



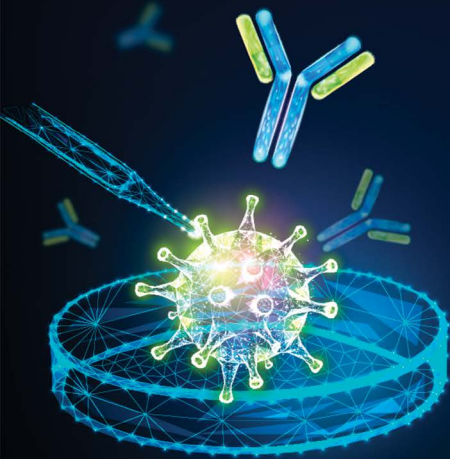
ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

2'2024

ISSN 2707-1871

Присвячується пам'яті видатного вченого Георгія Миколайовича Дранніка



КОНГРЕС

**ОБ'ЄДНУЮЧА ПРИРОДА
КЛІНІЧНОЇ ІМУНОЛОГІЇ
ТА АЛЕРГОЛОГІЇ: АКТУАЛЬНІ
ПИТАННЯ МІЖ ДИСЦИПЛІНАМИ**

**22-23 ЖОВТНЯ
2024 КИЇВ**



МАЙСТЕР-КЛАС

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ
ПРИКЛАДНОЇ ІМУНОЛОГІЇ,
АЛЕРГОЛОГІЇ ТА ДЕРМАТОЛОГІЇ**

**22 ЖОВТНЯ
2024 КИЇВ**

ПАМ'ЯТАЄМО, СУМУЄМО, НІКОЛИ НЕ ЗАБУДЕМО!

21 травня 2024 року пішов з життя

Драннік Георгій Миколайович –

патріот України, доктор медичних наук (1980 р.), професор (1986 р.), Лауреат Державної Премії з науки і техніки (2018 р.), завідувач лабораторії імунології ДУ «Інститут урології імені академіка О.Ф.Возіанова НАМН України» протягом 42 років.

Основними напрямками наукової діяльності Дранніка Георгія Миколайовича було визначення патогенетичних механізмів розвитку урологічних захворювань шляхом вивчення біологічних маркерів із застосуванням імунологічних методів з загальною метою розробки та впровадження персоналізованого підходу до діагностики, лікування та профілактики.

Георгій Миколайович працював в Інституті урології з 1968 р., а з 1987 р. очолював на загальних засадах створений вперше в Україні науково-дослідний Центр клінічної імунології АМН та МОЗ України. Був головним розробником та керівником Програми «Захист та реабілітація імунної системи населення України» під керівництвом Держкомітету по науці і технологіям Кабінету Міністрів України, а потім – Міністерства по науці і технологіям в рамках Програми «Здоров'я населення України» (1992-1999 рр.).

З 1992 по 2004 роки професор Драннік Г.М. – перший керівник кафедри клінічної імунології та алергології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця, автор першої в Україні Програми викладання дисципліни, перших навчальних посібників (1999, 2003, 2006, 2010 рр.) та першого підручника українською мовою (2006 р.) з клінічної імунології та алергології, підготовлені кадри вищої кваліфікації для медичних ВУЗів України.

З 1998 р. професор Драннік Г.М. – Президент Українського товариства фахівців з імунології, алергології та імунореабілітації (УТІАІ), останні роки – Почесний Президент УТІАІ. Історію створення Служби та викладання клінічної імунології описано в монографії «Краткий очерк о развитии клинической иммунологии в Украине» (2013 р.).

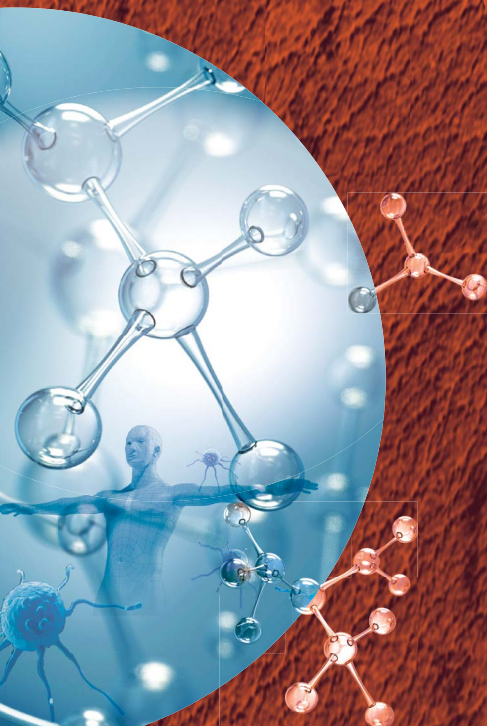
Професор Драннік Г.М. засновник (1998 р.) і до останнього часу Головний редактор першого в Україні спеціалізованого журналу «Імунологія та алергологія: наука і практика», був членом редакційної Ради журналу, що входить до бази «Scopus» – «Український журнал нефрології та діалізу», «Здоров'я чоловіка».

Під керівництвом проф. Дранніка Г.М. підготовлено 11 докторів та 31 кандидат медичних наук. Він був автором більш ніж 800 наукових робіт, у тому числі 15 монографій.

Георгій Миколайович був членом Європейської Академії Алергології та Клінічної імунології (EAACI), нагороджений знаком «Відмінник охорони здоров'я» (1979); Почесною грамотою Президії НАМН України (2002); йому надано звання Почесного професора Харківського державного медичного університету (2007). Рішенням Комітету України з державних премій по науці та техніці від 05.11.2018 р. проф. Дранніку Георгію Миколайовичу з групою співавторів присуджено Державну премію України за роботу «Наукова розробка та впровадження персоналізованого підходу до діагностики, лікування та профілактики імунозалежних захворювань».

Високий професійний рівень проф. Дранніка Г.М. сприяли визнанню його робіт та наукового напрямку досліджень в Україні та світі. Всі ми втратили не тільки відомого фахівця-імунолога, але й Людину з великої літери, якій притаманні такі кращі людські якості як інтелігентність, колегіальність, порядність, готовність від щирого серця допомогти всім, хто цього потребує. Під час спілкування із Георгієм Миколайовичем ми завжди заряджалися новими ідеями, його світлою енергією світла, тепла і радості. Наукова спільнота втратила відомого і авторитетного фахівця, якого любили та поважали всі, хто працював поруч. Енергія наукового пошуку, оптимізму, доброзичливості залишиться в пам'яті його колег та учнів назавжди.

Нехай пам'ять про Георгія Миколайовича і його відданість життю, медицині і науці завжди залишається в наших серцях!





ІМУНОЛОГІЯ ТА АЛЕРГОЛОГІЯ

НАУКА І ПРАКТИКА

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Виходить 4 рази на рік

2'2024

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Медичні науки:

Бабаджан В.Д.
Бутенко Г.М. (науковий консультант)
Возіанов С.О.
Волянський А.Ю.
Гогунська І.В.
Гольцев А.М.
Господарський І.Я.
Драннік Г.Г. (Канада)
Драннік Г.М. (головний редактор)
Дріянська В.Є.
Кайдашев І.П.
Курченко А.І. (заступник головного редактора)
Мінухін В.В.
Непомнящий В.М.
Порошина Т.В.
Пшенична І.В. (літературний редактор)
Скляр Н.І.
Степаненко Р.Л.
Шарикадзе О.В.
Широбоков В.П.

Біологічні науки:

Базаліцька С.В.
Колибо Д.В.
Король Л.В.
Мінченко Ж.Д.
Нікуліна Г.Г.
Руденко А.В.
Савченко В.С.
Сківка Л.М.
Співак М.Я.

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Бажора Ю.І. (Одеса), Вітовська О.П. (Київ), Гриневич Ю.А. (Київ), Дитятківська Є.М. (Дніпро), Заболотний Д.І. (Київ), Засєда Ю.І. (Київ), Зайков С.В. (Київ), Коваль Г.Д. (Чернівці), Лоскутова І.В. (Рубіжне), Мельніков О.Ф. (Київ), Недельська С.М. (Запоріжжя), Нікольський І.С. (Київ), Охотнікова О.М. (Київ), Фещенко Ю.І. (Київ), Чернюк Н.В. (Івано-Франківськ), Чоп'як В.В. (Львів), Чумак А.А. (Київ)

ЗАСНОВНИКИ

ДУ «Інститут Урології НАМН України»
Українське товариство фахівців з імунології,
алергології та імунореабілітації

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 15721-4193Р від 08.10.2009 р.

Включено до переліку наукових фахових видань
України, Додаток 3 до наказу Міністерства освіти
і науки України від 26.11.2020 № 1471.
Категорія «Б».

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ

04053, м. Київ, вул. В. Винниченка, 9А
ДУ «Інститут урології імені академіка О.Ф.Возіанова»
Національна академія медичних наук України

info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською або англійською).

За зміст рекламної інформації відповідальність несе рекламодавець.

Матеріали конференції публікуються в авторській редакції. Відповідальність за науковий рівень поданих робіт та достовірність отриманих результатів несуть автори.

Редакційна колегія не завжди поділяє точку зору авторів публікацій.

Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

Рекомендовано до друку Вченою Радою ДУ «Інститут Урології НАМН України»,
протокол №5 від 11.06.2024 р.

Наклад 1000 прим.

Здано в набір 19.06.2024. Підписано до друку 20.06.2024.

Формат паперу 64×84 1/8. Гарнітура PragmaticaC. Ум. друк. арк. 6,50. Замовлення № 200624

Зверстано ТОВ "ЮСТОН ІНФО", надруковано ТОВ "Видавництво"Юстон"

01034, м. Київ, просп. Перемоги, 62-Б, оф.2, тел.: (044) 360 2266

моб.: (063) 077 2999, моб.: (067) 500 5545, моб.: (094) 924 92 66

e-mail: director.yuston@ukr.net, www.yuston.com.ua

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів видавничої продукції
серія дк № 4973 від 09.09.2015 р.



IMMUNOLOGY AND ALLERGOLOGY

SCIENCE AND PRACTICE

PRACTICAL, SCIENTIFIC JOURNAL

Published 4 times a year

2'2024

EDITORIAL COLLEGE

Medical sciences:

Babadzhan V.
Butenko G. (scientific consultant)
Drannik A. (Canada)
Drannik H. (editor-in-chief)
Driianska V.
Hohunska I.
Holtsev A.
Hospodarskyi I.
Kaidashev I.
Kurchenko A. (deputy editor-in-chief)
Minukhin V.
Nepomniashchyi V.
Poroshyna T.
Pshenychna I. (literary editor)
Sharikadze O.
Shyrobokov V.
Skliar N.
Stepanenko R.
Volyanskyi A.
Vozianov S.

Biological science:

Basalitska S.
Kolybo D.
Korol L.
Minchenko Zh.
Nikulin G.
Rudenko A.
Savchenko V.
Skivka L.
Spivak M.

EDITORIAL COUNCIL

Bazhora Yu. (Odesa), Cherniuk N. (Ivano-Frankivsk), Chopiak V. (Lviv), Chumak A. (Kyiv), Dytiatkivska Ye. (Dnipro), Feshchenko Yu. (Kyiv), Hrynevych Yu. (Kyiv), Koval G. (Chernivtsi), Loskutova I. (Rubizhne), Melnikov O. (Kyiv), Nedielska S. (Zaporizhzhia), Nikolskyi I. (Kyiv), Okhotnikova O. (Kyiv), Vitovska O. (Kyiv), Zabolotnyi D. (Kyiv), Zaikov S. (Kyiv), Zasieda Yu. (Kyiv).

FOUNDERS

State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine"
Ukrainian society of immunology, allergology and immunorehabilitation specialists

State Registration Certificate KB № 15721-4193P dated 08.10.2009.

Included in the list of scientific professional publications of Ukraine,

Annex 3 to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine 26.11.2020 № 1471. Category "B".

EDITORIAL ADDRESS

04053, Kyiv, V. Vynnychenko str, 9a
DU "Institute of Urology Named After
Academic O.F. Vozianov"
National Academy of Medical Sciences of Ukraine
info@immunology.org.ua
www.immunology.org.ua

Printed materials in the original language (Ukrainian or English).

The content of advertising responsibility of the advertiser.

Conference proceedings are published in author's edition. Responsibility for the scientific level of the submitted works and the reliability of the results are the authors.

Editorial board does not always shared the view of the authors of publications.

Reprint articles carried out only with the consent of the publisher.

Recommended for publication by the Academic Council of State Center "Institute of Urology AMS of Ukraine",
Protocol №5 dated 11.06.2024

Edition 1000 copies

Edited by "YUSTON INFO" LLC

Published by "Yuston" Publishing House" LLC.

01034, Kyiv, prosp. Peremohy, 62-B, office 2; Tel.: (044) 360 2266

mob.: (063) 077 2999, mob.: (067) 500 5545, mob.: (094) 924 92 66, e-mail: director.yuston@ukr.net, www.yuston.com.ua

Certificate of making a publishing house subject to publication in the state register of publishers, manufacturers and distributors of publishing products series dq. No. 4973 dated 09.09.2015.

— ЗМІСТ —

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ СЕКРЕТОМ РІЗНОГО ТИПУ ПОХОДЖЕННЯ НА РЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ Ключникова А.І.	5
ОЦІНКА ФЕНОТИПІВ M1 ТА M2 МАКРОФАГІВ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ПАЦІЄНТІВ З РЕВІЗІЙНОЮ РИНОПЛАСТИКОЮ Журавель О.Ю., Запорожець Т.Ю., Храпач В.В.	12
ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ДОРОСЛИХ ХВОРИХ НА ВІТРАНУ ВІСПУ Волобуєва О.В., Дорош Д.М., Павлікова К.В., Севастьянова Т.В., Грек І.І., Кушнір В.Б.	20
ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АУТОІМУННОМУ АРТРИТІ Гладких Ф.В., Лядова Т.І.	28
ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ МІКРОНУТРІЄНТІВ І БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ДІТЕЙ НА РІЗНИХ ВИДАХ ПРИКОРМУ Таршина К.І., Шарікадзе О.В.	38
ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ГНІЗДОВІЙ (ВОГНИЩЕВІЙ) АЛОПЕЦІЇ Халдеева А.Є.	47
АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ	54

— CONTENT —

STUDY OF NEUROPROTECTIVE ACTION BY SECRETION OF VARIOUS TYPES OF ORIGIN ON REGENERATIVE PROCESS IN THE EXPERIMENT Kliuchnykova A.I.	5
EVALUATION OF M1 AND M2 PHENOTYPES OF MACROPHAGES AND THE FUNCTIONAL STATE OF CELLULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH REVISION RHINOPLASTY Zhuravel O.Yu., Zaporozhets T.Yu., Khrapach V.V.	12
INVESTIGATION OF LIPID PEROXIDATION STATUS IN ADULT CHICKENPOX PATIENTS Volobueva O., Dorosh D., Pavlikova K., Sevastyanova T., Grek I., Kushnir V.	20
STUDY OF THE EFFECT OF CELL-FREE CRYOPRESERVED BIOLOGICAL AGENTS ON THE LEVEL OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ARTHRITIS Hladkykh F.V., Liadova T.I.	28
COMPARATIVE ANALYSIS OF INDICATORS OF MICRONUTRIENTS AND PROTEIN METABOLISM IN CHILDREN ON DIFFERENT TYPES OF COMPLEMENTARY FOODS Tarshyna K.I., Sharikadze O.V.	38
CHARACTERISTICS OF THE STATE OF CELLULAR IMMUNITY IN FOCAL ALOPECIA Khaldieieva A.	47
TO AUTHORS OF JOURNAL PUBLICATIONS	54

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ СЕКРЕТОМ РІЗНОГО ТИПУ ПОХОДЖЕННЯ НА РЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

КЛЮЧНИКОВА А.І.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»
м. Київ, Україна

Вступ. Останнім часом з'являється все більше досліджень, що вказують на цікаві регенеративні властивості мезенхімальних стромальних клітин (МСК).

Доклінічні дослідження показали, що МСК впливають на різні фази загоєння ран, включаючи поляризацію макрофагів, прискорення реепітелізації та ремоделювання матриксу. Зростає зацікавленість до їх секреторних продуктів МСК для відновлення шкіри, що можуть бути основою для майбутніх безклітинних методів лікування [1].

Одним із основних джерел МСК є кістковий мозок. Секретом мезенхімальних стромальних клітин кісткового мозку (МСК-КМ) містить різні компоненти позаклітинного матриксу (колаген, фібронектин, люмікан, періостин), лептин, фактори росту (bFGF, TGF- β 1, пігментний епітеліопохідний фактор (PEDF), фактор росту ендотелію судин (VEGF), епідермальний фактор росту (EGF), фактор росту кератиноцитів (KGF), ангіопоетин-1, еритропоетин, ангіогенін та стромальний похідний фактор-1 (SDF-1)), цитокіни та хемокіни. Секреторні білки посилюють клітинну міграцію (наприклад, епітеліальних та ендотеліальних клітин), проліферацію і ангіогенез, та прискорюють загоєння ран як *in vitro*, так і *in vivo*. Цікаво, що окрім цього, секреторні фактори мають протизапальну, антифібротичну та імунomodуючу дію [2, 3, 14].

Численні дослідження показали, що екзосоми, як частина секретомів МСК-КМ, індукують мітотичну активність та міграцію фібробластів та ендотеліальних прогеніторних клітин, що сприяє ангіогенезу [3].

При вивченні впливу секретом МСК-КМ на раневий процес при діабеті, *in vitro* було показано, що життєздатність/проліферація людських дермальних фібробластів, що знаходились в умовах підвищеного вмісту глюкози, була вищою при застосуванні секретомів МСК-КМ, порівняно як із контрольною групою (фібробласти в умовах підвищеного вмісту глюкози без використання секретомів), так і з групою клітин, що знаходились в нормальних умовах [3]. Секретоми МСК-КМ мають здатність до покращення щільності та розташування колагенових волокон

під час загоєння рани, механізмом чого є посилення функції фібробластів [3].

В експерименті *in vivo* секретоми МСК-КМ показали також протизапальний ефект – в ранах, оброблених секретомом, спостерігалось збільшення кількості фібробластів та мікросудин і паралельне зменшення кількості макрофагів та нейтрофілів, залучених до місця ушкодження [3]. В дослідженні Dedier та співав. застосування антитіл, що блокують рецептори ІЛ-6, частково нівелювало ефект секретомів кісткового мозку, що свідчить про те, що секретоми кісткового мозку сприяють зменшенню запалення через шлях ІЛ-6 [1].

Одним із компонентів секретом клітин, включаючи МСК-КМ, є позаклітинні везикули (ПВ). Їх використання також може бути дієвим на різних стадіях загоєння ран. Під час найпершої фази загоєння – гемостазу, ПВ МСК проявляють значний прокоагулянтний вплив, як на кров людини, так і на безтромбоцитарну плазму, за рахунок підвищення рівня фосфатидилсерину та тромбoplastину. Наступною фазою є запалення, в зменшенні якого можуть брати участь везикули МСК. Механізмом цього ефекту може бути сприяння поляризації макрофагів у сторону M2 фенотипу та пригнічення синтезу прозапальних факторів, наприклад, ФНП- α , ІЛ-6 та ІЛ-8 [15].

В експериментах *in vitro* встановлена роль позаклітинних везикул МСК-КМ у фазі проліферації – вони сприяли поділу та міграції клітин на Ca²⁺, пошкоджених H₂O₂, та пригнічували їх апоптоз. Ремоделювання – заключна фаза загоєння ран, при якій ПВ можуть чинити антирубцеві та анти вікові ефекти. Шляхом зниження рівнів β -галактозидази та MMP-1, MMP-3, що асоційовані зі старінням фібробластів, позаклітинні везикули МСК можуть сповільнювати клітинне старіння [15].

Іншим типом клітин кістковомозкового походження, секретоми яких можуть бути застосовані для загоєння ран – мультипотентні «дорослі» клітини-попередники. При дослідженні властивостей секретом цих клітин було виявлено їхній позитивний вплив на процес загоєння рани, на що вказувало зменшення площі та ширини рани, інфільтрацій запальних клітин і посилення реепі-

телізації, ангиогенезу та збільшення кількості колагену I та III. Зменшення запалення було продемонстровано, зокрема, зниженням кількості як нейтрофілів, так і макрофагів та стимуляцією поляризації M1 прозапальних макрофагів до M2 протизапального типу при обробці ран секреторами MAPC [4].

Окрім прогеніторних клітин кістково мозкового походження, вивчаються впливи й секреторів інших клітин на процес загоєння ран та регенерації шкіри.

Результати дослідження Dongsoo та співав. показали, що обробка секретом Treg-клітин кератиноцитів HaCaT в межах 5% значно збільшує клітинну міграцію, що було визначено шляхом вимірювання зменшення площі рани, не впливаючи на проліферацію клітин HaCaT [9].

Було виявлено значне дозозалежне зниження вмісту E-кадгерину в кератиноцитах HaCaT, що попередньо обробили секретом Treg-клітин. Це може свідчити про те, що стимуляція міграції кератиноцитів HaCaT після обробки секретом Treg-клітин може бути обумовлена сприянням епітеліально-мезенхімальному переходу в місці рани [9].

Обробка секретом Treg-лімфоцитів протягом 24 годин значно збільшує як експресію, так і секрецію матричної металопротеїнази 1 (MMP-1) в дозозалежний спосіб. Ці результати показують, що обробка секретом Treg-клітин сприяє активації деградації позаклітинного матриксу та ремоделюванню в ділянці рани [9].

При застосуванні секреторів нервових стовбурових клітин (НСК-С) до опромінених ультрафіолетом людських дермальних фібробластів, було виявлено значне зниження внутрішньоклітинних рівнів активних форм кисню в цих клітинах, ступінь якого залежав від концентрації секретору. При цьому експресія генів антиоксидантів, таких як SOD1, GPx та каталази, дозозалежно зростала. Отже, НСК-С зменшує ризик розвитку окислювального стресу в клітинах та запалення, спричиненого ним. Також НСК-С може збільшити синтез колагену шляхом інгібування активності протеаз MMP-1, -2, -9 через блокування шляху NF-κB у фібробластах, опромінених ультрафіолетом [7]. Нейтрофіли демонстрували значну хемотаксичну відповідь на секретори β-глюкан-активованих клітин. Крім того, хемотаксис нейтрофілів збільшувався пропорційно збільшенню концентрації IL-8 в секреторі [10].

Під час залучення Т-лімфоцитів до захисту організму вони взаємодіють із дендритними клітинами, тому не дивно, що секретом Т-лімфоцитів має певний вплив на ці антигенпрезентуючі клітини. В роботі Kato та співав. було

показано, що на відміну від нестимульованих незрілих дендритних клітин, дендритні клітини, культивовані з секретом активованих анти тілом до CD3 Т-лімфоцитів, експресують високі рівні молекул МНС (HLA-ABC), молекул адгезії, костимуляторних молекул (CD54 і CD86), а також маркерів активації/дозрівання. Також додавання секретору Т-лімфоцитів до незрілих дендритних клітин призводить до зниження експресії CD16 та пригнічення рецептор-опосередкованого ендоцитозу, що свідчить про здатність секретору Т-лімфоцитів до стимуляції дозрівання незрілих дендритних клітин. Ця активність в основному опосередкована розчинним лігандом CD40 (sCD40L), TNF-α та IFN-γ [12].

Внаслідок стрімкого росту пухлинних клітин, створюються гіпоксичні та збіднені на поживні речовини умови, що впливають на залучені імунні клітини. Було продемонстровано, що секретом Т-клітин, отриманих від пацієнтів із аденокарциномою стравоходу, культивовані в повному середовищі RPMI, підвищували експресію ліганду запрограмованої смерті 1 та 2 (англ. PD-L1, -2) на поверхні пухлинних клітин *in vitro*.

Секретом Т-клітин, отриманих від пацієнтів з ОАК, культивованих в сRPMI, значно підвищував регуляцію PD-L1 і PD-L2 на поверхні клітин OE33 *in vitro*. Цікаво, що змінений секретом лімфоцитів, які були культивовані в умовах депривації сироватки, підвищує рівень PD-L2 на поверхні клітин OE33 *in vitro* порівняно з необробленими клітинами OE33 [18].

Секретом мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК) пришивдував загоєння ран, посилював неоангіогенез і зменшував кількість тучних клітин [5].

У мишей зі шкірними ранами, що обробляли секретом МКПК, гістологічне дослідження свідчило про прискорену реепітелізацію та неоангіогенез в пошкоджених ділянках, а експерименти з використанням фібробластів та кератиноцитів продемонстрували посилену проліферацію цих клітин та посилення роботи сигнальних шляхів, що сприяють виживанню клітин після інкубації з секретом МКПК.

На мишиній моделі автоімунного міокардиту було показано вплив секретору апоптичних МКПК на інфільтрацію лімфоцитів у місце запалення. Автори показали, що секретом МКПК індукує каспаз-8-залежний апоптоз автореактивних CD-4-позитивних Т-клітин, що призводить до ремісії автоімунних процесів в моделі міокардиту [5].

Тваринам із травмою спинного мозку вводили секретом МКПК, що призвело до зменшення вторинного пошкодження, спричиненого імунною реакцією на травму. Механізмом тако-

го впливу вважають посилене залучення CD68-позитивних клітин з паралельним зниженням рівня iNOS, що мало протизапальний ефект [5].

