЦНС*. 1886. №2 (1). С. 10–15.
15. Lacan J. *Écrits: A Selection*. 1977. URL: <https://surl.lulouibfz>
16. Karver M. S., De Nadai A. S., Monahan M., Shirk S. R. Meta-analyses of the relation of goal consensus and collaboration to psychotherapy outcome. *Psychotherapy*. 2018;55(4):372–83. DOI: <https://doi.org/10.1037/pst0000170>
17. Vvedensky MO. Parabiosis as a principle of nervous system activity]. *Visnyk Fiziologii ta Patofiziologii TsNS*. 1886;2(1):10–5. (In Ukrainian).

Обмеження дослідження

Автор рукопису свідомо засвідчує, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. Обсерваційний, одноцентровий характер роботи у форматі одиничного клінічного випадку (N = 1; дитина віком 4,5 року з тяжким розладом аутистичного спектра та відсутністю мовлення на початку терапії) не дає підстав для причинних висновків і зберігає ризик впливу неспецифічних чинників, зокрема природного розвитку дитини, терапевтичного альянсу та контексту сімейної взаємодії. Індивідуально адаптований характер психоаналітичної ігрової терапії та відсутність контрольної групи обмежують точність оцінок і переносимість результатів з огляду на гетерогенність клінічних проявів РАС і варіабельність практик психотерапевтичної допомоги. Для мінімізації впливів клінічний випадок описано відповідно до CARE Guidelines із послідовною фіксацією динаміки змін протягом 12 місяців терапії; водночас узагальнюваність висновків залишається обмеженою конкретним контекстом і потребує підтвердження у проспективних мультицентрових дослідженнях із більшими вибірками, застосуванням валідованих інструментів оцінки та дотриманням принципів Належної клінічної практики (Good Clinical Practice, GCP).

Перспективи подальших досліджень

Перспективи подальших досліджень полягають у проведенні проспективних мультицентрових робіт із залученням більших і клінічно стратифікованих вибірок дітей з розладом аутистичного спектра, зокрема невербальних пацієнтів раннього віку, що дозволить підвищити узагальнюваність результатів і зменшити вплив індивідуальних чинників. Доцільним є поєднання інтегративного психоаналітичного підходу зі стандартизованими та валідованими кількісними інструментами оцінки мовленнєвого, комунікативного й соціального розвитку, а також використання контрольних або порівняльних груп із іншими психотерапевтичними втручаннями.

Конфлікт інтересів

Автор подав до редакції заповнену Єдину форму розкриття конфлікту інтересів Міжнародного комітету редакторів медичних журналів «ICMJE» (*International Committee of Medical Journal Editors*)

Дотримання етичних норм

Автор рукопису свідомо засвідчує, що представлене клінічне дослідження у форматі одиничного випадку проводилося з використанням даних клінічних спостережень та матеріалів терапевтичного процесу. Дослідження виконано відповідно до етичних принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації, директиви Європейського товариства 86/609 щодо участі людини в медико-біологічних дослідженнях, а також вимог наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Інформовану згоду на участь дитини в дослідженні та використання клінічних даних у наукових цілях було отримано від її законних представників після надання повної, зрозумілої та доступної

Limitations of the study

The author of the manuscript explicitly acknowledge that the present study has limitations inherent to its design and implementation. The observational, single-center nature of this work in the format of a single clinical case (N = 1; a 4.5-year-old child with severe autism spectrum disorder and absence of verbal communication at therapy onset) does not allow for causal inferences and retains the risk of influence from nonspecific factors, including the child's natural development, the therapeutic alliance, and the context of family interactions. The individually adapted nature of psychoanalytic play therapy and the absence of a control group limit the precision of assessments and the generalizability of the findings, given the heterogeneity of ASD clinical manifestations and variability of psychotherapeutic practices. To minimize bias, the clinical case was described following the CARE Guidelines, with sequential documentation of changes over 12 months of therapy; nevertheless, the generalizability of conclusions remains limited to this specific context and requires confirmation in prospective multicenter studies with larger samples, the use of validated assessment instruments, and adherence to Good Clinical Practice (GCP) principles.

Prospects for further research

Future research directions include conducting prospective multicenter studies involving larger, clinically stratified samples of children with autism spectrum disorder, particularly nonverbal patients at an early age, which would enhance the generalizability of findings and reduce the influence of individual factors. It is advisable to combine the integrative psychoanalytic approach with standardized and validated quantitative instruments for assessing speech, communicative, and social development, as well as to include control or comparative groups receiving alternative psychotherapeutic interventions.

Conflict of interest

The author submitted to the editorial office a completed ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) Uniform Disclosure Form for Potential Conflicts of Interest.

Ethics statement

The author of the manuscript hereby affirm that the presented clinical study, conducted as a single-case report, was based on clinical observations and materials from the therapeutic process. The study was carried out in accordance with the ethical principles of the World Medical Association's Declaration of Helsinki, the European Directive 86/609 regarding human participation in biomedical research, and the requirements of the Ministry of Health of Ukraine Order No. 690 dated 23.09.2009. Informed consent for the child's participation in the study and the use of clinical data for scientific purposes was obtained from the legal guardians after providing full, clear, and accessible information about the purpose, nature, and methods of the

інформації про мету, характер і методи терапевтичного втручання, а також про умови забезпечення конфіденційності та анонімності пацієнта. Особисті дані дитини були деперсоналізовані, а ім'я замінено псевдонімом з метою збереження приватності.

therapeutic intervention, as well as the measures ensuring patient confidentiality and anonymity. The child's personal data were de-identified, and the name was replaced with a pseudonym to preserve privacy.

Використання штучного інтелекту

Автор рукопису свідомо засвідчує, що у процесі підготовки цього рукопису використовувалися інструменти генеративного штучного інтелекту виключно для корекції орфографії та перекладу тексту. Усі результати, отримані за допомогою цих інструментів, були ретельно перевірені та відредаговані авторами, які несуть повну відповідальність за зміст і висновки публікації. Інструменти генеративного штучного інтелекту не зазначаються як автори та не несуть відповідальності за кінцеві результати. Ця декларація не поширюється на інші аспекти підготовки рукопису, що виконувалися виключно авторами.

Use of Generative Artificial Intelligence

The author of the manuscript explicitly declare that generative artificial intelligence tools were used solely for spelling correction and text translation during the preparation of this manuscript. All results obtained with these tools were carefully verified and edited by the authors, who bear full responsibility for the content and conclusions of the publication. Generative artificial intelligence tools are not listed as authors and bear no responsibility for the final outcomes. This declaration does not apply to other aspects of manuscript preparation, which were carried out exclusively by the authors.

Первинні дані та матеріали

Автор рукопису свідомо засвідчує, що у роботі використано результати власних клінічних спостережень за пацієнтом, які були систематизовані та проаналізовані автором. Первинні дані включають спостереження за поведінкою дитини, динаміку комунікативних та ігрових навичок, а також записи терапевтичного процесу. Усі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента із дотриманням вимог конфіденційності та етичних норм.

Data availability statement

The author of the manuscript explicitly affirm that the study utilized results from their own clinical observations of the patient, which were systematically collected and analyzed by the author. The primary data include observations of the child's behavior, the dynamics of communicative and play skills, as well as records of the therapeutic process. All materials are archived within the research team and can be made available upon a justified request to the corresponding author, in compliance with confidentiality requirements and ethical standards.

Інформація про фінансування

Дослідження проводилося з ініціативи автора і не фінансувалося жодним джерелом.

Funding information

The study was conducted on the author's initiative and received no external funding.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Подорожна Зоя Борисівна – клінічний психолог, психоаналітик Української асоціації психоаналізу, вул. Лаврська, буд. 16, м. Київ, Україна, 01015; засновниця «Mental Health Harmony LLC», Нью Джерсі, Сполучені Штати Америки;
e-mail: psy.zpod@gmail.com
mob.: +38 050-325-9000

Внесок автора: формулювання мети роботи, проведення клінічних спостережень, систематизація та аналіз отриманих даних, інтерпретація результатів і підготовка тексту рукопису.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Podorozhna Zoia Borysivna – Clinical Psychologist, Psychoanalyst of the Ukrainian Association of Psychoanalysis, 16 Lavrska Str., Kyiv, Ukraine, 01015; Founder of Mental Health Harmony LLC, New Jersey, United States of America;
e-mail: psy.zpod@gmail.com
tel.: +38 050-325-9000

Author's contribution: formulation of the study aim, conduct of clinical observations, systematization and analysis of obtained data, interpretation of results, and preparation of the manuscript text.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
13.07.2025

Отримано після рецензування
Received after review
20.09.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.10.2025

Опубліковано
Published
27.10.2025

Науково-практичне видання

Research and practice edition

**ВІСНИК
ХАРКІВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА.
СЕРІЯ МЕДИЦИНА**

**THE JOURNAL
OF V.N. KARAZIN
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY.
SERIES MEDICINE**

**ТОМ XXXIII
5(56) | 2025**

**VOLUME XXXIII
5(56) | 2025**

Відповідальний за випуск *М.С. Матвєєнко*
Редактор випуску *Ф.В. Гладких*
Технічний редактор *К.В. Леонтьєва*
Літературні редактори *Т.І. Кобзар*
Н.М. Волошина
Комп'ютерна верстка *С.А. Третьак*

Responsible for edition *M.S. Matvieienko*
Issue Editor *F.V. Hladkykh*
Technical Editor *K.V. Leontieva*
Literary Editors *T.I. Kobzar*
N.M. Voloshyna
Computer layout *S.A. Tretyak*

**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. 30,92.
Наклад 100 прим.

Format 60×84 1/8. Conventional printed sheets 30,92.
An edition of 100 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.**