В одному з досліджень імунopodobних властивостей секретом мононуклеарних клітин периферичної крові авторам вдалося показати, що дані клітини виділяють значну кількість антимікробних пептидів із активністю як проти грамнегативних, так і грам-позитивних бактерій [5].

Метою дослідження було визначення впливу секретом, отриманих з різних джерел на регенерацію шкірно-м'язового пошкодження у щурів. В даній роботі досліджували секретом гліально та нейронально збагаченої фракцій мозку новонароджених щурів, секретом спленоцитів щурів, секретом кісткового мозку щурів, секретом лімфоцитів периферичної крові людини при внутрішньо-м'язовому та внутрішньоочеревинному способах введення.

Об'єкт і методи досліджень. В роботі використані експериментальні тварини (статевозрілі щури розведення віварію ДУ «ІНХ НАМН»). Усі роботи з експериментальними тваринами проводили з дотриманням законодавчих норм та вимог Закону України №3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), з урахуванням принципів біоетики та норм біологічної безпеки. Тварин утримували у стандартних умовах акредитованого віварію, знеболення та евтаназію проводили під ефірним наркозом. Проведення дослідження затверджене комісією з етики та біоетики Інституту нейрохірургії імені акад. А.П. Ромоданова НАМН України (протокол № 35 від 9 квітня 2021 р.).

Моделювання раневого процесу у експериментальних тварин

Раневий процес моделювали у експериментальних щурів шляхом надрізу шкіри та м'язів стегна розміром (1×2) см². На 2-у, 3-тю

та 4-ту добу після моделювання раневого процесу, тваринам внутрішньом'язово (1-ша серія досліджень) та внутрішньоочеревинно (2-га серія досліджень) вводили секретоми клітин різного типу походження. Контрольним тваринам вводили у відповідному об'ємі поживне середовище. Протягом усього терміну експерименту проводили вимірювання площини раневої поверхні.

Результати досліджень. При дослідженні впливу секретомів, отриманих з різних джерел на раневий процес, що моделювали при пошкодженні поверхні шкіри та стегового м'язу, встановлено, що СГЗФ при внутрішньом'язовому введенні на 2-у, 3-ю, 5-у добу після моделювання рани вірогідно прискорював загоєння рани порівняно з контролем.

Так, при внутрішньом'язовому введенні СГЗФ шкірно-м'язова рана з площі раневої поверхні (2×1) см² на 5-у добу після моделювання раневого процесу, декілька разів зменшувалась до (0,23×0,4) см², тоді як у тварин контрольної групи рана поверхня складала (0,8×0,53) см².

При внутрішньом'язовому введенні СГЗФ на 8-у добу спостерігається повне загоєння, тоді як у тварин контрольної групи ще на 8-у добу спостерігали струп раневої поверхні розміром (0,16×0,03) см².

Ми не отримали статистично достовірного впливу на регенерацію раневої поверхні при внутрішньом'язовому секретому, отриманому із спленоцитів. При внутрішньом'язовому введенні СНЗФ рана поверхня за площею не відрізнялася від такої в тварин контрольної групи, і повне загоєння рани спостерігалось лише на 9-у добу після нанесення рани.

Подібні до контролю результати були отриманні при дослідженні загоєння раневої поверхні у щурів, яким внутрішньом'язово вводили СЛК.

Таблиця 1

Дослідження нейропротекторної дії секретом, отриманих із різних джерел, на регенерацію раневої поверхні шкіри та стегового м'язу щурів при внутрішньом'язовому введенні

Доба дослідження	Дослідні групи					
	Контроль	Введення СГЗФ	Введення СНЗФ	Введення СС	Введення СКМ	Введення СЛК
1 доба (n=3)	2×1	2×1	2×1	2×1	2×1	2×1
2 доба (n=3)	1,96×1	1,76×0,83	1,86×0,9	1,66×0,93	1,62×0,7	1,86×0,93
3 доба (n=3)	1,8×0,8	1,53×0,63	1,7×0,8	1,56×0,73	1,52×0,54	1,76×0,8
4 доба (n=3)	1,1×0,63	0,56×0,56	0,83×0,66	0,6×0,53	0,72×0,36	1,1×0,66
5 доба (n=3)	0,8×0,53	0,23×0,4	0,66×0,6	0,4×0,33	0,36×0,24	0,8×0,66

Продовження таблиці 1

Доба дослідження	Дослідні групи					
	Контроль	Введення СГЗФ	Введення СНЗФ	Введення СС	Введення СКМ	Введення СЛК
8 доба (n=3)	0,16×0,03	0×0	0,03×0,03	0,03×0,03	0×0	0,16×0,1
9 доба (n=3)	0×0	0×0	0,03×0	0×0	0×0	0,03×0

Аналогічні результати були отримані і при внутрішньоочеревинному введенні секретом, отриманих із різних джерел.

Вірогідної різниці між внутрішньом'язовим і внутрішньоочеревинним введенням не спостерігалось. Найшвидше загоювались рани в групах тварин, яким внутрішньом'язово вводили СГЗФ і при внутрішньоочеревинному введенні

СКМ, де площа раневої поверхні в даних групах вірогідно не відрізнялася. При введенні внутрішньоочеревинно, СНЗФ прискорення загоєння рани не спостерігалось. Введення СЛК не впливало на загоєння рани у щурів, де площа раневої поверхні була майже такою, як і в контролі, і повне загоєння раневої поверхні спостерігалось лише на 11-у добу після нанесення рани.

Таблиця 2

Дослідження нейропротекторної дії секретом, отриманих із різних джерел, на регенерацію раневої поверхні шкіри та стегового м'язу щурів при внутрішньоочеревинному введенні

Доба дослідження	Дослідні групи					
	Контроль	Введення СНЗФ	Введення СГЗФ	Введення СС	Введення СКМ	Введення СЛК
1 доба (n=3)	2×1	2×1	2×1	2×1	2×1	2×1
2 доба (n=3)	1,93×0,96	1,83×0,96	1,66×0,83	1,56×0,93	1,54×0,79	1,93×0,93
3 доба (n=3)	1,8×0,8	1,76×0,8	1,43×0,63	1,53×0,63	1,50×0,52	1,8×0,73
4 доба (n=3)	0,93×0,8	0,93×0,8	0,56×0,6	0,73×0,6	0,74×0,26	1,03×0,63
7 доба (n=3)	0,73×0,4	0,66×0,4	0,23×0,26	0,36×0,26	0,32×0,22	0,63×0,5
8 доба (n=3)	0,3×0,15	0,2×0,0	0,05×0,05	0,1×0,05	0×0	0,25×0,1
9 доба (n=3)	0,05×0	0×0	0×0	0×0	0×0	0,35×0

Примітки: 1.* – p (t)<0,05, порівняно з контролем;
2. # – p(t)<0,05, порівняно з впливом гліально збагаченої та нейронально збагаченої фракції клітин головного мозку новонароджених щурів.

Висновки. СГЗФ, СКМ, а також СС мають в своєму складі чинники, які здатні прискорювати регенерацію шкіри і стимулювати загоєння рани. Вірогідної різниці між внутрішньом'язовим і внутрішньоочеревинним введенням не спостерігалось. Найшвидше загоювались рани в групах тварин, яким внутрішньом'язово вводили СГЗФ і при внутрішньоочеревинному введенні СКМ. Введення СЛК значимо не впливало на загоєння рани у щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Dedier, M. et al.* (2023) 'Anti-inflammatory effect of interleukin-6 highly enriched in secretome of two clinically relevant sources of

mesenchymal stromal cells', *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11. doi:10.3389/fcell.2023.1244120.

2. *Md Fadilah NI, Mohd Abdul Kader Jailani MS, Badrul Hisham MAI, et al.* Cell secretomes for wound healing and tissue regeneration: Next generation acellular based tissue engineered products. *Journal of Tissue Engineering*. 2022;13. doi:10.1177/20417314221114273

3. *Saheli, M., Bayat, M., Ganji, R. et al.* Human mesenchymal stem cells-conditioned medium improves diabetic wound healing mainly through modulating fibroblast behaviors. *Arch Dermatol Res* 312, 325–336 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00403-019-02016-6>

4. Ahangar, P., Mills, S.J., Smith, L.E. et al. Human multipotent adult progenitor cell-conditioned medium improves wound healing through modulating inflammation and angiogenesis in mice. *Stem Cell Res Ther* 11, 299 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01819-z>
5. Beer, L., Mildner, M., Gyöngyösi, M. et al. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair. *Apoptosis* 21, 1336–1353 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1292-8>
6. Konrad Hoetzenecker, Matthias Zimmermann, Wolfram Hoetzenecker, Thomas Schweiger, Dagmar Kollmann, Michael Mildner, Balazs Hegedus, Andreas Mitterbauer, Stefan Hacker, Peter Birner, Christian Gabriel, Mariann Gyöngyösi, Przemyslaw Blyszczuk, Urs Eriksson, Hendrik Jan Ankersmit, Mononuclear cell secretome protects from experimental autoimmune myocarditis, *European Heart Journal*, Volume 36, Issue 11, 14 March 2015, Pages 676–685, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs459>
7. Insik Hwang, Kyung-Ah Choi, Minjae Kim, Sunghoi Hong, Neural stem cells and the secreted proteins TIMPs ameliorate UVB-induced skin photodamage, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 518, Issue 2, 2019, Pages 388–395, ISSN 0006-291X, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.068>.
8. Valencic, E., Loganés, C., Cesana, S. et al. Inhibition of mesenchymal stromal cells by pre-activated lymphocytes and their culture media. *Stem Cell Res Ther* 5, 3 (2014). <https://doi.org/10.1186/scrt392>
9. Kim D, Lo E, Kim D, Kang J. Regulatory T Cells Conditioned Media Stimulates Migration in HaCaT Keratinocytes: Involvement of Wound Healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:443-453. <https://doi.org/10.2147/CCID.S252778>
10. Mohamed F. Ali, Christopher B. Driscoll, Paula R. Walters, Andrew H. Limper, Eva M. Carmona; β -Glucan-Activated Human B Lymphocytes Participate in Innate Immune Responses by Releasing Proinflammatory Cytokines and Stimulating Neutrophil Chemotaxis. *J Immunol* 1 December 2015; 195 (11): 5318–5326. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500559>
11. Kim, D. , Kim, D. , Kim, H. , Hwang, S. and Kang, J. (2021) Potential of Natural Killer Cell Enriched Conditioned Media for Skin Care and Anti-Aging. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 11, 123-139. doi: 10.4236/jcdsa.2021.112013.
12. Kato, K., Takaue, Y. and Wakasugi, H. (2001), T-cell-conditioned medium efficiently induces the maturation and function of human dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 70: 941-949. <https://doi.org/10.1189/jlb.70.6.941>
13. Salazar Y, Zheng X, Brunn D, Raifer H, Picard F, Zhang Y, Winter H, Guenther S, Weigert A, Weigmann B, Dumoutier L, Renauld JC, Waisman A, Schmall A, Tufman A, Fink L, Brüne B, Bopp T, Grimminger F, Seeger W, Pullamsetti SS, Huber M, Savai R. Microenvironmental Th9 and Th17 lymphocytes induce metastatic spreading in lung cancer. *J Clin Invest*. 2020 Jul 1;130(7):3560-3575. doi: 10.1172/JCI124037. PMID: 32229721; PMCID: PMC7324180.
14. Cerqueira MT, Pirraco RP, Marques AP. Stem Cells in Skin Wound Healing: Are We There Yet? *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016 Apr 1;5(4):164-175. doi: 10.1089/wound.2014.0607. PMID: 27076994; PMCID: PMC4817598.
15. Ding, JY., Chen, MJ., Wu, LF. et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in skin wound healing: roles, opportunities and challenges. *Military Med Res* 10, 36 (2023). <https://doi.org/10.1186/s40779-023-00472-w>
16. Bonzon-Kulichenko E, Martínez-Martínez S, Trevisan-Herraz M, Navarro P, Redondo JM, Vázquez J. Quantitative in-depth analysis of the dynamic secretome of activated Jurkat T-cells. *J Proteomics*. 2011 Dec 21;75(2):561-71. doi: 10.1016/j.jprot.2011.08.022. Epub 2011 Sep 1. PMID: 21920478.
17. Li K, Sun X, Li H, Ma H, Zhou M, Minami K, Tamari K, Ogawa K, Pandya PH, Saadatzadeh MR, Kacena MA, Pollok KE, Li BY, Yokota H. Suppression of osteosarcoma progression by engineered lymphocyte-derived proteomes. *Genes Dis*. 2022 Aug 28;10(4):1641-1656. doi: 10.1016/j.gendis.2022.08.007. PMID: 37397541; PMCID: PMC10311056.
18. Davern M, Donlon NE, O'Connell F, Gaughan C, O'Donovan C, McGrath J, Sheppard AD, Hayes C, King R, Temperley H, MacLean M, Bulter C, Bhardwaj A, Moore J, Donohoe C, Ravi N, Conroy MJ, Reynolds JV, Lysaght J. Nutrient deprivation and hypoxia alter T cell immune checkpoint expression: potential impact for immunotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Jul;149(8):5377-5395. doi: 10.1007/s00432-022-04440-0. Epub 2022 Nov 29. PMID: 36445478; PMCID: PMC10349772.

РЕЗЮМЕ

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ
СЕКРЕТОМ РІЗНОГО ТИПУ ПОХОДЖЕННЯ НА
РЕГЕНЕРАТИВНІ ПРОЦЕСИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

КЛЮЧНИКОВА А.І.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова
Національної академії медичних наук України»
м. Київ, Україна

Мета дослідження. Визначення впливу секретомів, отриманих з різних джерел, на регенерацію шкірно-м'язового пошкодження у щурів. В даній роботі досліджувався вплив секретом нейрональної та гліально збагачених фракцій клітин фетального головного мозку, секретом спленоцитів щурів, секретом кісткового мозку щурів, секретом лімфоцитів периферичної крові людини.

Матеріали та методи. Досліджували вплив секретом на змодельований раневий процес. Наркотизованим тваринам скальпелем робили надріз шкірно-м'язового покриття стегна розміром 12 см². На 2-у, 3-ю та 4-у добу після моделювання рани, тваринам внутрішньом'язово (1-ша серія досліджень), та внутрішньоочеревинно (2-га серія досліджень) вводили секретоми. З наступного дня заміряли площу раневої поверхні.

Результати досліджень та їх обговорення. При внутрішньом'язовому введенні секретом, отриманих з гліально збагаченої фракції клітин фетального головного мозку, шкірно-м'язова рана з площі раневої поверхні на 5-у добу після нанесення рани зменшувалась у 8,6 разів, тоді як у тварин контрольної групи ранева поверхня складала 0,8 0,53 см², і на 8-у добу після нанесення рани в даній групі спостерігалось повне загоєння, тоді як у тварин контрольної групи ще на 8-у добу спостерігали струп раневої поверхні розміром 0,16 0,03 см².

Достовірно не відрізнялись і результати при внутрішньом'язовому введенні секретому, отриманому із спленоцитів.

Тоді як при введенні секретом, отриманих із нейрональної фракції клітин головного мозку щурів, ранева поверхня за площею не відрізнялася від такої в тварин контрольної групи, і повне загоєння рани спостерігалось на 9-у добу після нанесення рани.

Найшвидше загоювались рани в групах тварин, яким внутрішньоочеревинно вводили секретом гліальнозбагаченої фракції і при внутрішньоочеревинному введенні секретом спленоцитів, де площа раневої поверхні в даних групах вірогідно не відрізнялася. При введенні внутрішньоочеревинно секретом нейрональної фракції клітин головного мозку прискорення загоєння рани не спостерігалось, де площа раневої поверхні була майже такою, як і в контролі, і повне загоєння раневої поверхні спостерігалось на 11-у добу після нанесення рани.

Висновки. Секретоми, отримані з головного мозку новонароджених щурів, а саме гліально збагачена фракція клітин головного мозку та се-

кретоми, отримані з мононуклеарів спленоцитів щурів, вірогідно прискорюють регенерацію шкірно-м'язового пошкодження стегна у щурів. СГЗФ, СКМ, а також СС мають в своєму складі чинники, які здатні прискорювати регенерацію шкіри і стимулювати загоєння рани. Вірогідної різниці між внутрішньом'язовим і внутрішньоочеревинним введенням не спостерігалось. Найшвидше загоювались рани в групах тварин, яким внутрішньом'язово вводили СГЗФ, і при внутрішньоочеревинному введенні СКМ. Введення СЛК значимо не впливало на загоєння рани у щурів.

Ключові слова: експериментальні дослідження, секретом, регенерація, раневий процес.

SUMMARY

STUDY OF NEUROPROTECTIVE ACTION BY
SECRETION OF VARIOUS TYPES OF ORIGIN ON
REGENERATIVE PROCESS IN THE EXPERIMENT

KLIUCHNYKOVA A.I.

SI "Institute of Neurosurgery named after Acad. A.P. Romodanov
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"
Kyiv, Ukraine

Purpose of the study. Determination of the influence of secretomes obtained from different sources on the regeneration of skin-muscle injuries in rats. In this work, the effect of secretion of neuronal and glial fractions of fetal brain cells, secretion of rat splenocytes, secretion of rat bone marrow and secretion of human peripheral blood lymphocytes was investigated.

Materials and methods. The effect of the secret on the simulated wound process was investigated. Narcotic animals, the scalpel was used to make an incision of the skin muscle thigh with a size of 12 cm². On the 2nd, 3rd, and 4th day after wound modelling, the animals intramuscularly (1st series of studies), and intraperitoneally (2nd series of studies) were injected with secrets. The next day measured the area of the wound surface.

The results and their discussion. With intramuscular administration of the secretion obtained from the glial-enriched fraction of cells of the fetal brain, the skin-muscular wound from the area of the wound surface on the 5th day after wounding was reduced by 8.6 times, while in animals of the control group the wound surface was 0.8 0.53 cm², and on the 8th day after the wound was applied, complete healing was observed in this group, while the animals of the control group still had a scab on the wound surface measuring 0.16 0.03 cm² on the 8th day.

The results of intramuscular injection of secretome obtained from splenocytes did not differ significantly.

Whereas when the secretion obtained from the neuronal fraction of rat brain cells was injected, the wound surface did not differ in area from that in animals of the control group, and complete healing of the wound was observed on the 9th day after wounding.

Wounds healed the fastest in groups of animals that were injected intraperitoneally with the secretion

of the glial-enriched fraction and with intraperitoneal injection of the secretion of splenocytes, where the area of the wound surface in these groups probably did not differ. When the neuronal fraction of brain cells was administered intraperitoneally, no acceleration of wound healing was observed, where the area of the wound surface was almost the same as in the control, and complete healing of the wound surface was observed on the 11th day after wounding.

Conclusions. Secretomes obtained from the brain of newborn rats, namely the glial-enriched fraction of brain cells and secretomes obtained from mononuclear splenocytes of rats, probably accelerate

the regeneration of skin-muscle damage of the thigh in rats. SGZF, SCM, as well as SS contain factors capable of accelerating skin regeneration and stimulating wound healing. No significant difference was observed between intramuscular and intraperitoneal administration. Wounds healed the fastest in groups of animals that were intramuscularly injected with SGZF and with intraperitoneal injection of SCM. Administration of SLK did not significantly affect wound healing in rats.

Key words: experimental studies, secretome, regeneration, wound process.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• **Ключникова Антоніна Іванівна**

Старший науковий співробітник відділу нейроімунології ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова Національної академії медичних наук України»

Адреса: 04050, м. Київ, вул. Платона Майбороди, 32

Тел.: 098-281-83-30

E-mail: skok010283@gmail.com

• **Kliuchnykova Antonina**

Senior researcher of the Department of Neuroimmunology of the State University "Institute of Neurosurgery named after Acad. A.P. Romodanov of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

Address: 04050 Ukraine, Kyiv, 32 Platona Maiborody str.

Tel.: 098-281-83-30

E-mail: skok010283@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 28.05.2024 р.

ОЦІНКА ФЕНОТИПІВ M1 ТА M2 МАКРОФАГІВ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ПАЦІЄНТІВ З РЕВІЗІЙНОЮ РИНОПЛАСТИКОЮ

ЖУРАВЕЛЬ О.Ю., ЗАПОРОЖЕЦЬ Т.Ю., ХРАПАЧ В.В.

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

Вступ. Післяопераційні деформації вважаються основним ризиком ринопластики, викликаючи повторну операцію у 5-15% випадків [1-4]. Науковці стикаються з проблемами, такими як нестабільність трансплантатів, резорбція хрящової тканини та відсутність загальноприйнятих рішень для подолання цих викликів. Аналіз післяопераційних деформацій дозволяє виявити специфічні ризики. Сучасні дослідження зосереджуються на аналізі імунологічних аспектів запальної реакції, що відбувається під час трансплантації. Особливу увагу приділяють вивченню вроджених імунних реакцій та впливу тканинного мікрооточення на розвиток запалення [5]. Наукові дослідження підкреслюють значення запального процесу як необхідної умови для початку процесу загоєння. Макрофаги, які є основними клітинами, що ініціюють запальну відповідь, визнані критично важливими для регуляції процесу загоєння [6].

Макрофаги є спеціалізованими імунними клітинами з широкою функціональною гетерогенністю. Крім виявлення та знищення бактерій і вірусів, макрофаги синтезують низку цитокінів, що стимулюють різні імунопатології. Крім того, відомо, що макрофаги відіграють ключову роль у запаленні та відновленні тканин, але аномальна активація макрофагів може призвести до хронічного запалення та фіброзу тканин. Важливою особливістю макрофагів є їхня здатність виявляти пластичність у своєму фенотипі, диференціюючись на про- та протизапальні підтипи у відповідь на цитокінову стимуляцію та місцеве тканинне оточення [5-7].

Макрофаги можуть диференціюватися на «класично активовані» M1 та «альтернативно активовані» макрофаги M2 [7]. M1 і M2 є двома різними підтипами, які демонструють різні функціональні властивості та профілі цитокінів. Прозапальні сигнали активують макрофаги M1, які демонструють профіль, важливий для захисту від бактеріальних і вірусних інфекцій. Крім того, цей профіль ініціює та підтримує запальну відповідь. Макрофаги M2, які демонструють протизапальний фенотип і фенотип відновлення

тканин, стимулюються протизапальними факторами. Ця активація має вирішальне значення для усунення запалення, ремоделювання тканин і сприяння загоєнню ран [5, 7].

Макрофаги є ключовими регуляторами тканинного гомеостазу, запалення та регенерації. Під час гомеостазу тканинорезидентні макрофаги виконують критично важливі допоміжні функції у своїх резидентних тканинах. Після пошкодження тканин макрофаги, як тканинорезидентні, так і моноцитарні, зазнають помітних фенотипічних змін, тимчасово набуваючи і втрачаючи функції у відповідь на різні сигнали мікрооточення, присутні в міру прогресування процесу загоєння ран [8]. Ця фенотипічна пластичність дозволяє макрофагам відігравати безліч ключових ролей під час усіх фаз загоєння ран: ініціації, проліферації та припиненні запального процесу [9]. Порушення нормальної функції макрофагів може ініціювати різні патологічні процеси, включаючи неконтрольований синтез медіаторів запалення, недостатнє утворення протизапальних фенотипів макрофагів і стимуляцію надвиробництва білків позаклітинного матриксу (ECM) фібробластами, що сприяє хронічним запальним фіброзним процесам [10, 11].

Під час успішного заживлення рани макрофаги спочатку сприймають «класично активований» фенотип (M1-фенотип), при якому вони сприяють розвитку запалення через вивільнення прозапальних цитокінів, таких як IL-6, IL-12, TNF, активних форм кисню та антимікробних пептидів [8, 12]. Макрофаги M1 також володіють високою фагоцитарною здатністю, що дозволяє їм очищати місце утворення рани від залишків відмерлих тканин і бактерій [12]. Макрофаги M1-фенотипу зазвичай ідентифікують за високою експресією поверхневих маркерів MHC II класу і коstimулюючих молекул, таких як CD40, CD81, CD86. Вони є ефективними антиген-презентуючими клітинами і додатково сприяють переключенню імунної відповіді в сторону T-хелперів I типу.

На ранній запальній фазі переважають нейтрофіли та моноцити. Після прибуття в місце

ушкодження інфільтруючі моноцити диференціюються в макрофаги, які спочатку набувають M1-фенотипу. Орієнтовно на 4-7 день первинний фенотип макрофагів перемикається з M1-фенотипу на M2-фенотип. Після стихання гострої запальної фази переважна популяція макрофагів переходить до «альтернативно активованого» фенотипу (M2-фенотип). Макрофаги M2 характеризуються секрецією протизапальних медіаторів [8], особливо IL-10, та факторів росту (PDGF, TGF- β), які сприяють загоєнню тканин за допомогою стабілізації ангиогенезу [13], стимулюючи вrostання клітин-попередників та сприяння ремоделюванню білків позаклітинного матриксу [14]. Ці клітини характеризуються експресією поверхневих маркерів CD204, CD206, CD16 та внутрішньоклітинної аргінази-1. Було показано, що взаємодія між макрофагами M2 та адаптивною імунною системою, особливо Т-хелперами 2-го типу і регуляторними Т-клітинами, має вирішальне значення для зниження запальних реакцій у багатьох тканинах [8].

Лімфоцити, фібробласти та тканинні клітини-попередники також легко рекрутуються у місце ушкодження в цей період. Для успішного загоєння ран повинні припинитися як запальна, так і регенеративна фази загоєння ран, що призведе до повернення до гомеостазу. Якщо запальна фаза не проходить, виникає хронічне запалення. І навпаки, якщо регенеративна фаза не проходить, виникає хронічний фіброз.

Також вирішальне значення для успішної трансплантації відіграють процеси васкулогенезу та ангиогенезу. Макрофаги є важливими медіаторами васкуляризації тканин, які регулюють зростання судин у різних тканинах та відіграють подібну роль у васкуляризації трансплантатів, беручи участь в ангиогенезі.

Таким чином, в нормі макрофаги M1 присутні на ранніх стадіях і ініціюють процес ангиогенезу, а макрофаги M2 домінують на пізніх стадіях, сприяючи стабілізації кровоносних судин і синтезу компонентів позаклітинного матриксу. Якщо перехід M1-фенотипу до фенотипу M2 порушується, це проявляється у постійному збільшенні кількості макрофагів M1-фенотипу, а ушкодження проходить з хронічним запаленням та порушеннями процесу загоєння і регенерації [7].

Таким чином, оптимальне загоєння ран залежить від чітко регульованого переходу реакції макрофагів M1 до реакції M2 з подальшим поверненням до гомеостазу. Такі фактори, як ступінь ушкодження, тривалість запалення, стан активації макрофагів та тип тканини, а також стан здоров'я господаря можуть впливати на перебіг реакції відновлення тканин. Проте, на

сьогодні імунопатогенна роль моноцитів периферичної крові та макрофагів при трансплантації ще не з'ясована. У зв'язку із цим актуальним є дослідження впливу моноцитів/макрофагів і пов'язаних із ними цитокінів на розвиток післяопераційних ускладнень після трансплантації реберного хряща.

Виходячи із вищесказаного, **метою** нашої роботи було провести оцінку стану набутого та вродженого клітинного імунітету, зокрема M1- та M2-фенотипу макрофагів у пацієнтів із ревізійною ринопластиком. Розуміння молекулярних механізмів, які регулюють активацію та поляризацію макрофагів та лімфоцитів, може дати нове розуміння патогенезу розвитку післяопераційних ускладнень для пошуку подальших потенційних терапевтичних цілей з метою запобігання розвитку ускладнень після ринопластики.

Матеріали та методи. Дослідження проводились у 63 пацієнтів, яким було проведено ревізійну ринопластику з використанням реберного трансплантату. Усі пацієнти мали скарги на невдоволення формою зовнішнього носа, ями та ущільнення по кінчику носа, деформацію вісі носа, утруднене носове дихання, порушення чутливості носа. Первинна хірургія була виконана не менш ніж 1,5 роки потому. Всі хворі обстежувалися на базі клінічної лабораторії U`Clinic, де і проводилося оперативне лікування після періоду попередньої реабілітації. Серед обстежених було 23 (36,5%) чоловіків і 40 (63,5%) жінок. Вік хворих коливався від 18 до 45 років, середній вік складав $32,7 \pm 1,3$ роки [15].

Для подальших досліджень пацієнти були розділені на дві групи за результатами рівня фібриногену: I група пацієнтів із підвищеним рівнем фібриногену (>350 мг/дл) та II група пацієнтів із нормальним рівнем фібриногену (<350 мг/дл).

Оцінку популяцій лімфоцитів CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16/56+ та кількості M1 та M2 макрофагів проводили з використанням методу проточної цитофлюориметрії з використанням проточного цитофлюориметра Navios (Beckman Coulter, США) та реагентів CYTO-STAT tetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/ CD8-ECD/CD3-PC5 і CYTO-STAT tetraCHROME CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5. Оцінку кількості M1 макрофагів проводили за рівнем експресії маркерів CD80, CD86 на CD14-клітинах, оцінку кількості M2 макрофагів проводили за визначенням кількості за рівнем експресії маркерів CD163, CD206 на CD14-клітинах з використанням реагентів CD80-PE, CD86-FITC, CD14-APC (Beckman Coulter, США), CD163-PE, CD206-FITC (BD Bioscience, США).

Аналіз проводили на 10 000 клітин. Оцінку кількості CD14 + клітин проводили від загальної популяції клітин. Оцінку кількості M1 і M2 макрофагів від кількості CD14 + клітин.

Контрольну групу склали 20 здорових осіб віком 21-45 років без ринопластики.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програм Microsoft Excel та Statistica for Windows 6.0. Кількісні зміни представлені у вигляді середньоквадратичного відхилення (SD) та середнього арифметичного. Порівняння кількісних ознак та визначення достовірності розбіжностей було оцінено за t-критерієм Ст'юдента. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати дослідження. За результатами попередніх досліджень було виявлено, що у 32 (50,8%) пацієнтів з ревізійною ринопластикою спостерігається підвищений рівень фібриногену до 554 ± 21 мг/дл, у порівнянні з групою здорових осіб 232 ± 15 мг/дл. У решти 31 (49,2%) пацієнта рівень фібриногену знаходився в межах норми і становив 264 ± 25 мг/дл.

Відомо, що найбільш значущою функцією фібриногену є участь у формуванні тромбу і зупинці кровотечі. Це білок крові, відповідальний за кінцевий етап утворення тромбу, його ста-

білізацію й припинення кровотечі. В інтерстиційній тканині фібриноген формує основу для росту фібробластів і гістіоцитів, концентрація фібриногену та фібрину в ушкодженій тканині підвищена, що підсилює міграцію в ній гранулоцитів, які виділяють різні фактори росту, фагоцитують продукти некрозу, що важливо для відновлення ушкодженої тканини. Однак, якщо наслідки ураження не усуваються чи не нейтралізуються, запалення набуває хронічного характеру та сприяє розвитку фіброзу тканин. У зв'язку з виявленими відхиленнями за рівнями фібриногену, для подальших досліджень пацієнти були розділені на дві групи: група осіб з підвищеним рівнем фібриногену та група осіб, у яких рівень фібриногену знаходився в нормі. Оцінку можливого розвитку хронізації процесу та розвитку фіброзу проводили за визначенням рівня макрофагів.

Аналіз показників рівня макрофагів M1-фенотипу проводили за оцінкою кількості CD14+CD80+ та CD14+CD86+ клітин. Аналіз показників рівня макрофагів M2-фенотипу проводили за оцінкою кількості CD14+CD163+ та CD14+CD206+ клітин. Результати дослідження рівня макрофагів у хворих після ревізійної ринопластики представлені на рис. 1.

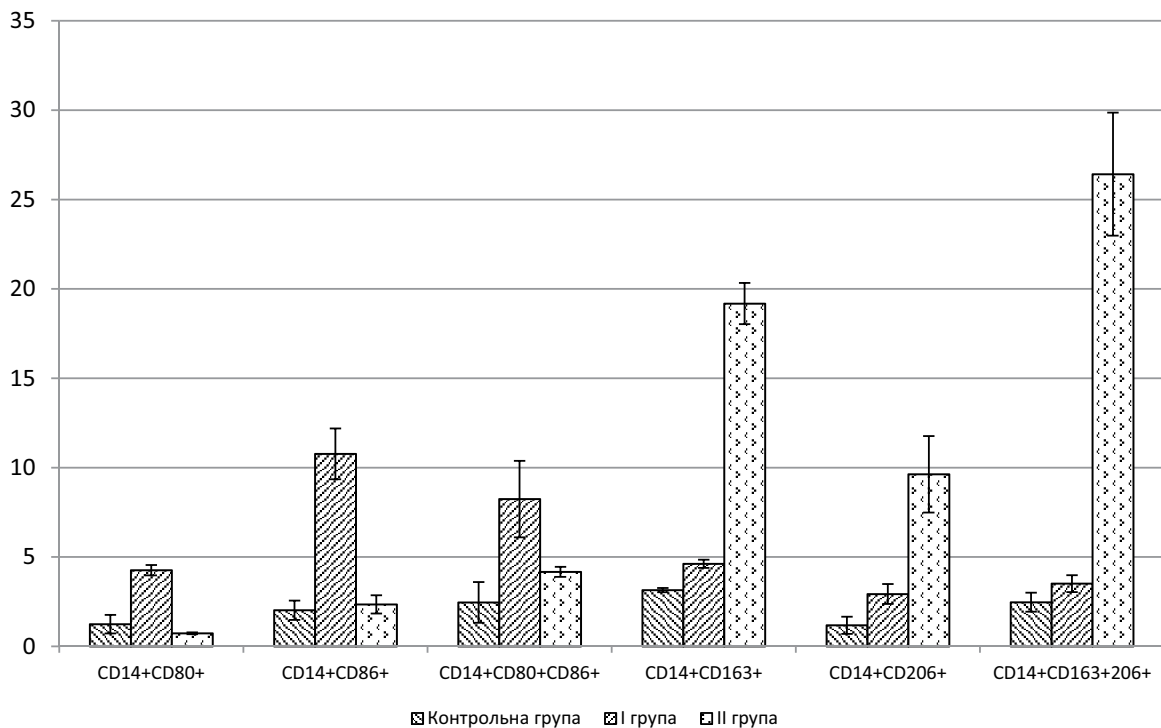


Рис. 1. Кількість M1 і M2 макрофагів у осіб з ревізійною ринопластикою

В результаті проведеного дослідження встановлено, що у пацієнтів I групи спостерігається вірогідне підвищення рівня макрофагів M1-

фенотипу CD14+CD86+ до $10,77 \pm 1,42\%$ у порівнянні з групою здорових осіб, у яких рівень цих клітин становив $2,02 \pm 0,04\%$ ($p < 0,05$). Встанов-

лено також тенденцію до підвищення рівня M1 макрофагів з фенотипом CD14+CD80+. У I групі осіб рівень цих клітин становив $4,26 \pm 0,09\%$ проти $1,24 \pm 1,12\%$ у контрольній групі осіб. Вірогідно підвищено була і кількість клітин, у яких спостерігалась одночасна експресія клітинних маркерів CD80+ і CD86+. Рівень CD14+CD80+CD86+ клітин становив $8,24 \pm 2,14\%$ і був вірогідно вищим від показників у контрольній групі осіб – $2,46 \pm 1,14\%$ ($p < 0,05$).

При аналізі рівня M2-фенотипу макрофагів за рівнем CD14+CD163+ і CD14+CD206+ клітин було встановлено, що у даної групи осіб вірогідних змін рівня цих клітин виявлено не було у порівнянні з контрольною групою осіб (рис. 1).

На противагу, при аналізі рівня M1 і M2 макрофагів у II групі осіб було встановлено, що рівень M1 макрофагів практично не відрізнявся від їх кількості у групі здорових осіб. Кількість клітин CD14+CD80+ і CD14+CD86+ становила

$0,73 \pm 0,05\%$ та $2,35 \pm 0,51\%$ відповідно (рис. 1).

Проте, при аналізі рівня M2-фенотипу було встановлено підвищення рівня як CD14+CD163+, так і CD14+CD206+ макрофагів. Число цих клітин становило $19,18 \pm 1,15\%$ і $9,63 \pm 2,14\%$, що було вірогідно вищим у порівнянні з групою контрольних осіб ($p < 0,05$). Вірогідно підвищеною була кількість клітин і з подвійною експресією маркерів CD163+ і CD206+. Рівень CD14+CD163+CD206+ клітин становив $26,42 \pm 3,44\%$ у порівнянні з групою контрольних осіб – $2,47 \pm 0,53\%$ ($p < 0,05$).

При порівнянні кількості M1- і M2-фенотипу макрофагів у двох дослідних групах було виявлено вірогідні відмінності за рівнем M1 та M2 макрофагів. Встановлено, що рівень CD14+CD86+ клітин був вірогідно вищим у I групі осіб ($p < 0,05$). Вірогідними були відмінності і за рівнями CD14+CD163+, CD14+CD206+ та CD14+CD163+CD206+, які були вищими у II групі

осіб.

Аналіз стану показників клітинної ланки імунної відповіді у осіб I і II групи представлений на рис. 2.

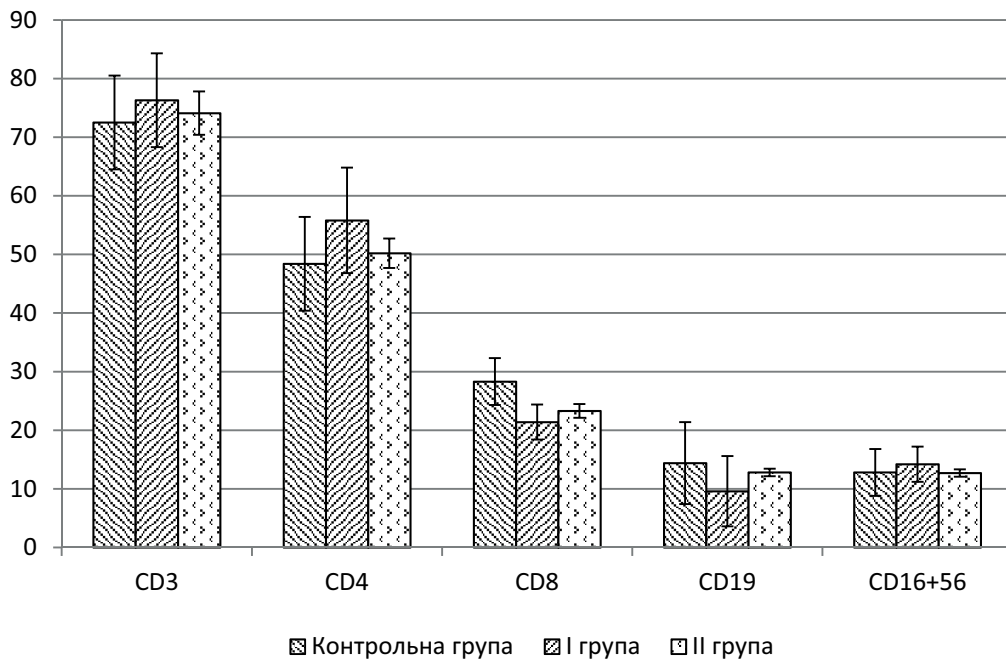


Рис. 2. Оцінка кількісного складу клітинного імунітету у пацієнтів з ревізійною ринопластиком

Згідно проведених нами досліджень було встановлено, що у групі осіб I групи з підвищеним рівнем фібриногену загальна кількість CD3+ Т-лімфоцитів у відсоткових значеннях становила $76,3 \pm 5,6\%$, що статистично не відрізнялось від значень у групі контрольних осіб. За абсолютними значеннями вірогідних відмінностей

за рівнем CD3+ Т-лімфоцитів також виявлено не було $1,48 \pm 0,24$ Г/л проти $1,56 \pm 0,33$ Г/л у групі контрольних осіб. При аналізі популяції CD4+Т-лімфоцитів хелперів встановлено незначну тенденцію до підвищення CD4+-лімфоцитів у дослідній групі у порівнянні з групою контрольних осіб. Так, число CD4+-лімфоцитів становило

55,8±6,4%, що було вищим проти групи контрольних осіб, де встановлено 48,4±5,8% CD4+ лімфоцитів. Однак у абсолютних значеннях вірогідних відмінностей виявлено не було. Кількість CD8+ лімфоцитів також була дещо зниженою лише у відсоткових значеннях і становила 21,4±6,64% проти 28,3±5,61% у групі контрольних осіб.

При аналізі кількості CD19+ В-лімфоцитів у I групі осіб, з підвищеним рівнем фібриногену, спостерігається зниження до 9,8±4,4% відносної частки і 0,14±0,09 Г/л абсолютного значення, порівняно з групою контрольних осіб, де їх значення встановлено на рівні 14,4±2,3% і 0,31±0,09 Г/л. Однак вірогідних змін рівня CD19+ В-лімфоцитів виявлено не було. Число CD16+56+ NK-лімфоцитів вірогідно не відрізнялось у порівнянні з групою здорових осіб і становило 14,2±3,3% у I групі осіб проти 12,8±4,2% у групі контрольних осіб.

Оцінка показників набутої клітинної імунної відповіді у II групі осіб, у яких рівень фібриногену був у нормі, також не виявила жодних вірогідних змін рівня лімфоцитів у порівнянні з групою здорових осіб. При порівнянні показників лімфоцитів у двох дослідних групах вірогідних відмінностей зміни їх числа не встановлено.

Обговорення. Таким чином, проведені нами дослідження дозволили встановити, що у пацієнтів з ревізійною ринопластиком, у яких було виявлено підвищення рівня фібриногену, спостерігається підвищення кількості M1-фенотипу макрофагів. Встановлено вірогідне підвищення клітин з фенотипом CD14+CD86+. На противагу, у групі осіб, у яких рівень фібриногену був у нормі, встановлено підвищення кількості макрофагів M2-фенотипу. Встановлено вірогідне підвищення клітин з фенотипом CD14+CD163+, CD14+CD206+ та CD14+CD163+CD206+.

Отже, в групі осіб з підвищеним рівнем фібриногену зафіксовано порушення переходу M1-фенотипу макрофагів до фенотипу M2 макрофагів. M1 макрофаги відомі своєю здатністю секретувати прозапальні цитокіни, такі як IL-β, IL-6, IL-12, IL-23 та TNF-α, які є необхідними на ранніх етапах загоєння. Проте постійне збільшення кількості M1 макрофагів призводить до хронічного запалення, ускладнює процеси пошкодження тканин і порушує процеси загоєння і регенерації. Крім того, надмірна запальна реакція негативно впливає на ангіогенез.

У осіб II групи, з нормальним рівнем фібриногену, зафіксовано домінування макрофагів M2-фенотипу. Відомо, що підтип M2 здійснює протизапальну дію та секретує фактори, такі як TGF-β та IL-13. Макрофаги M2a індукуються IL-4

або IL-13, тоді як макрофаги M2b активуються імунними комплексами та агоністами рецепторів TLR (Toll-like receptors) або IL-1. Клітини M2c стимулюються IL-10 та глюкокортикоїдами. Макрофаги M2-фенотипу, включаючи підгрупи M2a та M2c, пов'язані з протизапальними реакціями, які запускають рекрутування, диференціювання та проліферацію клітин, ангіогенез, а також деградацію та абсорбцію біоматеріалу, які сприяють ангіогенезу та регенерації тканин. Однак дані щодо ангіогенного потенціалу різних фенотипів макрофагів суперечливі [7, 16].

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити, що у осіб з ревізійною ринопластиком є порушення процесів гомеостазу, а саме процесу переходу M1-фенотипу макрофагів до фенотипу M2 макрофагів, що може впливати на розвиток ускладнень при ринопластиці. У частини осіб з ревізійною ринопластиком спостерігається переважання протизапального M2-фенотипу макрофагу, що також може впливати на процеси загоєння і регенерації тканин, оскільки не відбувається повернення до рівня цих показників у нормі.

При оцінці показників набутої імунної відповіді вірогідних змін за кількістю CD3+ T-лімфоцитів, CD4+ лімфоцитів, CD8+ лімфоцитів, CD19+ В-лімфоцитів та NK-клітин виявлено не було.

Таким чином, отримані нами результати дозволяють стверджувати, що пацієнтів після ринопластики, у яких виявлено післяопераційні ускладнення у вигляді деформації носу, спостерігається збільшення кількості макрофагів M1-фенотипу, що відображається підвищенням їхнього рівня в периферичній крові та зниженням рівня цитокінів макрофагів M2-фенотипу, що може свідчити про порушення в переключенні фенотипу M1 макрофагів на фенотип M2, що супроводжується хронічним запаленням та порушенням загоєння та приживання хряща. Виявлені відмінності між рівнями цитокінів M1- і M2-фенотипів у пацієнтів з ревізійною ринопластиком потребують подальших досліджень для вивчення їх патогенетичної ролі в розвитку ускладнень у пацієнтів з ринопластиком. Також покращення запального середовища шляхом регулювання статусу активації макрофагів є ефективною стратегією регулювання ангіогенезу. Все більше даних вказує на те, що різні популяції моноцитів і макрофагів відіграють різну роль у відновленні тканин, запальної реакції та фіброзі, і що запальні моноцити та тканинорезидентні макрофаги часто виконують протилежні функції при відновленні пошкоджень тканин.

Висновки:

1. У пацієнтів з ревізійною ринопластикою виявлено порушення процесів гомеостазу, а саме процесу переходу M1-фенотипу макрофагів до фенотипу M2 макрофагів.
2. У пацієнтів з ревізійною ринопластикою, у яких виявлено підвищений рівень фібриногену, спостерігається збільшення рівня фенотипу M1 макрофагів (CD14+CD86+).
3. Рівень макрофагів у пацієнтів з ревізійною ринопластикою, у яких рівень фібриногену в нормі, характеризується підвищенням рівня макрофагів M2-фенотипу макрофагів (CD14+CD163+ та CD14+CD206+).
4. При оцінці стану набутої клітинної імунної відповіді вірогідних змін показників лімфоцитів виявлено не було.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ho TT, Cochran T, Sykes KJ, Humphrey CD, Kriet JD.* Costal and auricular cartilage grafts for nasal reconstruction: an anatomic analysis // *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2017;126(10):706–711.
2. *Danielle F. Eytan, MDa, *, Tom D. Wang, MDb* Complications in Rhinoplasty *Clin Plastic Surg* – (2021) <https://doi.org/10.1016/j.cps.2021.07.009>.
3. *Dean M. Toriumi* Nasal Tip Contouring: Anatomic Basis for Management // *February Facial Plastic Surgery & Aesthetic Medicine* 2020,22(1):10-24 DOI:10.1089/fpsam.2019.29006.tor
4. *Orhan Özturan, Berke Özücer, Wolfgang Gubish.* Rib Grafting In Rhinoplasty // *All Around the Nose: Basic Science: diseases and surgical management, 2020*; pp.911–918
5. *Zhengzheng Song, Yuxi Cheng, Minmin Chen, Xiaoli Xi.* Macrophage polarization in bone implant repair: A review // *Tissue and Cell* Volume 82, June 2023, 102112. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2023.102112>
6. *P.J. Murray.* Macrophage polarization // *Annu Rev. Physiol.*, 79 (2017), pp. 541-566 doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034339
7. *Wenya Li, Zilu Xu, Binghan Zou, Dongcheng Yang, Yue Lu, Xiaohan Zhang, Chen Zhang, Yanzhao Li, Chuhong Zhu.* Macrophage regulation in vascularization upon regeneration and repair of tissue injury and engineered organ transplantation // *Fundamental Research*, 2024, 11;22:35 doi.org/10.1016/j.fmre.2023.12.015
8. *Karen E Martina, Andrés J Garcíaa,* Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response: implications for biomaterial-based regenerative medicine strategies // *Acta Biomater.* 2021 October 01; 133: 4–16. doi:10.1016/j.actbio.2021.03.038/
9. *Lech M, Anders H-J,* Macrophages and fibrosis: How resident and infiltrating mononuclear phagocytes orchestrate all phases of tissue injury and repair, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1832(7) (2013) 989–997. [PubMed: 23246690].
10. *Wynn TA, Vannella KM,* Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis, *Immunity* 44(3) (2016) 450–462. [PubMed: 26982353].
11. *Braga TT, Agudelo JSH, Camara NOS,* Macrophages During the Fibrotic Process: M2 as Friend and Foe, *Frontiers in immunology* 6(2015) 602–602. [PubMed: 26635814].
12. *Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ,* Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing, *International journal of molecular sciences* 18(7) (2017) 1545.
13. *Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ, Post MJ, De Winther MP, Donners MM,* Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo, *Angiogenesis* 17(1) (2014) 109–118. [PubMed: 24013945].
14. *Madsen DH, Leonard D, Masedunskas A, Moyer A, Jürgensen HJ, Peters DE, Amornphimoltham P, Selvaraj A, Yamada SS, Brenner DA,* M2-like macrophages are responsible for collagen degradation through a mannose receptor-mediated pathway, *Journal of Cell Biology* 202(6) (2013) 951–966.
15. *Журавель О.Ю., Запорожець Т.Ю., Храпач В.В.* Клініко-лабораторна оцінка стану пацієнтів з ревізійною ринопластикою // *Імунологія та алергологія: наука і практика, 2024.-№1.С.54-60.* doi: 10.37321/immunology.2024.1-08.
16. *Siqueira Mietto et al.* (2015) Siqueira Mietto B, Kroner A, Girolami El, Santos-Nogueira E, Zhang J, David S. Role of IL-10 in resolution of inflammation and functional recovery after peripheral nerve injury. *Journal of Neuroscience.* 2015;35:16431–16442. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2119-15.2015.

РЕЗЮМЕ

ОЦІНКА ФЕНОТИПІВ M1 ТА M2 МАКРОФАГІВ
ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КЛІТИННОГО
ІМУНІТЕТУ У ПАЦІЄНТІВ З РЕВІЗІЙНОЮ
РИНОПЛАСТИКОЮ

ЖУРАВЕЛЬ О.Ю., ЗАПОРОЖЕЦЬ Т.Ю., ХРАПАЧ В.В.

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
м. Київ, Україна

Вступ. Післяопераційні деформації вважаються основним ризиком ринопластики. Сучасні дослідження зосереджуються на аналізі імунологічних аспектів запальної реакції, що відбувається під час трансплантації.

Метою нашої роботи було провести оцінку стану набутого та вродженого клітинного імунітету, зокрема M1- та M2-фенотипу макрофагів у пацієнтів з ревізійною ринопластикою.

Матеріали і методи. Під наглядом знаходилося 63 пацієнти, яким було проведено ревізійну ринопластику з використанням реберного трансплантату. Для подальших досліджень пацієнти були розділені на дві групи за рівнем фібриногену. Усім пацієнтам проводили оцінку рівня M1 макрофагів (CD14+CD80+ і CD14+CD86+) та M2 макрофагів CD14+CD163+ і CD14+CD206+. Оцінку стану системної імунної відповіді проводили за рівнем CD3+ Т-лімфоцитів, CD4+-лімфоцитів, CD8+-лімфоцитів, CD19+- В-лімфоцитів та NK-лімфоцитів з використанням методу проточної цитометрії.

Результати. У пацієнтів з ревізійною ринопластикою, у яких виявлено підвищений рівень фібриногену, спостерігається збільшення рівня фенотипу M1 макрофагів (CD14+CD86+). Рівень макрофагів у пацієнтів з ревізійною ринопластикою, у яких рівень фібриногену в нормі, характеризується підвищенням рівня макрофагів M2 фенотипу макрофагів (CD14+CD163+ та CD14+CD206+). При оцінці стану набутої клітинної імунної відповіді вірогідних змін показників лімфоцитів виявлено не було.

Висновки. У пацієнтів з ревізійною ринопластикою виявлено порушення процесів гомеостазу, а саме процесу переходу M1-фенотипу макрофагів до фенотипу M2 макрофагів. Виявлені відмінності потребують подальших досліджень для вивчення їх патогенетичної ролі в розвитку ускладнень у пацієнтів з ринопластикою. Розуміння молекулярних механізмів, які регулюють активацію та поляризацію макрофагів та лімфоцитів може дати нове розуміння патогенезу розвитку післяопераційних ускладнень для пошуку подальших потенційних терапевтичних цілей з метою запобігання розвитку ускладнень після ринопластики.

Ключові слова: ревізійна ринопластика, M1-, M2-макрофаги, лімфоцити.

SUMMARY

EVALUATION OF M1 AND M2 PHENOTYPES OF
MACROPHAGES AND THE FUNCTIONAL STATE OF
CELLULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH REVISION
RHINOPLASTY

ZHURAVEL O. YU., ZAPOROZHETS T. YU., KHRAPACH V. V.

Bogomolets National Medical University

Kyiv, Ukraine

Introduction. Postoperative deformations are considered the main risk of rhinoplasty. Current research focuses on the analysis of immunological aspects of the inflammatory response that occurs during transplantation. The aim of our work was to assess the state of acquired and innate cellular immunity, in particular M1 and M2 phenotype of macrophages in patients with revision rhinoplasty.

Materials and methods. Patients (63 persons) who underwent revision rhinoplasty using a rib graft were under supervision. For further studies, patients were divided into two groups according to the level of fibrinogen. All patients were evaluated for the level of M1 and macrophages (CD14+CD80+ and CD14+CD86+) and M2 macrophages CD14+CD163+ and CD14+CD206+. The state of the systemic immune response was assessed by the level of CD3+ T-lymphocytes, CD4+-lymphocytes, CD8+-lymphocytes, CD19+- B-lymphocytes and NK-lymphocytes using the flow cytometry method.

Results. In patients with revision rhinoplasty, in whom an increased level of fibrinogen was found, an increase in the level of the M1 phenotype of macrophages (CD14+CD86+) was observed. The level of macrophages in patients with revision rhinoplasty, in whom the level of fibrinogen is normal, is characterized by an increase in the level of M2 macrophages of the macrophage phenotype (CD14+CD163+ and CD14+CD206+). When assessing the state of the acquired clinical immune response, no probable changes in lymphocyte indicators were detected.

Conclusions. In patients with revision rhinoplasty, a violation of the processes of homeostasis, namely the process of the transition of the M1 phenotype of macrophages to the M2 phenotype of macrophages, was found. The identified differences require further research to study their pathogenetic role in the development of complications in rhinoplasty patients. Understanding the molecular mechanisms that regulate the activation and polarization of macrophages and lymphocytes may provide new insight into the pathogenesis of postoperative complications in order to find further potential therapeutic targets to prevent the development of complications after rhinoplasty.

Key words: revision rhinoplasty, M1-, M2-macrophages, lymphocytes.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Журавель Олексій Юрійович**

Аспірант кафедри Пластичної та реконструктивної хірургії Інституту післядипломної освіти НМУ ім. О.О. Богомольця
Адреса: м. Київ, вул. Золотоустівська, 34
Телефон: (097)816-24-95
E-mail: mdzhuravel@gmail.com

- **Запорожець Тетяна Юрївна**

Асистентка кафедри Пластичної та реконструктивної хірургії Інституту післядипломної освіти НМУ ім. О.О. Богомольця
Адреса: м. Київ, вул. Золотоустівська, 34
Телефон: (050)624-15-78
E-mail: doc.zaporozhets@gmail.com

- **Храпач Василь Васильович**

Професор, завідувач кафедри Пластичної та реконструктивної хірургії Інституту післядипломної освіти НМУ ім. О.О. Богомольця
Адреса: м. Київ, вул. Золотоустівська, 34
Телефон: (098)213-39-92
E-mail: 220961@gmail.com

- **Zhuravel Oleksii**

Postgraduate student of the Department of Plastic and Reconstructive Surgery of the Institute of Postgraduate Education of Bogomolets NMU
Address: Kyiv, str. Zolotoustivska, 34
Tel.: (097)816-24-95
E-mail: mdzhuravel@gmail.com

- **Zaporozhets Tetiana**

Assistant of the Department of Plastic and Reconstructive Surgery of the Institute of Postgraduate Education of Bogomolets NMU
Address: Kyiv, str. Zolotoustivska, 34
Tel.: (050)624-15-78
E-mail: doc.zaporozhets@gmail.com

- **Khrapach Vasyi**

Professor, head of the Department of Plastic and Reconstructive Surgery of the Institute of Postgraduate Education of Bogomolets NMU
Address: Kyiv, str. Zolotoustivska, 34
Tel.: (098)213-39-92
E-mail: 220961@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 13.05.2024 р.

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ДОРΟΣЛИХ ХВОРИХ НА ВІТРЯНУ ВІСПУ

¹ВОЛОБУЄВА О.В., ¹ДОРОШ Д.М., ¹ПАВЛІКОВА К.В.,
²СЕВАСТЬЯНОВА Т.В., ¹ГРЕК І.І., ¹КУШНІР В.Б.

¹Кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології,
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
м. Харків, Україна

²Кафедра хімії та фармації, Медичний факультет Херсонського державного університету
м. Херсон, Україна

Вступ. Останніми роками у дослідників всього світу викликає винятковий інтерес вивчення ролі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи (АОС) у хворих на інфекційні захворювання, а також дослідження їх внеску в патогенез інфекційних захворювань та розвиток їх ускладнень. Зокрема, встановлено інтенсифікацію вільнорадикального окислення ліпідів та поглиблення антиоксидантного дефіциту в патогенезі розвитку сальмонельозу [34], вірусних гепатитів [1, 6, 40], псевдотуберкульозу, ієрсиніозу [14], бешихи [8], дифтерії [20], інфекційного мононуклеозу [35] та виявлено, що ці зміни корелюють з тяжкістю захворювання. Надмірне накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів у хворих інфекційного профілю призводить до затяжного перебігу захворювання та розвитку різноманітних ускладнень [4, 31]. Однак, стан перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту у хворих на вітряну віспу (ВВ) недостатньо висвітлено в сучасній науковій літературі.

Матеріали та методи. У нашому дослідженні було обстежено 240 хворих на вітряну віспу (142 жінки та 98 чоловіків) віком від 18 до 40 років, які перебували на стаціонарному лікуванні в КНП ХОР «Харківська обласна клінічна інфекційна лікарня» з 2017 по 2024 роки і склали основну групу дослідження. До контрольної групи увійшло 30 осіб. Діагностовано легкий перебіг вітряної віспи у 82 (34,2%) хворих, середньої тяжкості – у 143 (59,6%) та тяжкої у 14 (6,4%) хворих. Вітряну віспу діагностовано за допомогою клінічних, серологічних та молекулярно-генетичних методів. Оцінку стану ПОЛ у хворих на вітряну віспу ґрунтували на визначенні сироваткових дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА) та загальної окисної активності (ЗОА) плазми крові [39]. Статус АОС визначали за загальною антиоксидантною здатністю плазми крові та еритроцитів, активністю каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази,

глутатіонредуктази еритроцитів, глутатіонпероксидази крові, глутатіонредуктази плазми крові, вмісту загального глутатіону, окислювального та відновлювального глутатіону в плазмі крові [15, 16, 29]. Обстеження хворих на вітряну віспу проводили в гострий період захворювання, після нормалізації температури тіла і перед випискою зі стаціонару.

Всі хворі отримували стандартну терапію, яка включала протівірусні препарати (ацикловір, валацикловір), реосорбілакт, антраль, дезлоратадин, антибактеріальні препарати (при необхідності).

Результати. Аналіз отриманих клінічних даних показав, що до особливостей перебігу ВВ у дорослих слід віднести продромальний період тривалістю до двох діб, який відзначався у 75% хворих. У цей час у них були скарги на головний біль, біль у попереку, загальне нездужання, нудота, підвищення температури тіла до 38-39°C. У деяких хворих з'являвся висип на шкірі в області грудей, рідше – на верхніх кінцівках та обличчі. При цьому пацієнти відчували сильний свербіж. У 95% їх клініка розвивалася гостро, коли підвищувалася температура тіла до 38-39°C, з'являлися ясні висипання на обличчі, кінцівках, тулубі, волосистій частині голови. У 65% хворих відзначалася енантема на слизовій оболонці порожнини рота та мигдаликах.

Екзантеми при ВВ виникали не одномоментно, а протягом двох-трьох днів, що супроводжувалося лихоманкою, лімфаденопатією, інтоксикацією та погіршенням загального стану (головний біль, нудота, блювання). В аналізі крові спостерігалися лейко- та нейтропенія, відносний лімфоцитоз, помірно підвищена швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ).

У 82 хворих з легким перебігом ВВ температура тіла підвищувалася до 37,5-38°C, у них з'являлися нерясні висипання, були відсутні інтоксикація та будь-які ускладнення. За середнього ступеня тяжкості захворювання темпера-

тура тіла підвищувалася до 38-39°C, виникали виражена інтоксикація та рясні висипання на шкірі та слизових. Тяжка форма ВВ відрізнялася температурою до 39,5-40°C, дуже рясним висипом на шкірі та слизових, вираженою інтоксикацією. У хворих із середньотяжким та тяжким перебігом ВВ часто розвивалися такі ускладнення, як міокардити, пневмонії, піодермії, васкуліти, алергічні реакції.

У міру погіршення стану в крові хворих достовірно зростав вміст сіалових кислот ($p < 0,001$), фібриногену ($p < 0,001$), С-реактивного протеїну

($p < 0,001$) та активність аланінової трансамінази ($p < 0,001$), що свідчило про гостроту патологічного процесу.

Результати вивчення показників окисної та антиоксидантної систем у хворих на ВО (Табл. 1) говорять про те, що в міру наростання тяжкості захворювання статистично достовірно підвищується вміст у крові первинних (ДК) та вторинних (МДА) перекисів ліпідів ($p < 0,001$, $p < 0,001$), загальна окисна активність плазми крові ($p < 0,001$), що вказує на активацію ПОЛ у цих хворих.

Таблиця 1

Показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у хворих на вітряну віспу ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група, (n=30)	Тяжкість перебігу ВВ у хворих основної групи, n=240		
		легкий (n=84)	середньотяжкий (n=143)	тяжкий (n=15)
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	1,2±0,02	2,2±0,04 $p < 0,01$	3,6±0,03 $p < 0,01$	4,8±0,09 $p < 0,01$
Малоновий діальдегід, мкмоль/л	0,35±0,01	1,5±0,038 $p < 0,001$	3,6±0,05 $p < 0,01$	4,9±0,06 $p < 0,01$
Загальна окисна активність плазми, %	4,3±0,3	6,4±0,4 $p < 0,01$	8,6±0,48 $p < 0,01$	11,6±0,6 $p < 0,001$
Загальна антиокислювальна активність плазми, %	8,2±0,8	11,6±1,2 $p < 0,05$	6,6±0,9 $p < 0,01$	4,0±0,5 $p < 0,001$
Загальна антиокислювальна активність еритроцитів, %	41,5±1,2	49,6±1,3 $p < 0,001$	30,5±1,4 $p < 0,001$	23,6±1,8 $p < 0,001$
Активність каталази еритроцитів, мкмоль/хв. мг білка	67,2±2,6	75,4±1,8 $p < 0,001$	39,2±1,9 $p < 0,001$	25,6±1,5 $p < 0,001$
Активність супероксиддисмути еритроцитів, од/мг Нв	63,8±2,3	70,6±1,7 $p < 0,001$	45,8±1,5 $p < 0,001$	35,8±1,6 $p < 0,001$
Глутатіон крові загальний, ммоль/л	990,0±9,4	1216,5±7,5 $p < 0,01$	826,2±6,9 $p < 0,001$	613,5±5,7 $p < 0,001$
Глутатіон крові окисний, ммоль/л	50,4±4,7	92,5±6,0 $p < 0,001$	226,5±5,3 $p < 0,001$	268,5±6,4 $p < 0,001$
Глутатіон крові відновлювальний, ммоль/л	940,5±8,3	1020,2±8,6 $p < 0,05$	638,3±9,4 $p < 0,001$	350,4±3,8 $p < 0,001$
Активність глутатіонпероксидази еритроцитів, мкмоль/л хв.	183,8±5,6	194,5±6,5 $p < 0,05$	135,2±5,8 $p < 0,01$	107,5±4,5 $p < 0,001$
Активність глутатіонпероксидази плазми, мкмоль/л хв.	3,1±0,13	5,0±0,16 $p < 0,05$	2,0±0,08 $p < 0,001$	1,2±0,05 $p < 0,001$
Активність глутатіонредуктази плазми, од./л	2,0±0,02	3,1±0,06 $p < 0,001$	1,7±0,03 $p < 0,001$	0,8±0,02 $p < 0,001$
Активність глутатіонредуктази еритроцитів, од./л	73,7±2,6	98,7±1,9 $p < 0,001$	73,5±2,1 $p < 0,001$	57,6±1,8 $p < 0,001$

Примітка: достовірність відмінностей p порівняно з попередньою групою.

Виявлено високий кореляційний зв'язок ($r=0,62$, $r=0,67$) між вмістом у крові ДК і МДА, з одного боку, і загальною окисною активністю плазми крові – з іншого, що свідчить про тісний зв'язок між підвищенням оксидантної активності плазми крові та утворенням первинних та вторинних продуктів ПОЛ.

Активация ПОЛ у хворих на ВВ з легким перебігом супроводжується активацією антиокислю-

вальної системи, про що свідчить статистично достовірне підвищення загальної антиокислювальної активності плазми крові ($p < 0,05$) та еритроцитів ($p < 0,001$), активацією антиперекисних ферментів еритроцитів – каталази, супероксиддисмути ($p < 0,01$), глутатіонпероксидази ($p < 0,05$) та системи глутатіону. У більшості пацієнтів у крові підвищується вміст загального, окисленого та відновного глутатіону, відбува-

ється активація глутатіонпероксидази плазми та еритроцитів, глутатіонредуктази плазми. Отже, у хворих на ВВ з легким перебігом у відповідь на ПОЛ відбувається активація антиперекисної системи, що включає антиокислювальні ферменти (каталазу, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу) і глутатіон, що сприяє нормалізації концентрації в крові ДК та МДА на 7-10-й день захворювання, а активність антиокислювальних ферментів зберігається підвищеною до 15-20-го дня хвороби.

У хворих із середньотяжким та тяжким перебігом відбувається достовірне підвищення в крові концентрації ДК та МДА, окисної активності плазми крові, зниження антиокислювальної активності плазми крові та еритроцитів, що пов'язано з пригніченням активності антиокислювальних ферментів еритроцитів – каталази, супероксиддисмутази, глутатіонредуктази зі зменшенням концентрації глутатіону в крові. При цьому вміст у крові окисленого глутатіону збільшується, а відновного – зменшується у зв'язку з пригніченням активності глутатіонредуктази плазми та еритроцитів.

Таким чином, у хворих на ВВ із середньотяжким та тяжким перебігом розвивається виражений дисбаланс між станом оксидантної системи та АОС, що супроводжується посиленням вільнорадикального окиснення жирних кислот, накопиченням підвищеної концентрації ДК та МДА, що мають токсичні властивості [29, 35]. Розвивається також виражений дефіцит глутатіону, який у нормі інактивує вільні радикали [27], що може негативно впливати на перебіг хвороби та провокувати її ускладнення.

У процесі проведення комплексної терапії у хворих на ВВ із середньотяжким та тяжким перебігом, у міру зменшення клінічних проявів хвороби, в крові поступово зменшувався вміст ДК та МДА та знижувалася окислювальна активність плазми, що супроводжувалося підвищенням антиоксидантної активності плазми та еритроцитів, активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіону, плазми крові та еритроцитів. Нормалізація цих показників відбувалася на 20-30-й день лікування.

Обговорення. ПОЛ є одним із найважливіших біологічних процесів, який постійно відбувається в організмі людини і бере активну участь у процесах адаптації, антиінфекційного захисту, видаленні ендо- та екзотоксинів, пухлинних клітин та руйнуванні тканин, регуляції тону судин, проникності клітинних мембран та судинної стінки, гемостазу тощо [26, 33, 39]. За нормальних умов ПОЛ є постійно в усіх клітинах на край низькому рівні, що забезпечує регуляцію структури та функції клітинних мембран [9,

25, 26]. Найбільш реактивними в цьому відношенні є клітини моноцитарно-макрофагальної системи, купферівські клітини печінки, альвеолярні макрофаги, макрофаги сполучної тканини, клітини Лангерганса, остеокласти, аastroцити глії, які активуються при дії інфекції, антитіл, антигенів, С-реактивного протеїну, компонентів комплементу [3, 5, 18, 21, 30].

У лізосомах гранулоцитів міститься фермент НАД, НАДФ-оксидаза, яка активується у процесі фагоцитозу та каталізує процес відновлення молекулярного кисню з утворенням кисню з непарним електроном. Внутрішньоклітинний фермент супероксиддисмутази пов'язує цей кисень з воднем і при цьому утворюється перекис водню, який потім розщеплюється каталазою та глутатіонпероксидазою з утворенням гідроксидного та гідропероксидного радикалів, які інактивують глутатіон [7, 12, 19, 32, 37]. При цьому він перетворюється на окиснену форму, а під впливом ферменту глутатіонредуктази перетворюється на відновлений глутатіон і забезпечує зв'язування гідроксиду ліпідів. Глутатіонпероксидаза і глутатіонтрансфераза здатні відновлювати гідроперекиси – групи окислених фосфоліпідів безпосередньо в мембранах клітин без попереднього гідролізу їх фосфоліпазою або вільними жирними кислотами [2, 11, 17, 22].

Отже, глутатіон та ферменти його метаболізму є одним з найбільш важливих універсальних захисних механізмів та центральною ланкою гомеостатичної системи організму, які відіграють першорядну роль у формуванні резистентності організму до агресивних факторів [7, 11, 22, 37].

Глутатіон утворюється в печінці, і до його складу входять глутамінова кислота, цистеїн та гліцин. Глутатіон має функціональну групу SH, є донатором водню, тому бере участь в окислювально-відновних реакціях [39].

Антиоксидантні ферменти зазвичай підтримують вільнорадикальне окиснення на безпечному рівні. Вони відновлюють кисень до менш активних форм, а також пригнічують утворення NO-, NO₂-, H₂O₂, і руйнують надлишкову кількість гідроксиду ліпідів [13, 36, 38]. Таким чином, враховуючи, що у хворих на ВВ спостерігалися високі рівні NO та H₂O₂ [24], пошук методів корекції порушень антиоксидантного захисту у хворих на вітряну віспу є перспективним.

Система ПОЛ добре збалансована і працює за принципом зворотного зв'язку, оскільки продукти ПОЛ пригнічують активність антиоксидантних ферментів. Проте активація ПОЛ у хворих на вітряну віспу з легким перебігом супроводжується підвищенням активності каталази,

супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та концентрації в крові відновленого глутатіону, який зв'язує та окислює первинні та вторинні гідроксиди ліпідів, що сприяє значному прискоренню процесів відновлення активності антиоксидантних ферментів антиоксидантної активності плазми крові та еритроцитів.

Активация ПОЛ у хворих на вітряну віспу середнього та тяжкого ступеня призводить до глибокого пригнічення активності антиперекисної системи, а її нормалізація відбувається у сповільненому темпі протягом тривалого часу.

Виявлене нами зниження активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази в плазмі крові та еритроцитах, концентрації загального та відновленого глутатіону в крові у хворих на ВВ із середньотяжким та тяжким перебігом свідчить про глибоке порушення функціонування різних ланок АОС. Це сприяє підвищеному утворенню в клітинах активних форм кисню, гідроксидних радикалів, перекису водню, що викликають окислення ненасичених жирних кислот мембран клітин і утворення первинних і вторинних гідроперекисів ліпідів, які токсично впливають не тільки на вірус ВВ, але і на інші клітинні структури.

Ліпоперекиси ліпідів мають високу реактивну здатність і можуть пригнічувати активність каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази і викликати деструкцію SH-вмісних сполук, деполімеризацію ДНК, викликати спазм судин, підвищувати проникність клітинних мембран, підвищувати проникність клітинних мембран, ушкодження ендотелію, підвищувати агрегацію тромбоцитів [13, 23, 26, 28]. Крім того, встановлено, що в клітинах, інфікованих ВПГ-1, порушується баланс кисневого обміну, а саме спостерігається підвищення рівня продукту перекисного окиснення ліпідів МДА [10].

Токсичними властивостями володіє і окислений глутатіон, який накопичується в тканинах у хворих на ВВ із середньотяжким і тяжким перебігом внаслідок зниження активності глутатіонредуктази. Окислений глутатіон інактивує мембранну аденозинтрифосфатазу, гексокіназу, глюкозо-6-дегідрогеназу, гальмує фосфорильовання та ядерний синтез РНК, інгібує синтез білка за рахунок утворення білок-тіолово-глутатіонових зшивок [26, 35].

Наше дослідження показало, що у хворих на вітряну віспу в гострому періоді захворювання підвищується частота ПОЛ і знижується активність АОС. Ці процеси стають більш вираженими в міру наростання тяжкості захворювання. Зниження активності антиоксидантних ферментів

і порушення функціонування глутатіонової системи у хворих на вітряну віспу середнього та тяжкого перебігу призводить до порушення захисних механізмів. Внаслідок цього відбувається посилення вільнорадикальних ланцюгових реакцій і їх неконтрольоване зростання викликає незворотне пошкодження мембран різних клітин, що лежить в основі вісцеропатій у хворих на вітряну віспу.

Таким чином, у хворих на вітряну віспу знижується адаптивна здатність антиоксидантних ферментів. Це може бути наслідком первинного або вторинного ферментного дефекту внаслідок токсичної дії на ферменти активних форм кисню та гідроперексидів ліпідів.

Висновки.

Результати даного дослідження дозволяють зробити такі висновки:

- 1) у хворих на ВВ у міру зростання тяжкості захворювання в крові достовірно підвищуються концентрація сіалових кислот, фібриногену, С-реактивного протеїну та активність аланінової трансамінази, що свідчить про гостроту патологічного процесу;
- 2) у таких пацієнтів у гострий період ВВ активується ПОЛ, що супроводжується підвищенням окисної активності плазми крові, вмісту в крові ДК та МДА;
- 3) у хворих з легким перебігом у гострий період відбувається активация антиперекисної системи, про що свідчать підвищення загальної антиокислювальної активності плазми крові та еритроцитів, підвищення активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази плазми крові та концентрації;
- 4) у пацієнтів із середньотяжким та тяжким перебігом хвороби в гострий період відбувається гіперактивація ПОЛ та накопичення в крові надлишкової кількості первинних та вторинних гідроперекисів жирних кислот, що супроводжується зниженням антиокислювальної активності плазми крові та еритроцитів, активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази плазми крові та еритроцитів і свідчить про дисбаланс, що розвивається, між окислювальною системою і АОС у цієї групи хворих;
- 5) для хворих на ВВ активні форми кисню та гідроперекису ліпідів відіграють важливу роль у пошкодженні печінки та розвитку цитолітичного синдрому.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Alavian SM, Showraki A.* Hepatitis B and its relationship with oxidative stress. *Hepatitis monthly.* 2016 Sep; 16(9).
2. *Allocati N, Masulli M, Di Ilio C, Federici L.* Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis.* 2018 Jan 24; 7(1):1-5.
3. *Bhattacharya S.* Reactive oxygen species and cellular defence system. In *Free radicals in human health and disease 2015* (pp. 17-29). Springer, New Delhi.
4. *Bwititi PT, Chinkwo K.* Oxidative stress markers in infectious respiratory diseases: current clinical practice. *Int J Res Med Sci.* 2016 Jun; 4:1802-3.
5. *Conti V, Corbi G, Simeon V, Russomanno G, Manzo V, Ferrara N, Filippelli A.* Aging-related changes in oxidative stress response of human endothelial cells. *Aging clinical and experimental research.* 2015 Aug 1; 27(4):547-53.
6. *Darenskaya MA, Grebenkina LA, Sholokhov LF, Rashidova MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI.* Lipid peroxidation activity in women with chronic viral hepatitis. *Free Radical Biology and Medicine.* 2016 Nov 1; 100:S192.
7. *Dua A, Kaur N, Gupta P, Mittal A, Gupta SK.* Oxidative stress induced cell damage and antioxidant enzyme response in human lymphocytes. *Int. J. Pharm. Biol. Arch.* 2017; 8:33-9.
8. *Emene PE, Kravchenko IE, Aibatova GI, Rizvanov AA.* Antioxidant system gene polymorphism in patients with erysipelas and their role in the development of the disease. *Genes and cells.* 2015; 10(4):S118-122.
9. *Gaschler MM, Stockwell BR.* Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and biophysical research communications.* 2017 Jan 15; 482(3):419-25.
10. *Georgieva A, Vilhelmova N, Muckova L, Tzvetanova E, Alexandrova A, Mileva M.* Alterations in oxidative stress parameters in MDBK cells, infected by herpes simplex virus-1. *Comptes rendus de l'Acad mie bulgare des Sciences.* 2017 Jan 1; 70(5).
11. *Griffiths HR, Gao D, Pararasa C.* Redox regulation in metabolic programming and inflammation. *Redox biology.* 2017 Aug 1; 12:50-7.
12. *Ighodaro OM, Akinloye OA.* First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018 Dec 1; 54(4):287-93.
13. *Ighodaro OM, Akinloye OA.* First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018 Dec 1; 54(4):287-93.
14. *Isberg RR.* Internalization of Microbial Pathogens by Integrin Receptors and the Binding of the Yersinia pseudotuberculosis Invasin Protein. In *Integrins–The Biological Problems 2017* Nov 22 (pp. 197-216). CRC Press.
15. Karpishchenko L.I. Reference book. Medical laboratory equipment. SPb.: "Intermedika". 2002:245s.
16. *Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Rashidova MA, Sholokhov LF, Grebenkina LA, Vanteeva OA.* The state of lipid peroxidation in women of reproductive age, patients with acute viral hepatitis. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016; 71 (1).
17. *Lankin VZ, Sharapov MG, Goncharov RG, Tikhaze AK, Novoselov VI.* Natural dicarbonyls inhibit peroxidase activity of peroxiredoxins. In *Doklady Biochemistry and Biophysics 2019* Mar 1 (Vol. 485, No. 1, pp. 132-134). Pleiades Publishing.
18. *Lara-Guzmán OJ, Gil-Izquierdo Á, Medina S, Osorio E, Álvarez-Quintero R, Zuluaga N, Oger C, Galano JM, Durand T, Muñoz-Durango K.* Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages. *Redox biology.* 2018 May 1; 15:1-1.
19. *Lu L, Wang S, Fu L, Liu D, Zhu Y, Xu A.* Bilobalide protection of normal human melanocytes from hydrogen peroxide-induced oxidative damage via promotion of antioxidant expression and inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Clinical and experimental dermatology.* 2016 Jan; 41(1):64-73.
20. *Mayer K, Mundigl O, Kettenberger H, Birzele F, Stahl S, Pastan I, Brinkmann U.* Diphthamide affects selenoprotein expression: Diphthamide deficiency reduces selenocysteine incorporation, decreases selenite sensitivity and pre-disposes to oxidative stress. *Redox biology.* 2019 Jan 1; 20: 146-56.
21. *McMurray F, Patten DA, Harper ME.* Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity—recent findings and empirical approaches. *Obesity.* 2016 Nov; 24(11):2301-10.
22. *Mead JF, Stein RA, Wu GS.* Metabolic Fate of Peroxidation Products. *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms.* 2019 Jul 17; 1.

23. Muriel P. Peroxidation of lipids and liver damage. In Oxidants, antioxidants and free radicals 2017 Nov 1 :S237-257). Routledge.
24. Nasiri S, Hedayati M, Riahi SM, Robati RM, Khazan M. Elevated serum nitric oxide and hydrogen peroxide levels as potential valuable predictors of herpes zoster. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2018 Jun 1; 11(6):381.
25. Pawluk H, Pawluk R, Robaczewska J, K dziora-Kornatowska K, K dziora J. Biomarkers of antioxidant status and lipid peroxidation in elderly patients with hypertension. Redox Report. 2017 Nov 2; 22(6):542-6.
26. Polozova EI, Trokhina IE, Kurkina NV, Gorshenina EI. Estimation of efficiency of application of combined therapy in complex treatment of duodenal ulcer. Modern problems of science and education. 2017 (3):S67.
27. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. Trends in pharmacological sciences. 2017 Jul 1; 38(7):592-607.
28. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. Trends in pharmacological sciences. 2017 Jul 1; 38(7):592-607.
29. Putilina FE. Determination of glutathione reductase activity. Methods of biochemical research, ed. MI Prokhorova. 1982: 181-6.
30. Radak Z, Suzuki K, Higuchi M, Balogh L, Boldogh I, Koltai E. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. Free Radical Biology and Medicine. 2016 Sep 1; 98: 187-96.
31. Ramana KV, Srivastava S, Singhal SS. Lipid peroxidation products in human health and disease 2016. Oxidative medicine and cellular longevity. 2017;2017.
32. Ruiz-Ojeda FJ, Gomez-Llorente C, Aguilera CM, Gil A, Rup rez AI. Impact of 3-amino-1, 2, 4-triazole (3-AT)-derived increase in hydrogen peroxide levels on inflammation and metabolism in human differentiated adipocytes. PLoS One. 2016 Mar 29; 11(3):e0152550.
33. Saveris MJ, Mayakova EI. Estimation of efficiency of application of combined therapy in complex treatment of duodenal ulcer. In Tomorrow's Medicine 2018:S43-44.
34. Schjrmann N, Forrer P, Casse O, Li J, Felmy B, Burgener AV, Ehrenfeuchter N, Hardt WD, Recher M, Hess C, Tschan-Plessl A. Myeloperoxidase targets oxidative host attacks to Salmonella and prevents collateral tissue damage. Nature microbiology. 2017; 2:16268.
35. Shustval MF, Lyadova TI, Volobueva OV, Pavlikova KV, Gamilovskaya AP. State of lipid peroxidation and oxidant system in patients with infectious mononucleosis // Bulletin of the VN Kharkiv National University Karazin, series "Medicine". 2018; 30:S33-40.
36. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. Annual review of biochemistry. 2017 Jun 20; 86:715-48.
37. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. Redox biology. 2017 Apr 1; 11:613-9.
38. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox biology. 2015 Apr 1; 4:180-3.
39. Tuktanov NV, Kichigin VA. Features of lipid peroxidation in case of impaired thyroid function. Bulletin of the Chuvash University. 2013 (3).
40. Yamane D, Lemon SM. Lipid Peroxidation and Hepatitis C Virus Replication. In Hepatitis C Virus I. Springer, Tokyo. 2016. S235-253.

РЕЗЮМЕ

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ДОРОСЛИХ ХВОРИХ НА ВІТРЯНУ ВІСПУ

¹ВОЛОБУЄВА О.В., ¹ДОРОШ Д.М., ¹ПАВЛІКОВА К.В.,
²СЕВАСТЬЯНОВА Т.В., ¹ГРЕК І.І., ¹КУШНІР В.Б.

¹Кафедра інфекційних хвороб та клінічної імунології
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
м. Харків, Україна

²Кафедра хімії та фармації
Медичний факультет Херсонського державного університету
м. Херсон, Україна

Мета дослідження — оцінити в динаміці стан перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у дорослих хворих на вітряну віспу залежно від тяжкості захворювання.

Матеріали та методи. В поточне дослідження було відібрано 240 хворих на вітряну віспу (142 жінки та 98 чоловіків) віком від 18 до 40 років. До контрольної групи увійшло 30 осіб. Вітряну віспу було діагностовано за допомогою клінічних, серологічних та молекулярно-генетичних методів. Оцінку стану перекисного окислення ліпідів у хворих на вітряну віспу ґрунтували на визначенні сироваткових дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду та загальної окисної активності плазми крові.

Результати. Це дослідження продемонструвало, що у дорослих хворих на вітряну віспу в гострому періоді захворювання посилюється процес перекисного окислення ліпідів і знижується активність антиоксидантної системи. Нами було встановлено, що у пацієнтів даної групи у міру погіршення клінічних проявів достовірно підвищується активність перекисного окислення ліпідів і знижується активність антиоксидантної системи,

що відіграє важливу роль у розвитку цитолітичного синдрому.

Висновки. Зниження активності антиоксидантних ферментів і порушення функціонування глутатіонової системи у хворих на вітряну віспу стають більш вираженими в міру зростання тяжкості захворювання. Внаслідок цього відбувається посилення вільнорадикальних ланцюгових реакцій і їх неконтрольоване зростання викликає незворотне пошкодження мембран різних клітин, що лежить в основі вісцеропатій у хворих на вітряну віспу.

Ключові слова: вірус Варіцелла-зостер, вітряна віспа, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, система глутатіону, показники крові.

SUMMARY

INVESTIGATION OF LIPID PEROXIDATION STATUS IN ADULT CHICKENPOX PATIENTS

¹VOLOBUIEVA O., ¹DOROSH D., ¹PAVLIKOVA K.,
²SEVASTYANOVA T., ¹GREK I., ¹KUSHNIR V.

¹Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology
V.N. Karazin Kharkiv National University
Kharkiv, Ukraine

²Department of Chemistry and Pharmacy
Faculty of Medicine Kherson State University
Kherson, Ukraine

The purpose of the study is to evaluate the dynamics of the state of lipid peroxidation and the antioxidant system in adult patients with chicken pox, depending on the severity of the disease.

Materials and methods. 240 chickenpox patients (142 women and 98 men) aged 18 to 40 years were selected for the current study. The control group included 30 people. Chickenpox was diagnosed using clinical, serological and molecular genetic methods. The assessment of the state of lipid peroxidation in chickenpox patients was based on the determination of serum diene conjugates, malondialdehyde and total oxidative activity of blood plasma.

Results. This study demonstrated that in adult patients with chicken pox, the process of lipid peroxidation increases and the activity of the antioxidant system decreases in the acute period of the disease. We found that in patients of this group, as the clinical manifestations worsen the activity of lipid peroxidation increases significantly and the activity of the antioxidant system decreases, which plays an important role in the development of cytolytic syndrome.

Conclusions. Decreased activity of antioxidant enzymes and impaired functioning of the glutathione system in patients with chickenpox become more pronounced as the severity of the disease increases. As a result, there is an increase in free radical chain reactions and their uncontrolled growth causes irreversible damage to the membranes of various cells, which is the basis of visceropathies in chickenpox patients.

Key words: Varicella-zoster virus, chicken pox, lipid peroxidation, antioxidant system, glutathione system, blood parameters.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• Волобуєва Ольга Вікторівна

К.мед.н., доцентка, завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Адреса: майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022
Тел.: +380 (99) 048 31 18
E-mail: o.volobueva@karazin.ua

• Дорош Діана Миколаївна

PhD, доцентка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Адреса: майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022
Тел.: +380992885639
E-mail: diana.dorosh@karazin.ua

• Павлікова Ксенія Вячеславівна

PhD, доцентка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Адреса: майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022
Тел.: +380 (50) 873 37 08
E-mail: K.pavlikova@karazin.ua

• Volobueva Olha

MD, Candidate of Medical sciences, Associate Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of Medical Faculty, V.N. Karazin Kharkiv National University
Address: Svobody Square 4, Kharkiv 61022
Tel.: +380 (99) 048 31 18
E-mail: o.volobueva@karazin.ua

• Dorosh Diana

MD, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of Medical Faculty, V.N. Karazin Kharkiv National University
Address: Svobody Square 4, Kharkiv 61022
Tel.: +380992885639
E-mail: diana.dorosh@karazin.ua

• Pavlikova Ksenia

MD, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of Medical Faculty, V.N. Karazin Kharkiv National University
Address: Svobody Square 4, Kharkiv 61022
Tel.: +380 (50) 873 37 08
E-mail: K.pavlikova@karazin.ua

- **Севастьянова Тетяна Вадимівна**

К.мед.н., доцент кафедри хімії та фармації, медичний факультет,
Херсонський державний університет
Адреса: м. Херсон, вул. Шевченка 14б
Тел. +380 (50) 905 77 20
E-mail: tsevastianova@ksu.ks.ua

- **Sevastianova Tetiana**

Candidate of Medical sciences, Associate Professor, Department of
Chemistry and Pharmacy, Faculty of Medicine, Kherson State University
Address: Kherson, str. Shevchenko 14b
Tel.: +380 (50) 905 77 20
E-mail: tsevastianova@ksu.ks.ua

- **Грек Іван Ігорович**

PhD, доцент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології
медичного факультету, Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна
Адреса: майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022
Тел.: +380 (66) 065 43 70
E-mail: i.grek@karazin.ua

- **Grek Ivan**

MD, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Infectious
Diseases and Clinical Immunology of Medical Faculty, V.N. Karazin
Kharkiv National University
Address: Svobody Square 4, Kharkiv 61022
Tel.: +380 (66) 065 43 70
E-mail: i.grek@karazin.ua

- **Кушнір Василь Борисович**

PhD, доцент кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології
медичного факультету, Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна
Адреса: майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022
Тел.: +380 (96) 621 39 89
E-mail: v.kushnir@karazin.ua

- **Kushnir Vasyi**

MD, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Infectious
Diseases and Clinical Immunology of Medical Faculty, V.N. Karazin
Kharkiv National University
Address: Svobody Square 4, Kharkiv 61022
Tel.: +380 (96) 621 39 89
E-mail: v.kushnir@karazin.ua

Стаття надійшла до редакції 22.04.2024 р.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АУТОІМУННОМУ АРТРИТІ

^{1,2} ГЛАДКИХ Ф.В., ¹ ЛЯДОВА Т.І.

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України,
м. Харків, Україна

²Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України»
м. Харків, Україна

Актуальність. З моменту відкриття мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) у 1968 році, Friedenstein A.J. та співав. у 1970 р., клітинна терапія показала величезний потенціал у лікуванні різноманітних захворювань [1]. У 1996 р. Haynesworth S.E. та співав. вперше висунули гіпотезу про паракринний механізм ефективності МСК [2]. В подальшому було показано, що препарати на основі МСК, широко відомі як «безклітинна терапія», мають менший ефект імуногенності та довший термін зберігання, ніж препарати клітинної терапії [3].

На сьогоднішній день безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ) є одним з найбільш перспективних сучасних підходів до лікування аутоімунних захворювань (АІЗ) [4, 5]. Окрім безклітинних похідних МСК, таких як екзосоми та кондиціоновані середовища МСК (КС-МСК) та ін., до числа БКБЗ належать кріоекстраговані імуномодулятори на основі тимуса, селезінки, плаценти, лімфатичних вузлів та ін. біологічних тканин, які не містять клітин [6].

Кріоекстракт плаценти (КЕП) та кріоекстракт селезінки (КЕС) вперше отримано науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, які розробили та впровадили в практику унікальну методику його тривалого зберігання у низькотемпературному середовищі [7-10]. У роботі [6] наведено найактуальніші дані щодо встановлених біологічних властивостей зазначених кріоекстрактів, а також щодо їх імуномодельючого потенціалу у лікуванні АІЗ.

За даними дослідників, поширеність АІЗ різко зростає у багатьох частинах світу, ймовірно, в результаті зміни впливу факторів навколишнього середовища. Сучасні дані вказують на те, що причинами цього зростання є значні зміни у якості продуктів харчування, ксенобіотики,

забруднення повітря, інфекції, спосіб життя, стрес, зміна клімату та ін. [11]. Одним із найпоширеніших АІЗ виступає ревматоїдний артрит (РА) – хронічне запальне системне аутоімунне захворювання, пов'язане з проліферацією синовіальної тканини, утворенням пануса, руйнуванням хряща та системними ускладненнями [12]. Наразі досягнуто глибокого розуміння патологічних механізмів автореактивних CD4+ Т-клітин, В-клітин, макрофагів, запальних цитокінів, хемокінів і аутоантитіл, які викликають РА, незважаючи на те, що ще багато чого належить з'ясувати [12].

Впродовж останніх 30 років науковці активно вивчали варіації поширеності та захворюваності на РА. Ці дослідження продемонстрували, що РА є глобальною хворобою, поширеною в усьому світі, незалежно від раси, статі, етнічної приналежності, національності, віку тощо. Однак результати вимірювання поширеності та захворюваності відрізняються залежно від характеристик населення та змінюються з часом [13].

На сьогоднішній день вчені та клініцисти провели велику кількість клінічних випробувань цілої низки препаратів у лікуванні РА. Деякі з цих препаратів схвалені для щоденної клінічної практики. В першу чергу для зняття болю, набряку та зменшення запалення використовуються нестероїдні протизапальні препарати (НПЗЗ), зокрема диклофенак натрію (ДН), ібупрофен, декскетопрофен та ін. НПЗЗ реалізують свою дію шляхом пригнічення ферментативної активності циклооксигенази (ЦОГ), яка бере участь у синтезі простагландинів (ПГ). Інгібування ЦОГ-2 НПЗЗ блокує вироблення ПГ у місцях запалення, тоді як інгібування ЦОГ-1 в інших тканинах (тромбоцитах і слизовій оболонці шлунка і дванадцятипалої кишки) призводить до побічних ефектів НПЗЗ, таких як кровотеча та виразка

шлунково-кишкового тракту [14]. Ще одним різновидом потужних протизапальних препаратів виступають кортикостероїди, однак їх побічні ефекти включають нудоту, біль у животі, виразки, остеопороз, діабет та ін. [15]. Інноваційним підходом до лікування хворих РА виступає використання БКБЗ [6].

Блокада сигналізації прозапальними цитокинами, такими як фактор некрозу пухлини (ФНП) та інтерлейкін-6 (ІЛ-6), за допомогою моноклональних антитіл кардинально змінила результати лікування пацієнтів, хворих на РА, але при цьому справжня ремісія досі залишається недосяжна для більшості пацієнтів. Повторити навіть такий рівень успіху в клініці виявилось складним завданням при випробуваннях альтернативних агентів, наприклад, блокування ІЛ-1, ІЛ-17 та сімейства ІЛ-12/23 при РА, незважаючи на їхню привабливість як терапевтичні мішені [16, 17, 18].

Мета: охарактеризувати вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) на рівень прозапальних цитокинів на моделі ад'ювантного артриту у щурів.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження, проведені у відповідності до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». Дослідження проведені на 42 щурах-самцях масою 200-220 г, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту внутрішньом'язово (в/м) вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;

II – щури зі змодельованим АА (n=7) без лікування (контрольна група), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили 0,9 % розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг;

III – щури зі змодельованим АА (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили референс-препарат ДН в дозі 8,0 мг/кг [19];

IV – щури зі змодельованим АА (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [20];

V – щури зі змодельованим АА (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [21];

VI – щури зі змодельованим АА (n=7), яким на 14, 17, 20, 23 та 26 дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [22, 23].

АА у щурів моделювали субплантарним введенням щурам повного ад'юванта Фрейнда (Thermo Fisher Scientific, США) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура [19]. День введення вважали «0» днем експерименту.

На 28-му добу експерименту щурів виводили з експерименту під наркозом та відбирали зразки змішаної крові після декапітації тварин у центрифужні пробірки. Сироватку відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 об/хв.

Вміст протизапальних цитокинів (ІЛ-1 β , ІЛ-17 та ФНП- α) визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу згідно інструкції виробника («Neogen Corporation», США) та виражали у пг/мл.

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2010». Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка (Shapiro-Wilk test, $p < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (Levene's test). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна-Уїтні (Mann-Whitney). Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді "M \pm m" (M \pm SE), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95 % ДІ: 5 % – 95 %), де 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал (Confidence interval – CI). При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана, [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квантиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квантиля (upper quartile – UQ) [24-26].

Результати дослідження та їх обговорення. Проведене дослідження показало, що на 28-й день експерименту у нелікованих щурів з АА (контрольна група) відмічалось зростання вмісту прозапальних цитокинів у сироватці периферичної крові. Так, вміст ІЛ-1 β статистично вірогідно зріс ($p < 0,001$) у 2,4 рази, вміст ІЛ-17 зріс ($p < 0,001$) у 2,2 рази, а вміст ФНП- α зріс ($p < 0,001$) у 3,0 рази відносно показників інтактних щурів у аналогічні строки дослідження (табл. 1).

Встановлені зміни у профілі ІЛ-1 β , ІЛ-17 та ФНП- α узгоджуються з даними літератури [16] про концентраційні зміни у ряді циркулюючих цитокинів, які з певною послідовністю спостері-

галися до появи симптомів у тих, у кого згодом розвивається РА, порівняно зі здоровими людьми. До них належать, зокрема, ФНП, ІЛ-6, ІЛ-1β

та/або ІЛ-1, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (ГМ-КСФ)), а також ІЛ-4, ІЛ-12, ІЛ-17 та ін. (рис. 1) [16].

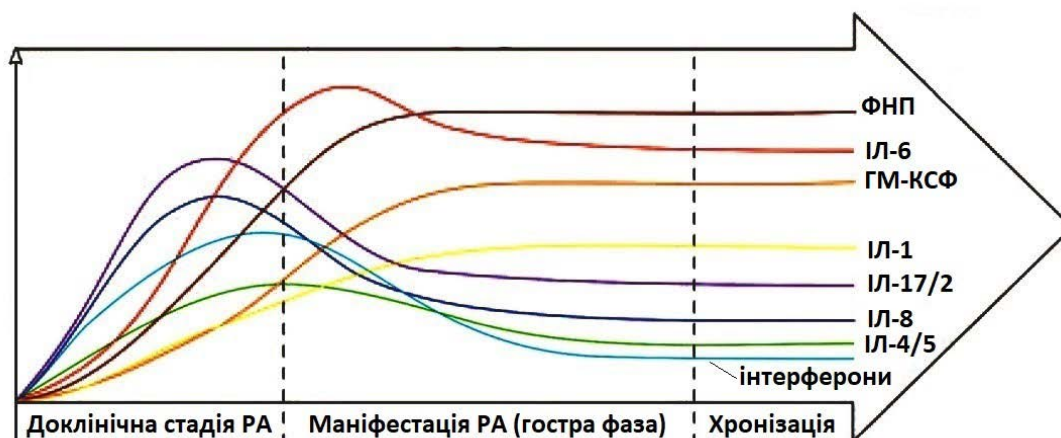


Рис. 1. Динаміка вмісту циркулюючих цитокінів при розвитку ревматоїдного артриту (модифіковано за [16])

На тлі застосування референс-препарату ДН відмічено статистично вірогідне зниження ($p < 0,001$) на 49,4% вмісту ІЛ-1β та ФНП-β на 31,0% відносно показників щурів контрольної групи (див. табл. 1).

ІЛ-1, як відомо, є головним цитокіном локального та системного запалення. ІЛ-1β є продуктом моноцитів крові, тканинних макрофа-

гів та дендритних клітин. Етапом, що обмежує швидкість виробництва ІЛ-1β, є транскрипція, але мРНК ІЛ-1β вимагає додаткового сигналу для синтезу. Стимулом може бути мікробний продукт, або цитокіни, такі як ФНП-α, ІЛ-18, ІЛ-1α, які самі індують ІЛ-1β. Фактично, індукція ІЛ-1 сама по собі є частиною механізму «автозапалення» [27].

Таблиця 1

Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та ДН на вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові щурів з АА на 28-й день експерименту, пг/мл ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	V (5) група	VI (6) група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + КЕП	АА + КЕС	АА + КС-МСК
n	7	7	7	7	7	7
Інтерлейкін 1β, пг/мл	35 [30; 34]	83 [80; 89] $p_1 < 0,001$ [137,1%]	42 [35; 47] $p_2 < 0,001$ [49,4%]	74 [60; 87] $p_2 = 0,1$ [10,8%] $p_3 < 0,01$ [76,2%]	48 [38; 54] $p_2 < 0,001$ [42,2%] $p_3 = 0,2$ [14,3%]	55 [42; 60] $p_2 < 0,001$ [31,0%] $p_3 = 0,1$ [25,7%]
Інтерлейкін 17, пг/мл	20,9±2,1 (95 % ДІ: 16,8–24,9)	45,4±2,3 (95 % ДІ: 41,0–49,9) $p_1 < 0,001$ [117,8%]	41,1±3,2 (95 % ДІ: 34,9–47,4) $p_2 = 0,3$ [9,4%]	32,4±2,9 (95 % ДІ: 26,7–38,1) $p_2 < 0,01$ [28,6%] $p_3 = 0,1$ [21,2%]	50,9±1,9 (95 % ДІ: 47,2–54,5) $p_2 = 0,1$ [11,9%] $p_3 < 0,05$ [23,6%]	38,9±3,5 (95 % ДІ: 32,0–45,7) $p_2 = 0,1$ [14,5%] $p_3 = 0,6$ [5,6%]
Фактор некрозу пухлин α, пг/мл	45,4±4,1 (95 % ДІ: 37,5–53,4)	136,7±5,8 (95 % ДІ: 125,4–148,0) $p_1 < 0,001$ [200,9%]	94,3±6,0 (95 % ДІ: 82,6–106,0) $p_2 < 0,001$ [31,0%]	79,7±4,4 (95 % ДІ: 71,1–88,4) $p_2 < 0,001$ [41,7%] $p_3 = 0,07$ [15,5%]	120,9±6,1 (95 % ДІ: 108,8–132,9) $p_2 = 0,08$ [11,6%] $p_3 = 0,009$ [28,2%]	63,6±3,0 (95 % ДІ: 57,8–69,4) $p_2 < 0,001$ [53,5%] $p_3 < 0,001$ [32,6%]

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

ФНП, в свою чергу, теж відіграє життєво важливу роль у типовій імунній відповіді через регуляцію низки шляхів, що охоплюють запальну реакцію з участю вродженого імунітету, а також клітинну активацію з подальшою проліферацією та запрограмованою загибеллю чи некрозом клітин. Як і можна було очікувати, з таким широким спектром клітинних ефектів і складними сигнальними шляхами, ФНП відіграє важливу роль у розвитку цілої низки хвороб, зокрема при РА, анкілозуючому спондиліті, хворобі Крона та ін. [28].

Таким чином, здатність ДН неспецифічно пригнічувати запалення цілком узгоджується з отриманим нами даними про зменшення концентрації ІЛ-1 β та ФНП- α .

Застосування БКБЗ за аналогічним до ДН режимом введення у щурів з АА призвело до зниження вмісту досліджуваних прозапальних цитокінів, що узгоджувалось зі встановленими раніше протизапальними властивостями КЕП, КЕС та КС-МСК [29, 30].

Проведені експериментальні дослідження показали, що найвиразніше зменшення вмісту ІЛ-1 β відмічено на тлі застосування КЕС – рівень вказаного цитокіну становив 48 пг/мл, що на 42,2% ($p < 0,001$) було нижче за показники щурів з АА без лікування, у яких досліджуваний показник становив 83 пг/мл (див. табл. 1). Варто зазначити, що за здатністю знижувати вміст ІЛ-1 β у щурів з АА КЕС поступався за ефективністю ДН – на тлі введення останнього вміст вказаного ІЛ був нижче на 14,3% ($p = 0,2$). Загалом, за здатністю знижувати вміст циркулюючого ІЛ-1 β на моделі АА, досліджувані препарати можна розташувати у наступній послідовності (за % відносно показників нелікованих тварин з АА): ДН (49,9%; $p < 0,001$) > КЕС (42,2%; $p < 0,001$) > КС-МСК (31,0%; $p < 0,001$) > КЕП (10,8%; $p = 0,1$).

Привертає увагу, що виявлене зниження ІЛ-1 β на моделі АА у щурів різнилось з попередніми даними про величину протизапальної активності БКБЗ. Так, за величиною протизапальної активності при експериментальному РА досліджувані БКБЗ були розташовані у такій послідовності: КЕП (ПЗА=56,5%) > КС-МСК (ПЗА=47,3%) > КЕС (ПЗА=43,3%) [29]. Такі розбіжності дозволяють нам зробити висновок, що досліджувані нами БКБЗ мають різну виразність впливу на прозапальні цитокіни, що є одним із механізмів їх протизапальної активності.

Аналізуючи дані табл. 1, можна дійти висновку, що найбільше зниження вмісту ІЛ-17 відмічалось на тлі застосування КЕП – рівень вказаного цитокіну був на 28,6% нижче ($p < 0,01$) за показники нелікованих тварин та становив 32,4 \pm 2,9 пг/мл. Як відомо, ІЛ-17 бере участь у

розвитку як доклінічної фази РА, так і хронічного РА, сприяючи активації фібробластоподібних синовіоцитів, остеокластогенезу, рекрутуванню та активації нейтрофілів, макрофагів та В-клітин [31]. Було показано, що синергізм між ІЛ-17 та ФНП- α активує вироблення прозапальних медіаторів, таких як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, та матриксних металопротеїназ, сприяючи прогресуванню раннього запалення до хронічного артриту [32, 33].

Також нами встановлено, що за здатністю впливати на вміст циркулюючого ФНП- α , найвиразніші зміни відмічено на тлі застосування КС-МСК (див. табл. 1). Показано, що на тлі введення КС-МСК рівень ФНП- α статистично вірогідно ($p < 0,001$) був нижчим на 53,5% за показники тварин контрольної групи та становив 63,6 \pm 3,0 пг/мл.

Висновки:

Встановлено, що у щурів з АА відмічалось зростання вмісту прозапальних цитокінів: вміст ІЛ-1 β статистично вірогідно зріс ($p < 0,001$) у 2,4 рази, вміст ІЛ-17 зріс ($p < 0,001$) у 2,2 рази, а вміст ФНП- α зріс ($p < 0,001$) у 3,0 рази відносно показників інтактних щурів у аналогічні строки дослідження.

За здатністю знижувати вміст циркулюючого ІЛ-1 β на моделі АА досліджувані БКБЗ можна розташувати у наступній послідовності (за % відносно показників нелікованих тварин з АА): КЕС (42,2%; $p < 0,001$) > КС-МСК (31,0%; $p < 0,001$) > КЕП (10,8%; $p = 0,1$).

Співставляючи раніше отримані дані про протизапальну активність досліджуваних БКБЗ та результатів дослідження вмісту прозапальних цитокінів у щурів на тлі АА, можна зробити висновок, що одним із провідних механізмів протизапальної активності КЕП виступає модуляція вмісту ІЛ-17. Зміна концентрації ФНП- α ймовірно відіграє провідну роль у протизапальній активності КС-МСК, а протизапальна дія КЕС вірогідно опосередкована впливом останнього на вміст ІЛ-1 β .

Прикінцеві твердження

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна МОН України «Вивчення ролі імунних, автоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликані бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення

тактики лікування» (номер державної реєстрації 0123U105022, термін виконання: 2023-2028 рр., керівник – завідувач кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, к.мед.н., доцент Волобуєва О.В.).

Перспективи подальших досліджень.

Результати проведеного дослідження дозволили встановити провідні механізми протизапальної активності досліджуваних безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на моделі експериментального автоімунного артриту – модуляція вмісту ІЛ-17 для КЕП, зниження концентрації циркулюючого ФНП- α для КС-МСК та вплив вмісту ІЛ-1 β для КЕС. Отримані дані слугують підґрунтям подальших досліджень ефективності КЕП, КЕС та КС-МСК на інших моделях автоімунних захворювань з виразним запальним компонентом.

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.

Інформація про фінансування. Робота не отримувала фінансування видатками Державного бюджету України.

Внесок авторів: Гладких Ф.В. – ідея роботи, розробка концепції дослідження, формулювання мети роботи, проведення експериментальних досліджень, написання тексту рукопису, формулювання висновків. **Лядова Т.І.** – участь в обговоренні отриманих результатів, редагування тексту статті.

Relationship with academic programs, plans and themes. The article is a fragment of the planned research project of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Health of Ukraine «Study of the role of immune, autoimmune and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of the infectious process caused by bacteria, viruses, viral-bacterial associations in the acute, prolonged and chronic course of the disease and improvement of treatment tactics» (state registration number 0123U105022, deadline: 2023-2028, head – head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Doctor of Medicine, Associate Professor O.V. Volobuieva).

Prospects for further research. The results of the study allowed us to establish the leading mechanisms of the anti-inflammatory activity of the investigated cell-free cryopreserved biological agents on the model of experimental autoimmune arthritis - modulation of the content of IL-17

for CES, a decrease in the concentration of circulating TNF- α for MSC-CM and the influence of the content of IL-1 β for CES. The obtained data serve as the basis for further studies of the effectiveness of CEP, CES and MSC-CM in other models of autoimmune diseases with a pronounced inflammatory component.

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

Funding information. The work was not financed by the State Budget of Ukraine.

Contribution of the authors: Hladkykh F.V. – the idea of the work, the development of the research concept, the formulation of the purpose of the work, conducting experimental research, writing the text of the manuscript, formulating the conclusions. Liadova T.I. – participation in the discussion of the obtained results, editing of the text of the article.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS.* The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.* 1970 Oct;3(4):393-403. doi: 10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x. PMID: 5523063.
2. *Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI.* Cytokine expression by human marrow-derived mesenchymal progenitor cells in vitro: effects of dexamethasone and IL-1 alpha. *J Cell Physiol.* 1996 Mar;166(3):585-92. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(199603)166:3<585::AID-JCP13>3.0.CO;2-6. PMID: 8600162.
3. *Tan MI, Alfarafisa NM, Septiani P, Barlian A, Firmansyah M, Faizal A, Melani L, Nugrahapraja H.* Potential Cell-Based and Cell-Free Therapy for Patients with COVID-19. *Cells.* 2022 Jul 27;11(15):2319. doi: 10.3390/cells11152319. PMID: 35954162; PMCID: PMC9367488.
4. *Гладких ФВ.* Безклітинні біологічні засоби: фокус на кондиціоновані середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Одеський медичний журнал.* 2023;185(4):75–82. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>. [Hladkykh FV. Cell-free biologics: focus on mesenchymal stem cell conditioned media. *Odesa Medical Journal.* 2023;185(4):75–82. DOI: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-15>]

5. *Гладких ФВ*. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. Клінічна та профілактична медицина. 2023;6(28):121-130. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>. [Hladkykh FV. Mesenchymal stem cells: exosomes and conditioned media as innovative strategies in the treatment patients with autoimmune diseases. *Clinical and Preventive Medicine*. 6(28):121-130. <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>]
6. *Гладких ФВ*. Перспективи застосування імуномодуляторів у лікуванні хворих на аутоімунних захворювань: фокус на екстракти біологічних тканин (кріоекстракт плаценти та кріоекстракт селезінки). Імунологія та алергологія: наука і практика. 2023;4:29-46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>. [Hladkykh FV. prospects for the use of immunomodulators in the treatment of patients with autoimmune diseases: focus on extracts of biological tissues (placenta cryoextract and spleen cryoextract). *Immunology and allergology: science and practice*. 2023;4:29-46. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2023.4-04>]
7. *Гольцев АН*, ред. Плацента: криоконсервация, клиническое применение. Харьков; 2013. 268 с. [Goltsev AM, ed. Placenta: cryopreservation, clinical application. Kharkiv; 2013. 268 p.]
8. *Кошурба ІВ, Гладких ФВ, Чиж МО*. Кріоекстракт плаценти – перший український біотехнологічний противиразкових засіб (огляд літератури та власних досліджень). Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я. 2023; 1 (10): 32-40. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-1-4> [Koshurba IV, Hladkykh FV, Chyzh MO. Placenta cryoextract is the first Ukrainian biotechnological anti-ulcer agent (review of the literature and own research). *Modern medicine, pharmacy and psychological health*. 2023; 1 (10): 32-40. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-1-4>]
9. *Грищенко ВІ, Морозова ТФ, Воротилін ОМ, Моїсєєв ВО, Гольцнв АМ, Грищенко ОВ, Прокопюк ОС, Оїпіна ОВ, Ходькл ОТ*. Приготування та зберігання кріоконсервованої суспензії плаценти для клінічного використання (методичні рекомендації). Харків. 1997. 19 с. [Hryshchenko VI, Morozova TF, Vorotilin OM, Moiseev VO, Goltsnv AM, Hryshchenko OV, Prokopyuk OS, Oipina OV, Khodkl OT. Preparation and storage of cryopreserved placenta suspension for clinical use (methodological recommendations). Kharkiv. 1997. 19 p.]
10. *Гальченко СЄ*. Кріоконсервування фрагментів органів ссавців і біологічна дія одержаних з них водно-солевих екстрактів : д.б.н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія: захищена 2007-05-22. Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. 0507U000372. [Halchenko SE. Cryopreservation of fragments of mammalian organs and the biological action of water-salt extracts obtained from them: d.b.n.: spec. 03.00.19 - Cryobiology: protected 2007-05-22. Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. 0507U000372.]
11. *Miller FW*. The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: an urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention. *Curr Opin Immunol*. 2023 Feb;80:102266. doi: 10.1016/j.coi.2022.102266. Epub 2022 Nov 26. PMID: 36446151; PMCID: PMC9918670.
12. *Jang S, Kwon EJ, Lee JJ*. Rheumatoid Arthritis: Pathogenic Roles of Diverse Immune Cells. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 14;23(2):905. doi: 10.3390/ijms23020905. PMID: 35055087; PMCID: PMC8780115.
13. *Safiri S, Kolahi AA, Hoy D, Smith E, Bettampadi D, Mansournia MA, Almasi-Hashiani A, Ashrafi-Asgarabad A, Moradi-Lakeh M, Qorbani M, Collins G, Woolf AD, March L, Cross M*. Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis 1990-2017: a systematic analysis of the Global Burden of Disease study 2017. *Ann Rheum Dis*. 2019 Nov;78(11):1463-1471. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215920. Epub 2019 Sep 11. PMID: 31511227.
14. *Гладких ФВ*. Противиразковая активность кріоекстракту плаценти при експериментальному індометацин-індукованому ульцерогенезі. Львівський медичний часопис. 2021;27(3-4):67-82. <https://doi.org/10.25040/aml2021.3-4.067> [Hladkykh FV. Antiulcer activity of placenta cryoextract in experimental indomethacin-induced ulcerogenesis. *Lviv Medical Journal*. 2021;27(3-4):67-82. <https://doi.org/10.25040/aml2021.3-4.067>]
15. *Huang J, Fu X, Chen X, Li Z, Huang Y, Liang C*. Promising Therapeutic Targets for Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol*. 2021 Jul 9;12:686155. doi: 10.3389/fimmu.2021.686155. PMID: 34305919; PMCID: PMC8299711.
16. *Ridgley LA, Anderson AE, Pratt AG*. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol*. 2018 Mar;30(2):207-214. doi: 10.1097/BOR.0000000000000470. PMID: 29206659; PMCID: PMC5805125.

17. Blanco FJ, Mricke R, Dokoupilova E, Codding C, Neal J, Andersson M, Rohrer S, Richards H. Secukinumab in Active Rheumatoid Arthritis: A Phase III Randomized, Double-Blind, Active Comparator- and Placebo-Controlled Study. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Jun;69(6):1144-1153. doi: 10.1002/art.40070. Epub 2017 May 3. PMID: 28217871.
18. Smolen JS, Agarwal SK, Ilivanova E, Xu XL, Miao Y, Zhuang Y, Nnane I, Radziszewski W, Greenspan A, Beutler A, Baker D. A randomised phase II study evaluating the efficacy and safety of subcutaneously administered ustekinumab and guselkumab in patients with active rheumatoid arthritis despite treatment with methotrexate. *Ann Rheum Dis.* 2017 May;76(5):831-839. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-209831. Epub 2017 Jan 13. PMID: 28087506; PMCID: PMC5530337.
19. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; 2001. 527 с. [Stefanov OV, ed. Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations. Kyiv: Avicenna; 2001. 527 p.]
20. Шепітько ВІ. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів: дис. д.мед.н.: спец.. 14.01.35 – Кріомедицина, Харків, 2004. 326 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/> [Shepitko VI. Structural and functional indicators of the cryopreserved liver and the effect of its transplantation on the morphofunctional state of a number of internal organs: dissertation. Doctor of Medicine: special.. 14.01.35 – Cryomedicine, Kharkiv, 2004. 326 p. Access mode: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0504U000610/>]
21. Беспалова ІГ. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят: к.б.н.: спец. 03.00.19 – Кріобіологія: захищена 2016-10-25. Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. 0416U004539. [Bespalova IG. Peptide composition and biological action of extracts of cryopreserved pig spleen fragments and piglet skin: Ph.D.: spec. 03.00.19 - Cryobiology: protected 2016-10-25. Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. 0416U004539.]
22. Golubinskaya PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, Bondarev VP, Stefanova MS, Soldatov VO, Nadezhdin SV, Korokin MV, et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology.* 2020;8(6):416–25. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
23. Глоба ВЮ. Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції. Ис. PhD: спец. 222 – Медицина, Харків, 2021. 156 с. Режим доступу: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/> [Globa VYu. Use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction. Fig. PhD: specialist 222 – Medicine, Kharkiv, 2021. 156 p. Access: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0821U100913/>]
24. Zar JH. *Biostatistical analysis* (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014; 960 p.
25. Tripathy JP. Secondary data analysis: ethical issues and challenges. *Iranian Journal of Public Health.* 2013;42(12):1478–9.
26. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology.* 2017;9(5):157–63.
27. Dinarello CA, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. *Semin Immunol.* 2013 Dec 15;25(6):469–84. doi: 10.1016/j.smim.2013.10.008. Epub 2013 Nov 23. PMID: 24275598; PMCID: PMC3953875.
28. Holbrook J, Lara-Reyna S, Jarosz-Griffiths H, McDermott M. Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000Res.* 2019 Jan 28;8:F1000 Faculty Rev-111. doi: 10.12688/f1000research.17023.1. PMID: 30755793; PMCID: PMC6352924.
29. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Порівняльна характеристика антифлогістичної активності кріоекстрактів біологічних тканин та кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин на моделі аутоімунного артриту. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2024;1(69):53–59. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.69.9>. [Hladkikh FV, Lyadova TI. Comparative characteristics of antiphlogistic activity of cryoextracts of biological tissues and conditioned medium of mesenchymal stem cells on the model of autoimmune arthritis. *Scientific Bulletin of Uzhhorod University. «Medicine» series.* 2024;1(69):53–59. DOI: <https://doi.org/10.32782/2415-8127.2024.69.9>]
30. Гладких ФВ, Лядова ТІ. Вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів на вміст окремих ейкозаноїдів у щурів зі змоде-

льованим ад'ювантом Фрейнда артритом. Health & Education. 2024;1:32–40. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4>. [Hladkikh FV, Lyadova TI. Effect of cell-free cryopreserved biologics on individual eicosanoid content in rats with Freund's adjuvant modeled arthritis. Health & Education. 2024;1:32–40. DOI: <https://doi.org/10.32782/health-2024.1.4>]

31. *Lubberts E.* The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Jul;11(7):415-29. doi: 10.1038/nrrheum.2015.53. Epub 2015 Apr 28. Erratum in: *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Oct;11(10):562. doi: 10.1038/nrrheum.2015.128. PMID: 25907700.
32. *Paulissen SM, van Hamburg JP, Davelaar N, Asmawidjaja PS, Hazes JM, Lubberts E.* Synovial fibroblasts directly induce Th17 pathogenicity via the cyclooxygenase/prostaglandin E2 pathway, independent of IL-23. *J Immunol.* 2013 Aug 1;191(3):1364-72. doi: 10.4049/jimmunol.1300274. Epub 2013 Jul 1. PMID: 23817417.
33. *Schinocca C, Rizzo C, Fasano S, Grasso G, La Barbera L, Ciccia F, Guggino G.* Role of the IL-23/IL-17 Pathway in Rheumatic Diseases: An Overview. *Front Immunol.* 2021 Feb 22;12:637829. doi: 10.3389/fimmu.2021.637829. PMID: 33692806; PMCID: PMC7937623.

РЕЗЮМЕ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БЕЗКЛІТИННИХ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ БІОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АУТОІМУННОМУ АРТРИТІ

^{1,2} ГЛАДКИХ Ф.В., ¹ ЛЯДОВА Т.І.

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України,
м. Харків, Україна

²Державна установа «Інститут медичної радіології
та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України»
м. Харків, Україна

Актуальність. За даними багатьох дослідників, поширеність аутоімунних захворювань (АІЗ) різко зростає у багатьох частинах світу, ймовірно, в результаті зміни впливу факторів навколишнього середовища. Безклітинні кріоконсервовані біологічні засоби (БКБЗ) є одним з найбільш перспективних сучасних підходів до лікування АІЗ. Окрім безклітинних похідних мезенхімільних стовбурових клітин (МСК), таких як екзосоми та кондиціоновані середовища МСК (КС-МСК), до числа БКБЗ належать кріоекстраговані імуномодулятори на основі тимуса, селезінки, п्लाценти, лімфатичних вузлів та ін. біологічних тканин, які не містять клітин. Блокада сигналізації прозапальними цитокинами,

такими як фактор некрозу пухлини (ФНП) та інтерлейкін-6 (ІЛ-6), за допомогою моноклональних антитіл кардинально змінила результати лікування пацієнтів із важким РА, але при цьому справжня ремісія досі залишається недосяжна для більшості хворих. Повторити навіть такий рівень успіху в клініці виявилось складним у випробуваннях альтернативних агентів, наприклад, блокування ІЛ-1 β , ІЛ-17 та сімейства ІЛ-12/23 при ревматоїдному артриті (РА), незважаючи на їхню привабливість як терапевтичні мішені.

Мета: охарактеризувати вплив безклітинних кріоконсервованих біологічних засобів – кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС) та КС-МСК на рівень прозапальних цитокинів на моделі ад'юваного артриту (АА) у щурів.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проведені у відповідності до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження». Дослідження проведені на 42 щурах-самцях масою 200-220 г. АА у щурів моделювали субплантарним введенням щурам повного ад'юванта Фрейнда (Thermo Fisher Scientific, США) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура. День введення вважали «0» днем експерименту. На 28-му добу експерименту щурів виводили з експерименту. Вміст протизапальних цитокинів (ІЛ-1 β , ІЛ-17 та ФНП- α) визначали імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів для імуноферментного аналізу згідно інструкцій виробника («Neogen Corporation», США) та виражали у пг/мл.

Результати та обговорення. Проведене дослідження показало, що на 28-й день експерименту у нелікованих щурів з АА (контрольна група) відмічалось зростання вмісту прозапальних цитокинів у сироватці периферичної крові. Так, вміст ІЛ-1 β статистично вірогідно зріс ($p < 0,001$) у 2,4 рази, вміст ІЛ-17 зріс ($p < 0,001$) у 2,2 рази, а вміст ФНП- α зріс ($p < 0,001$) у 3,0 рази відносно показників інтактних щурів у аналогічні строки дослідження. Проведені експериментальні дослідження показали, що найвиразніше зменшення вмісту ІЛ-1 β відмічено на тлі застосування КЕС – рівень вказаного цитокину становив 48 пг/мл, що на 42,2% ($p < 0,001$) було нижче за показники щурів з АА без лікування, у яких досліджуваний показник становив 83 пг/мл (див. табл. 1). Варто зазначити, що за здатністю знижувати вміст ІЛ-1 β у щурів з АА КЕС поступався за ефективністю диклофенак натрію – на тлі введення останнього вміст вказаного ІЛ був нижче на 14,3% ($p = 0,2$). Загалом, за здатністю знижувати вміст циркулюючого ІЛ-1 β на моделі АА, досліджувані препарати можна розташувати у наступній послідовності (за % відносно показників нелікованих тварин з АА): диклофенак натрію (49,9%; $p < 0,001$) > КЕС (42,2%; $p < 0,001$) > КС-МСК (31,0%; $p < 0,001$) > КЕП (10,8%; $p = 0,1$). Найбільше зниження вмісту ІЛ-17 відмічалось на тлі застосування КЕП – рівень вказаного цитокину був на 28,6% нижче ($p < 0,01$) за показники нелікованих тварин та становив

32,4±2,9 пг/мл. Встановлено, що на тлі введення КС-МСК рівень ФНП-α статистично вірогідно (p<0,001) був нижчим на 53,5%, а показник тварин контрольної групи становив 63,6±3,0 пг/мл.

Висновки. Співставлення раніше отриманих даних про протизапальну активність досліджуваних БКБЗ та одержаних результатів дослідження вмісту прозапальних цитокінів у щурів на тлі АА дозволили зробити висновок, що одним із провідних механізмів протизапальної активності КЕП виступає модуляція вмісту ІЛ-17, модуляція концентрації ФНП-α ймовірно відіграє провідну роль у проти-запальній активності КС-МСК, а протизапальна дія КЕС вірогідно опосередкована впливом останнього на вміст ІЛ-1β.

Ключові слова: автоімунні захворювання, кріоекстракт плаценти, кріоекстракт селезінки, кондиціоноване середовище, мезенхімальні стовбурові клітини, запалення, цитокіни, інтерлейкіни, ад'ювантний артрит.

SUMMARY

STUDY OF THE EFFECT OF CELL-FREE CRYOPRESERVED BIOLOGICAL AGENTS ON THE LEVEL OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ARTHRITIS

^{1,2}HLADKYKH F.V., LIADOVA T.I.

¹V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine,
Kharkiv, Ukraine

²State of Organization "Grigoriev Institute for Medical Radiology
and Oncology of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine",
Kharkiv, Ukraine

Background. According to many researchers, the prevalence of autoimmune diseases (AID) is increasing dramatically in many parts of the world, probably as a result of changing exposure to environmental factors. Cell-free cryopreserved biological agents (CFCBA) are one of the most promising modern approaches to the treatment of AID. In addition to cell-free mesenchymal stem cell (MSC) derivatives such as exosomes and MSC-conditioned medium (MSC-CM), CFCBA include cryo-extracted immunomodulators based on thymus, spleen, placenta, lymph nodes, etc. biological tissues that do not contain cells. Blockade of signaling by pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6) using monoclonal antibodies has dramatically changed treatment outcomes for patients with severe RA, but true remission is still elusive for most patients. Replicating even this level of success in the clinic has proven difficult in trials of alternative agents, such as blocking IL-1β, IL-17, and the IL-12/23 family in rheumatoid arthritis (RA), despite their attractiveness as therapeutic targets.

Goal: to characterize the effect of cell-free cryopreserved biological agents – placenta cryoextract (CEP), spleen cryoextract (CES) and MSC-CM on the level of proinflammatory cytokines in a model of adjuvant arthritis (AA) in rats.

Materials and Methods. Experimental studies were conducted in accordance with the basic bioethical norms of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical principles of medical research with the participation of a person as an object of research». The studies were conducted on 42 male rats weighing 200-220 g. AA in rats was simulated by subplantar administration of complete Freund's adjuvant (Thermo Fisher Scientific, USA) into the hind right limb at the rate of 0.1 ml per rat. The day of introduction was considered «0» as the day of the experiment. On the 28th day of the experiment, rats were removed from the experiment. The content of anti-inflammatory cytokines (IL-1β, IL-17 and TNF-α) was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay method using standard enzyme-linked immunosorbent assay kits according to the manufacturer's instructions (Neogen Corporation, USA) and expressed in pg/ml.

Results and their discussion. The conducted study showed that on the 28th day of the experiment, an increase in the content of pro-inflammatory cytokines in the peripheral blood serum was noted in untreated rats with AA (control group). Thus, the content of IL-1β increased statistically significantly (p<0.001) by 2.4 times, the content of IL-17 increased (p<0.001) by 2.2 times, and the level of TNF-α increased (p<0.001) by 3.0 times relative to the indicators of intact rats during the same period of the study. The conducted experimental studies showed that the most pronounced decrease in the content of IL-1β was noted against the background of the use of CES – the level of this cytokine was 48 pg/ml, which was 42.2% (p<0.001) lower than the indicators of rats with AA without treatment, in which the investigated indicator was 83 pg/ml (see Table 1). It is worth noting that the ability to reduce the content of IL-1β in rats with AA CES was inferior to the effectiveness of diclofenac sodium – against the background of the introduction of the latter, the content of the indicated IL was lower by 14.3% (p=0.2). In general, according to the ability to reduce the content of circulating IL-1β in the AA model, the studied drugs can be arranged in the following sequence (in % relative to the indicators of untreated animals with AA): diclofenac sodium (49.9%; p<0.001) > CES (42.2%; p<0.001) > MSC-CM (31.0%; p<0.001) > CEP (10.8%; p=0.1). The greatest decrease in the IL-17 content was observed against the background of the use of CEP – the level of this cytokine was 28.6% lower (p<0.01) than that of untreated animals and was 32.4±2.9 pg/ml. It was established that against the background of the introduction of MSC-CM, the level of TNF-α was statistically significantly (p<0.001) lower by 53.5%, while the indicators of animals of the control group were 63.6±3.0 pg/ml.

Conclusions. Comparison of the previously obtained data on the anti-inflammatory activity of the investigated CFCBA and the obtained results of the study of the content of pro-inflammatory cytokines in rats on the background of AA, it can be concluded that one of the leading mechanisms of the anti-inflammatory activity of CEP is the modulation of the content of

IL-17, the modulation of the concentration of TNF- α probably plays a leading role in anti-inflammatory activity of MSC-CM, and the anti-inflammatory effect of CES is probably mediated by the effect of the latter on IL-1 β content.

Key words: autoimmune diseases, placenta cryoextract, spleen cryoextract, conditioned medium, mesenchymal stem cells, inflammation, cytokines, interleukins, adjuvant arthritis.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• Гладких Федір Володимирович

Доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина», докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; старший науковий співробітник відділу променевої патології та паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»
Адреса: Майдан Свободи, буд. 6, м. Харків, 61022, Україна;
вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна
Тел.: +38 (099) 782-78-72
E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>
Scopus: www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57226085532
Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1507258>

• Лядова Тетяна Іванівна

Доктор медичних наук, професорка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, декан медичного факультету, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України
Адреса: Майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, 61022, Україна
Тел.: +38 (050) 692-56-41
E-mail: t.lyadova@karazin.ua
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>
Scopus: www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205369365
Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/rid/DWD-6225-2022>

• Hladkykh Fedir Volodymyrovych

Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty "Medicine", Doctoral student (Doctor of Sciences) of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine, State Organization "Grigoriev Institute for medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"
Address: 6 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine;
82, Hryhoriya Skovorody Str., Kharkiv, 61024, Ukraine
Tel.: +38 (099) 782-78-72
E-mail: fedir.hladkykh@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>
Scopus: www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57226085532
Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1507258>

• Liadova Tetyana Ivanivna

Doctor of medical sciences (DSci, PhD), Professor of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean of the medical faculty, V. N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine
Address: 4 Svobody Square, Kharkiv, 61022, Ukraine
Tel.: +38 (050) 692-56-41
E-mail: t.lyadova@karazin.ua
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>
Scopus: www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205369365
Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/rid/DWD-6225-2022>

Стаття надійшла до редакції 03.05.2024 р.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ МІКРОНУТРІЄНТІВ І БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ДІТЕЙ НА РІЗНИХ ВИДАХ ПРИКОРМУ

ТАРШИНА К.І., ШАРИКАДЗЕ О.В.

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика
м. Київ

Вступ. XXI століття славиться своїми інноваціями у багатьох напрямках і підходах, пов'язаних зі способом життя, мислення, творчості та загалом діяльності людини. Про користь і популяризацію грудного вигодовування сумнівів ніколи не виникало. Натомість щодо методів введення малюку твердої їжі у вигляді прикорму погляди змінилися. Так, з початку 2000-х років з'являється і набирає популярності альтернативний метод введення прикорму, який часто називають «відлученням під керівництвом дитини» (англ. Baby led weaning, BLW) [6-8]. Цей метод дозволяє дітям самостійно брати їжу із сімейного столу, яка готується і подається, щоб бути безпечною для немовлят. На сьогодні цей метод є широко розповсюджений у більшості західних країн, а за даними власних досліджень і практичного досвіду – досить популярним є і серед сучасних українських сімей, де виховуються малюки [2, 9]. Дослідження недоліків і переваг BLW прикорму, особливо щодо впливу на ріст і розвиток дитини, а також засвоєння нею достатньої вікової кількості макро- і мікронутрієнтів залишається предметом дискусій.

З метою порівняльного аналізу ефективності застосування різних видів прикорму нами було проаналізовано лабораторні показники обміну заліза, кальцію та білкового обміну на шостому та дванадцятому місяцях життя дітей.

Матеріали та методи. Дослідження виконано у 2023-2024 рр. відповідно до принципів сьомого перегляду Гельсінської декларації прав людини (2013), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідно до законів України. Робота ґрунтувалась на попередньому опитуванні українських матерів на підставі розробленої авторської анкети щодо введення прикорму їхнім малюкам, дані були опубліковані [13]. Згідно даних опитування батьків, їхні діти були поділені на групи: перша група – діти, які знаходились на BLW-прикормі, друга група – діти, які отримували традиційне вигодовування з ложки та третя група – діти, яким пропонували змішаний тип вигодовуван-

ня (їли самостійно + батьки догодували з ложки). З кожної групи були виокремлені діти для продовження дослідження. На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнтів (батьків/опікунів).

Критерії залучення до дослідження: згода батьків (опікунів) дітей на участь у дослідженні; ранній вік дитини (від 6-7 міс).

Критерії вилучення: вік дитини до 6 місяців.

Дослідження біологічного матеріалу проводили двічі: до та через 6 місяців після введення різних видів прикорму у МЛ «Діла», виконували пакет досліджень №111 «Перевір здоров'я дитини».

Залежно від методу прикорму, усі залучені діти були розділені на 3 групи: перша група – діти, які знаходились на BLW прикормі (47 осіб), друга група – діти, які отримували традиційне вигодовування (43 особи) та третя група – діти, яким пропонували змішаний тип вигодовування (56 осіб).

Отримані результати статистично оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного (M) за результатами кожного дослідження \pm стандартне відхилення (SD). Достовірними вважались відмінності при $p < 0,05$ (95,5%). Дисперсійний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми «JASP».

Результати дослідження. Проведено порівняльний аналіз рівнів низки лабораторних показників у групах дітей до та через 6 міс після введення різних видів прикорму. З даних таблиці 1 видно, що у дітей, які знаходились на BLW-прикормі, за 6 міс. рівні загального білірубину, глюкози, гематокриту майже не змінилися і були в межах вікової норми. Рівень загального білку теж не зазнав істотних змін, однак мав значну тенденцію до зниження. Звертає увагу вірогідне зниження рівнів кальцію, заліза і гемоглобіну, що продемонстровано на рисунках 1, 2, 3.

Таблиця 1

Динаміка лабораторних показників у першій групі на BLW-прикормі

Показник	6-й місяць (n=47)	12-й місяць (n=44)	p
Загальний білок, г/л	62,1±6,82	60,3±6,44	0,205
Загальний білірубін, мкмоль/л	5,73±2,05	5,68±1,99	0,201
Глюкоза, ммоль/л	4,68±0,81	4,65±0,78	0,244
Кальцій, ммоль/л	2,45±0,23	2,29±0,18	0,039
Залізо, мкмоль/л	5,61±2,45	5,08±2,23	0,046
Гематокрит, %	38,3±6,12	36,6±4,14	0,059
Гемоглобін, г/л	122±16,1	119±12,3	0,034

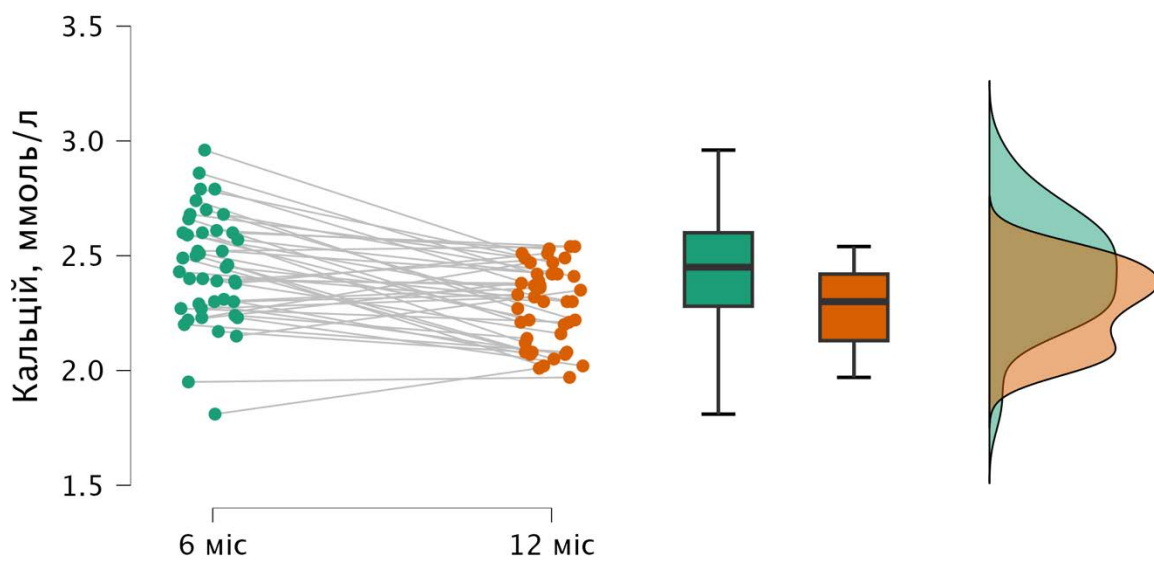


Рис. 1. Динаміка рівня кальцію у першій групі на BLW прикормі

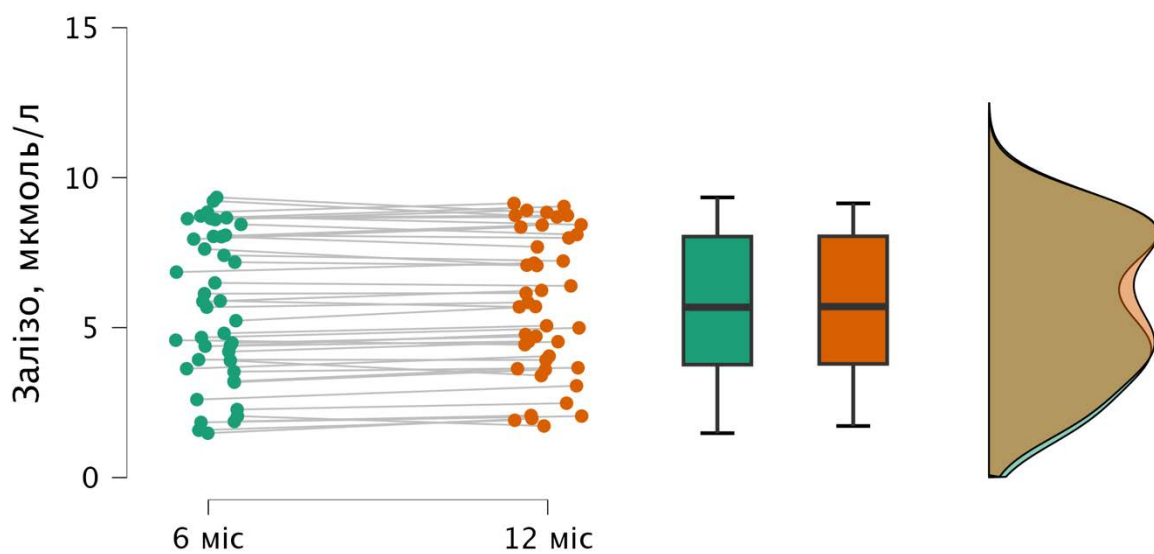


Рис. 2. Динаміка рівня заліза у першій групі на BLW прикормі

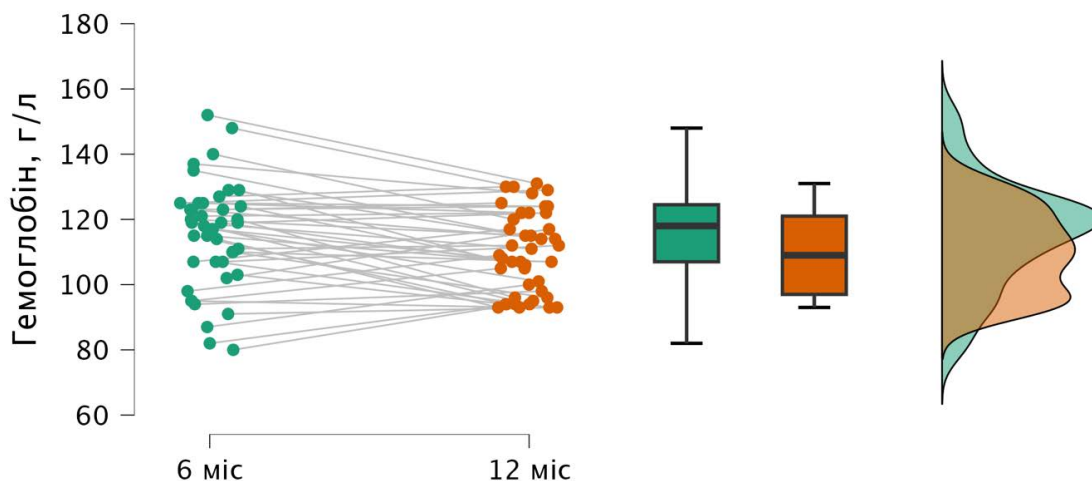


Рис. 3. Динаміка рівня гемоглобіну у першій групі на BLW прикормі

Стосовно дітей 2-ї групи, які отримували традиційне вигодовування батьками з ложки, то порівняльний аналіз аналогічних показників продемонстрував, що за 6 місяців введення прикорму на тлі грудного вигодовування рівні аналізованих показників були в межах вікової

норми. Звертаємо також увагу, що рівень гемоглобіну мав тенденцію до зниження, що відповідало граничним значенням вікової норми (рис. 5), а глюкози навпаки – до збільшення, але не вище межі вікової норми.

Таблиця 2

Динаміка лабораторних показників у другій групі на традиційному виді прикорму

Показник	6-й місяць (n=43)	12-й місяць (n=39)	p
Загальний білок, г/л	62,1±6,37	63,2±6,12	0,152
Загальний білірубін, мкмоль/л	5,37±1,75	5,28±1,65	0,105
Глюкоза, ммоль/л	4,63±0,961	4,70±0,942	0,125
Кальцій, ммоль/л	2,45±0,32	2,37±0,25	0,116
Залізо, мкмоль/л	6,58±3,23	6,61±3,32	0,470
Гематокрит, %	40,4±5,66	39,5±4,24	0,121
Гемоглобін, г/л	123,2±16,9	119,8±12,8	0,123

Порівняльний аналіз лабораторних показників у 3-й групі дітей на змішаному виді прикорму продемонстрував вірогідне збільшення рівня глюкози (але в межах вікової норми) через 6 місяців введення твердої їжі (таблиця 3, рис. 4).

Також ми звернули увагу на рівні гемоглобіну, які визначені на нижніх значеннях вікової норми у 6 місяців і утримувались у таких показниках через 6 місяців після введення прикорму.

Таблиця 3

Динаміка лабораторних показників у третій групі на змішаному виді прикорму

Показник	6-й місяць (n=56)	12-й місяць (n=52)	p
Загальний білок, г/л	61,9±5,79	62,4±5,87	0,175
Загальний білірубін, мкмоль/л	5,96±1,86	5,83±1,85	0,341

Продовження таблиці 3

Показник	6-й місяць (n=56)	12-й місяць (n=52)	p
Глюкоза, ммоль/л	4,65±0,79	4,87±0,77	0,044
Кальцій, ммоль/л	2,34±0,29	2,32±0,19	0,095
Залізо, мкмоль/л	6,21±2,79	6,05±2,82	0,132
Гематокрит, %	41,0±5,60	39,1±3,84	0,102
Гемоглобін, г/л	120,6±14,7	120,3±11,6	0,133

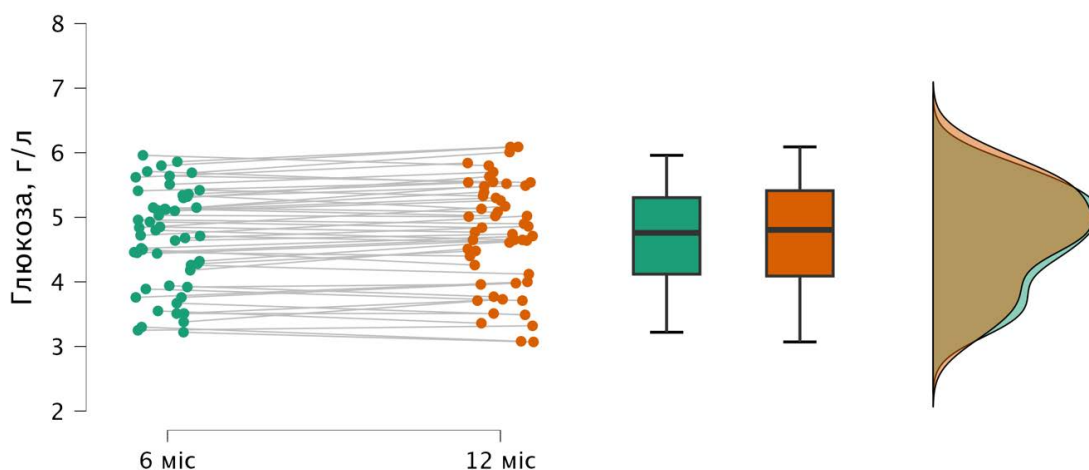


Рис. 4. Динаміка рівня глюкози у третій групі на змішаному виді прикорму

Таким чином, ми спостерігали різницю між динамікою зміни різних лабораторних показників у групах дослідження. У 1-й групі дітей на BLW-прикормі за 6 місяців рівень загального білка мав значну тенденцію до зниження, а рівні кальцію, заліза і гемоглобіну вірогідно зменшилися порівняно з даними перед введенням прикорму. У 2-й групі дітей на традиційному прикормі жодних статистичних змін і тенденцій у досліджуваних показниках не спостерігалось.

У 3-й групі дітей на змішаному вигодовуванні нами виявлено збільшення рівнів глюкози в 12 місяців, однак дані показники були в межах прийнятої норми.

Для порівняння лабораторних показників, які зазнали змін через 6 місяців введення різних видів прикорму, у групах дослідження проведено їх однофакторний дисперсійний аналіз на 12-му місяці життя.

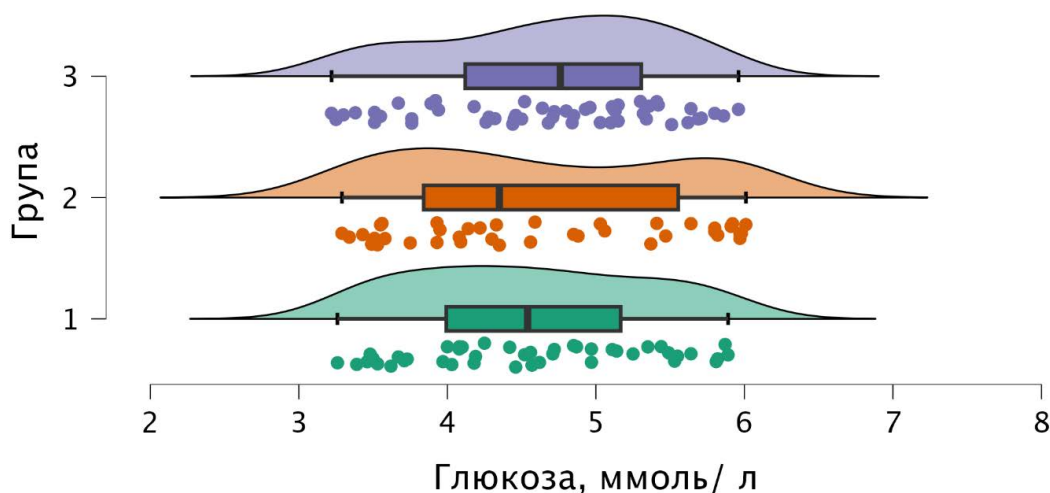


Рис. 5. Рівні глюкози у дослідних групах на 12-му місяці життя, ммоль/л

Таблиця 4

Однофакторний дисперсійний аналіз рівня глюкози у дослідних групах на 12-му місяці життя

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Групи	0.334	2	0.167	0.244	0.784
Residuals	90.435	132	0.685		

За даними однофакторного порівняльного аналізу, проведеному через 6 місяців введення різних видів прикорму, виявлено, що на 12-му місяці життя між дітьми усіх груп не було вірогідної різниці у рівнях глюкози ($F=0,244$, $p=0,784$), рис. 5, таблиця 4.

Натомість, рівень кальцію, за даними однофакторного порівняльного аналізу, статистич-

но відрізнявся ($F=3,084$, $p=0,049$) за рахунок зменшення його показників у групі дітей на BLW-прикормі (рис. 6, таблиця 5). Подібно як і рівень заліза вірогідно відрізнявся між групами дослідження через 6 місяців після введення різних видів прикорму ($F=3,224$, $p=0,043$), рис. 7, таблиця 6.

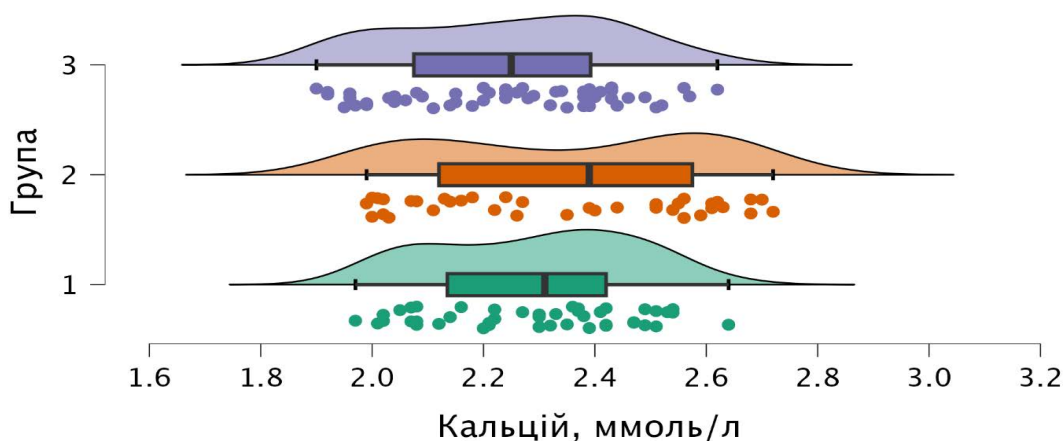


Рис. 6. Рівні кальцію у дослідних групах на 12-му місяці життя, ммоль/л

Таблиця 5

Однофакторний дисперсійний аналіз рівня кальцію у дослідних групах на 12-му місяці життя

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Групи	0.267	2	0.134	3.084	0.049
Residuals	5.715	132	0.043		

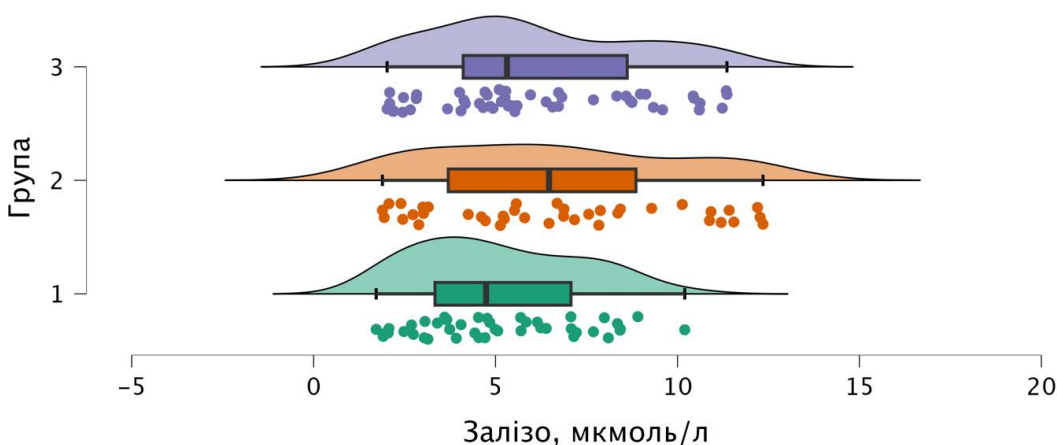


Рис. 7. Рівні заліза у дослідних групах на 12-му місяці життя, мкмоль/л

Таблиця 6

Однофакторний дисперсійний аналіз рівня заліза у дослідних групах на 12-му місяці життя

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Групи	50.904	2	25.452	3.224	0.043
Residuals	1042.042	132	7.894		

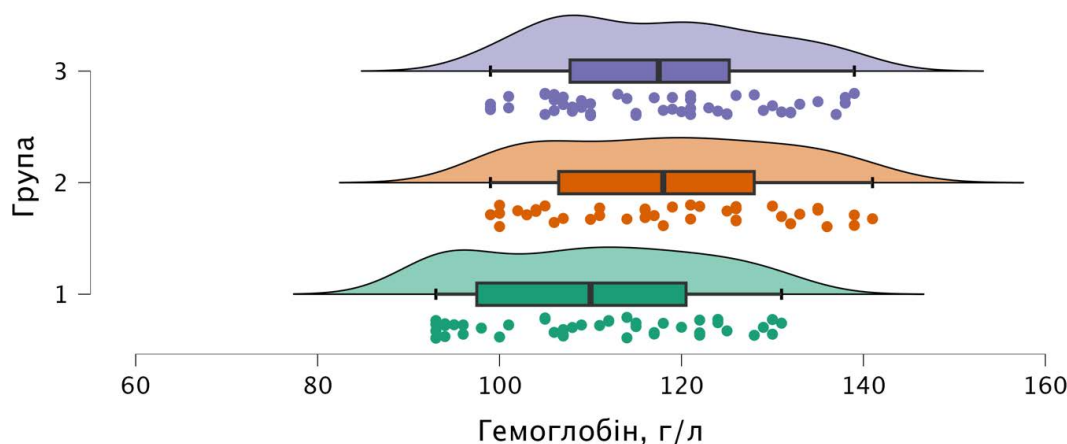


Рис. 8. Рівні гемоглобіну у дослідних групах на 12-му місяці життя, г/л

Таблиця 7

Однофакторний дисперсійний аналіз рівня гемоглобіну у дослідних групах на 12-му місяці життя

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Групи	1843.983	2	921.992	6.215	0.003
Residuals	19582.417	132	148.352		

Щодо порівняння показників гемоглобіну, поданих на рис. 8 і в таблиці 7, результати показали, що також була виявлена різниця між групами дітей ($F=6.215$, $p=0.003$), що зумовлено зменшенням цього показника у дітей 1-ї групи на BLW-прикормі.

Обговорення. У нашому дослідженні виявлено, що через 6 місяців після введення різних видів прикорму саме у дітей на BLW-прикормі рівні кальцію, заліза та гемоглобіну були нижчими, ніж у дітей аналогічного віку, яким вводили традиційний і змішаний види прикорму. Щодо традиційного прикорму, то було очевидним, що батьки чітко усвідомлюють, скільки і які продукти вводити дітям у вигляді прикорму. Насторожує також, що у дітей на змішаному виді прикорму спостерігалось вірогідне збільшення рівня глюкози, хоча рівень у 12 місяців не перевищував нормальні показники. Дана тенденція вказує на ймовірність порушень обміну глюкози з часом, що може призвести до надлишкової ваги та ожиріння. Це очевидно пояснюється намаган-

ням батьків надлишково догодувати дитину через відсутність контролю за кількістю їжі, яку дитина самостійно споживала за BLW-методикою.

Отримані нами дані щодо недоліків і переваг BLW-прикорму є подібними до результатів інших проведених досліджень. Зокрема, Rowan H і співавт., 2021 [5] проаналізували та порівняли споживання їжі серед дітей на BLW і на традиційному введенні «твердої їжі». Дослідження показало, що у немовлят віком 40-52 тижні середнє споживання в обох групах відповідало рекомендаціям ВООЗ щодо 830 калорій з молока та твердої їжі (норма для немовлят віком 9-11 місяців). Проте дослідження немовлят віком 26-39 тижнів свідчило, що група дітей на традиційному прикормі споживала значно більше енергії, вуглеводів і білків, а також ключових мікроелементів: заліза, кальцію і вітаміну Д. Однак, враховуючи, що процес введення твердої їжі для немовлят має бути поступовим, з наголосом на постійному споживанні молока, особливо в перші місяці, ці результати підкреслюють, як BLW може під-

тримувати поступовий перехід на споживання твердої їжі. Власне, більш повільний перехід на тверду їжу знижує ризик надмірного споживання енергії та макронутрієнтів – зокрема, білка, а також знижує ризик занадто швидкого зменшення кількості молока, яке все ще забезпечує значну кількість поживних речовин, а у випадку грудного молока – антитіл та інших захисних факторів для дитини [1]. Інші автори також у перевагах BLW зазначили, що метод вигодовування, де немовлята мають більший контроль над споживанням твердої їжі, а також потенційно повільніший темп їжі в результаті самостійного годування – може підтримувати немовлят у харчуванні відповідно до енергетичних потреб, а не батьківських уявлень [3].

D. Pearce та співавт. [10] у дослідженнях серед дітей на традиційному і BLW-прикормі у віці 6-8 місяців і 9-12 місяців виявили, що дітей на традиційному прикормі, незалежно від віку, годують частіше. Не спостерігалось відмінностей у споживанні поживних речовин серед дітей віком 9-12 місяців. Однак, споживання вітаміну B12 і вітаміну D було значно вищим у дітей від 6 до 8 місяців на традиційному вигодовуванні. А також рівні заліза у цієї групи дітей були вищими порівняно з дітьми на BLW через споживання збагачених залізом каш для дитячого харчування комерційного виробництва.

У чилійському дослідженні Quintiliano-Scarpelli та співавт. [11] спостерігали високу частоту додавання солі (32,0%), цукру (8,8%), меду (7,7%) або підсолоджувачів до дитячого харчування перших двох років життя. Споживання солі, цукру, підсолоджувачів і меду дітьми віком до 2 років асоціюється з ожирінням і ризиком ботулізму [8].

У дослідженні Lisa Daniels і співавт. [4] з Нової Зеландії визначали та порівнювали споживання заліза та стан немовлят на модифікованому BLW (Baby-Led Introduction to SolidS, BLISS) прикормі та на традиційному введенні «твердої їжі». За результатами не виявлено достовірних відмінностей у середньому споживанні заліза з їжею між контрольною групою та групою BLISS через 7 місяців (різниця 0,6 мг/день; 95% ДІ від -1,0 до 2,3) і 12 місяців (-0,1 мг/день; -1,6 до 1,4). Подібним чином не було суттєвих відмінностей у концентрації феритину в плазмі (різниця -2,6 мкг/л; 95% ДІ від -10,9 до 5,8) та заліза в організмі (0,04 мг/кг; від -1,1 до 1,2). Функціонального дефіциту заліза чи залізодефіцитної анемії (усі $p \geq 0,65$) у дітей обох груп дослідження у віці 12 місяців також не спостерігалось. Автори дійшли висновку, що підхід до прикорму під керівництвом дитини не збільшує ризик дефіциту заліза

у немовлят, однак за умов, якщо їхнім батькам радять давати продукти з високим вмістом заліза під час кожного прийому їжі. Власне це дослідження акцентує увагу на модифікації версії BLW, де при BLISS немовлятам пропонують більше порцій і продуктів збагачених залізом продуктів. Аналогічні результати при BLISS отримала й група дослідників під керівництвом Sonya L Cameron, 2015 [12]. У підсумку авторами був зроблений висновок, що BLISS може призвести до більшого споживання заліза та меншого ризику удушення, ніж немодифікований BLW.

Висновок. Підсумовуючи отримані нами результати, можна зробити висновок, що, незважаючи на зростання популярності серед сучасних українських родин порівняно нового методу прикорму «відлученням під керівництвом дитини», існують ризики недостатнього надходження у дитячий організм низки важливих мікронутрієнтів і ймовірного формування залізодефіцитної анемії. Звичайно, наше дослідження має слабкі сторони через невелику вибірку дітей і підтвердження даних потребує великих рандомізованих контрольованих досліджень. Однак, вже отримані нами результати насторожують і вказують на необхідність навчання матерів перед вибором BLW як виду прикорму для дітей відповідного віку, а в національному масштабі – розробки конкретних рекомендацій по модифікації BLW з акцентом на введення продуктів, збагачених кальцієм і залізом.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Andreas NJ, Kampmann B, Le-Doare KM.* Human breast milk: a review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev.* 2015; 91(11): 629–35.
2. *Boswell N.* Complementary Feeding Methods-A Review of the Benefits and Risks. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Jul 4;18(13):7165. doi: 10.3390/ijerph18137165.
3. *Brown A, Lee M.* Maternal child-feeding style during the weaning period: association with infant weight and maternal eating style. *Eat Behav.* 2011; 12(2): 108–11.
4. *Daniels L, Taylor RW, Williams SM, Gibson RS, Fleming EA, Wheeler BJ et al.* Impact of a modified version of baby-led weaning on iron intake and status: a randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2018 Jun 27;8(6):e019036. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019036
5. *Hannah Rowan, Michelle Lee, Amy Brown.* Estimated energy and nutrient intake for infants following baby-led and traditional weaning approaches. *J Hum Nutr Diet.* 2022;35:325–336. DOI: 10.1111/jhn.12981

6. Huss LR, Dean J, Lamothe LM, Hamaker B, Reuhs B, Goran MI, Lê KA. Micronutrient Profile and Carbohydrate Microstructure of Commercially Prepared and Home Prepared Infant Fruit and Vegetable Purees. *Nutrients*. 2022 Dec 22;15(1):45. doi: 10.3390/nu15010045.
7. Langley-Evans SC. Complementary feeding: Should baby be leading the way? *J Hum Nutr Diet*. 2022 Apr;35(2):247-249. doi: 10.1111/jhn.12988
8. Macintyre, A.K., Marryat, L., Chambers, S. Exposure to liquid sweetness in early childhood: Artificially-sweetened and sugarsweetened beverage consumption at 4–5 years and risk of over-weight and obesity at 7–8 years. *Pediatr. Obes*. 2018, 13, 755–765
9. Nantel A, Gingras V. Are Complementary Feeding Practices Aligned with Current Recommendations? A Narrative Review. *Children (Basel)*. 2023 Apr 28;10(5):794. doi: 10.3390/children10050794.
10. Pearce Jo, Langley-Evans SC. Comparison of food and nutrient intake in infants aged 6-12 months, following baby-led or traditional weaning: A cross-sectional study *J Hum Nutr Diet*. 2022 Apr;35(2):310-324. doi: 10.1111/jhn.12947
11. Quintiliano-Scarpelli D, Lehmann N, Castillo B, Blanco E. Infant Feeding and Information Sources in Chilean Families Who Reported Baby-Led Weaning as a Complementary Feeding Method. *Nutrients* 2021, 13, 2707. <https://doi.org/10.3390/nu13082707>
12. Sonya L Cameron, Rachael W Taylor, Anne-Louise M Heath. Development and pilot testing of Baby-Led Introduction to Solids—a version of Baby-Led Weaning modified to address concerns about iron deficiency, growth faltering and choking *BMC Pediatr*. 2015 Aug 26;15:99. doi: 10.1186/s12887-015-0422-8
13. Таршина К.І., Шарикадзе О.В. Дослідження поширеності BLW прикорму серед українських матерів із немовлятами після 6-місячного віку. *Проблеми клінічної педіатрії*. 2024;1(63):8-14.

РЕЗЮМЕ

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ МІКРОНУТРИЄНТІВ І БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ДІТЕЙ НА РІЗНИХ ВИДАХ ПРИКОРМУ

ТАРШИНА К.І., ШАРИКАДЗЕ О.В.

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика
м. Київ

Вступ. «Відлученням під керівництвом дитини» (англ. Baby led weaning, BLW) – порівняно новий, альтернативний метод введення дитині прикорму, який є досить поширеним у багатьох країнах світу. Цей метод дозволяє дітям самостійно брати їжу із сімейного столу, яка готується і подається, щоб бути безпечною для немовлят. Дослідження недоліків і переваг BLW-прикорму, особливо щодо впливу на ріст і розвиток дитини, а також засвоєння нею достатньої вікової кількості макро- і мікронутрієнтів залишається предметом дискусій.

Мета роботи. Проведення порівняльного аналізу ефективності застосування різних видів прикорму на підставі визначення рівнів заліза, кальцію і показників білкового обміну на шостому та дванадцятomu місяцях життя дітей.

Матеріали і методи. У дослідження залучено 146 дітей віком 6-7 місяців. Залежно від методу прикорму, діти були розділені на 3 групи: перша група – діти, які знаходились на BLW-прикормі (47 осіб), друга група – діти, які отримували традиційне вигодовування (43 особи) та третя група – діти, яким пропонували змішаний тип вигодовування (56 осіб). Дослідження біологічного матеріалу проводили двічі: до та через 6 місяців введення різних видів прикорму. На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнтів (батьків/опікунів). Статистичний аналіз проводився з допомогою програмного забезпечення JASP.

Результати та їх обговорення. У ході дослідження встановлено різницю між динамікою зміни досліджуваних лабораторних показників у групах дітей на різних видах прикорму. У 1-й групі дітей на BLW-прикормі за 6 місяців рівень загального білка мав значну тенденцію до зниження, а рівні кальцію ($p=0,039$), заліза ($p=0,046$) і гемоглобіну ($p=0,034$) вірогідно зменшились порівняно з даними перед введенням прикорму. У 2-й групі дітей на традиційному прикормі жодних статистичних змін і тенденцій у досліджуваних показниках не спостерігалось. У 3-й групі дітей на змішаному вигодовуванні виявлено збільшення рівнів глюкози ($p=0,044$) в 12 місяців, однак дані показники були в межах прийнятої норми. За даними однофакторного порівняльного аналізу, на 12-му місяці життя між дітьми усіх груп не визначено різниці у рівнях глюкози ($F=0,244$, $p=0,784$), натомість рівні кальцію ($F=3,084$, $p=0,049$), заліза ($F=3,224$, $p=0,043$), гемоглобіну ($F=6,215$, $p=0,003$) були меншими у дітей 1-ї групи на BLW-прикормі.

Висновки. У дітей на BLW-прикормі існують ризики недостатнього надходження у дитячий організм низки важливих мікронутрієнтів і ймовірного формування залізодефіцитної анемії. Отримані ре-

зультати вказують на необхідність навчання матерів перед вибором BLW як виду прикорму для дітей відповідного віку, а в національному масштабі – розробки конкретних рекомендацій по модифікації BLW з акцентом на введення продуктів, збагачених кальцієм і залізом.

Ключові слова: BLW-прикорм, залізодофіцитна анемія, мікронутрієнти, білковий обмін.

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS OF INDICATORS OF MICRONUTRIENTS AND PROTEIN METABOLISM IN CHILDREN ON DIFFERENT TYPES OF COMPLEMENTARY FOODS

TARSHYNA K.I., SHARIKADZE O.V.

P.L. Shupyk National University of Health Care of Ukraine, Kyiv

Introduction. Baby-led weaning (BLW) is a relatively new, alternative method of introducing complementary foods to a child, which is quite common in many countries of the world. This method allows children to self-select food from the family table that is prepared and served to be safe for babies. The study of the disadvantages and advantages of BLW complementary foods, especially regarding the impact on the growth and development of the child, as well as its assimilation of a sufficient age-specific amount of macro- and micronutrients, remains a subject of debate.

The aim of the study. Carrying out a comparative analysis of the effectiveness of the use of different types of supplementary food based on the determination of the levels of iron, calcium and indicators of protein metabolism in children in the sixth and twelfth months of life.

Materials and methods. 146 children aged 6-7 months were involved in the study. Depending on the method of supplementary feeding, the children were divided into 3 groups: the first group – children who were on BLW supplementary feeding (47 people), the second group – children who received traditional feed-

ing (43 people) and the third group – children who were offered a mixed type of feeding (56 people). The study of biological material was carried out twice before and after 6 months of introduction of different types of supplementary food. Informed consent of the patients (parents/guardians) was obtained for the research. Statistical analysis was performed using JASP software.

Results and their discussion. In the course of the study, the difference between the dynamics of changes in the studied laboratory indicators in groups of children on different types of supplementary food was established. In the 1st group of children on BLW supplementary food for 6 months, the level of total protein had a significant tendency to decrease, and the levels of calcium ($p=0.039$), iron ($p=0.046$) and hemoglobin ($p=0.034$) were significantly reduced compared to the data before the introduction supplement. In the 2nd group of children on traditional complementary foods, no statistical changes and trends in the studied indicators were observed. In the 3rd group of children on mixed feeding, an increase in glucose levels was found ($p=0.044$) in 12 months, however, these indicators were within the accepted range. According to the univariate comparative analysis at 12 months of life, there was no difference in the levels of glucose ($F=0.244$, $p=0.784$), but the levels of calcium ($F=3.084$, $p=0.049$), iron ($F=3.224$, $p=0.043$), hemoglobin ($F=6.215$, $p=0.003$) were lower in children of the 1st group on BLW supplementary food.

Conclusions. In BLW children with complementary foods, there are risks of insufficient intake of a number of important micronutrients in the child's body and the possible formation of iron deficiency anemia. The obtained results indicate the need to educate mothers before choosing BLW as a type of complementary food for children of the appropriate age, and on a national scale – the development of specific recommendations for the modification of BLW with an emphasis on the introduction of products enriched with calcium and iron.

Key words: BLW supplementary food, iron deficiency anemia, micronutrients, protein metabolism.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• Таршина Катерина Ігорівна

Аспірантка кафедри педіатрії, дитячих інфекційних захворювань, алергології та імунології НУОЗ України ім. П.Л. Шупика
Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
Тел.: +38 (044) 205-49-67
E-mail: dr.tolstikova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8267-9000>.

• Шарикадзе Олена Вікторівна

Д.мед.н., професорка, директорка Інституту післядипломної освіти та безперервного професійного розвитку НУОЗ України ім. П.Л. Шупика, професорка кафедри педіатрії, дитячих інфекційних захворювань, алергології та імунології НУОЗ України ім. П.Л. Шупика
Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
Тел.: +38 (044) 205-49-67
E-mail: sharikadzelena@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7656-2307>

• Tarshyna Kateryna

PhD student of the Department of Pediatrics, Children's Infectious Diseases, Allergology and Immunology of the P.L. Shupyk National HealthCare University of Ukraine
Address: Kyiv, str. Dorohozhytska, 9
Tel.: +38 (044) 205-49-67
E-mail: dr.tolstikova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8267-9000>

• Sharikadze Olena

Doctor of medical sciences, professor, Director of the Institute of Postgraduate Education and Continuous Professional Development of P.L. Shupyk National Health Care University of Ukraine, Professor of Department of Pediatrics, Children's Infectious Diseases, Allergology and Immunology of P.L. Shupyk National Health Care University of Ukraine
Address: Kyiv, str. Dorohozhytska, 9
Tel.: +38 (044) 205-49-67
E-mail: sharikadzelena@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7656-2307>

Стаття надійшла до редакції 04.06.2024 р.

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ГНІЗДОВІЙ (ВОГНИЩЕВІЙ) АЛОПЕЦІЇ

ХАЛДЄЄВА А.Є.

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

Вступ. Гніздова алопеція (ГА), яка викликає втрату волосся без утворення рубців, є зворотнім автоімунним випадінням волосся. ГА зустрічається на шкірі скальпа, в зоні росту брів та вій або росту волосся на тілі. Всього в світі приблизно 2% страждає на гніздову або вогнищеву алопецію [1, 2]. Вважається, що руйнування імунною системою волоссяного фолікула є причиною ГА [3, 4]. Знищення імунних привілеїв (ІП) в стадії анагену волоссяної цибулини є ключовим елементом патогенезу ГА. Складність запальної екосистеми імунної відповіді на волоссяний фолікул і взаємозв'язки між клітинними та гуморальними чинниками залишаються не повністю зрозумілими. Багато досліджень продемонстрували наявність різних імунних клітин навколо хворих волоссяних фолікулів, однак мало відомо про їхній відповідний внесок у патогенез ГА. Поглиблення розуміння механізмів захворювання при ГА має важливе значення для ідентифікації нових цільових терапевтичних засобів, які є ефективними та не мають небажаних ефектів.

Метою даного дослідження було визначення особливостей складу клітинної ланки імунної системи у хворих на гніздову (вогнищеву) алопецію при проведенні дослідження хворих на ГА із застосуванням базового клінічного імунологічного дослідження – визначення маркерів фенотипу популяцій лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD19, та додатково до протоколу дослідження було включено визначення експресії активуючих CD314(NKG2D) та інгібуючих CD94(NKG2A) рецепторів на Т-лімфоцитах.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведено зі включенням 30 хворих на ГА, віком від 20 до 40 років: 6 чоловіків і 24 жінки, давність захворювання 1,5-2 роки, SBN: S1B0N0, та 20 практично здорових донорів без проявів будь-яких типів алопеції протягом життя.

Вимоги до загального включення: відсутність захворювання на будь-які вірусні та інші інфекції, які можуть спричинити імуносупресивні стани, відсутність прийому будь-яких медикаментів, які можуть чинити імуномодуючий ефект за 2 місяці до та на момент дослідження.

З метою розуміння динамічних індивідуальних змін показників клітинної ланки імунітету, з визначенням CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, CD314 та CD94 виконували двічі, з інтервалом в 21 день. До дослідження зараховувались хворі з однотипними результатами імунологічних досліджень, загальний відсоток розбіжностей між першим та повторним дослідженням був не більше 2% по всім показникам.

Забір крові виконувався відповідно до стандартної операційної процедури з використанням КЗЕДТА в якості антикоагулянту.

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферійної крові досліджували методом проточної цитометрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціації виробництва "Beckman Coulter Inc.", США (Cyto-Stat тетраCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, CYTO-STAT тетраCHROME CD45FITC, CD56RD1, CD19ECD, CD3PC5, IOTest CD56PC5, IOTest CD3FITC, CD314APC, CD94PE, IOTest CD45PC7). Цитофлуорометричний аналіз виконували на проточному цитометрі NAVIOS ("Beckman Coulter Inc."). В результатах аналізу відображали такі показники (у відсотках та абсолютних значеннях) в складі імунологічного дослідження:

1. Базова частина – CD19 (CD3⁻19⁺), NK-натуральні кілери CD56⁺ (CD3⁻56⁺), Т-лімфоцити з цитотоксичною активністю, які експресують маркери NK-клітин (CD3⁺56⁺), Т-лімфоцити всі (CD3⁺19⁻), Т-кілери/супресори (CD3⁺8⁺), Т-хелпери (CD3⁺4⁺), індекс імуногенності (CD4⁺/CD8⁺).
2. Додатково визначали показник експресії CD314⁺ та CD94⁺ у відсотках та абсолютних значеннях: серед всіх Т-лімфоцитів та на клітинах NK (CD3⁻56⁺314⁺, CD3⁻56⁺94⁺).

Серед всіх NK, маркованих CD3⁻56⁺ (прийнятих за 100%) – відсоток клітин, що не мають експресії жодного з вищевказаних маркерів, позитивні тільки за CD314⁺ і позитивні за обома рецепторами (CD3⁻56⁺314⁺94⁺). Серед Т-лімфоцитів визначали окремо відсоток Т-клітин, які не марковані жодним рецептором, позитивні за CD314⁺ та позитивні за обома ре-

цепторами (CD3⁺56⁺314⁻94⁻, CD3⁺56⁺314⁺94⁻, CD3⁺56⁺314⁺94⁺).

Статистичну обробку проводили з використанням програми Statistica 10 для Windows (StatSoft, США). Вірогідність різниці встановлювали за тестом Манна-Уїтні (непарний, непараметричний, двоххвостий). Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення. Із матеріалів імунологічного обстеження 30-ти пацієнтів з гніздовою (вогнищевою) алопецією, 4 результати дослідження не мали особливих змін, і відрізнялись широкими коливаннями результатів в межах референтних значень ($p > 0,05$) в динаміці вимірів. 26 результатів показали достовірні зміни наступних показників:

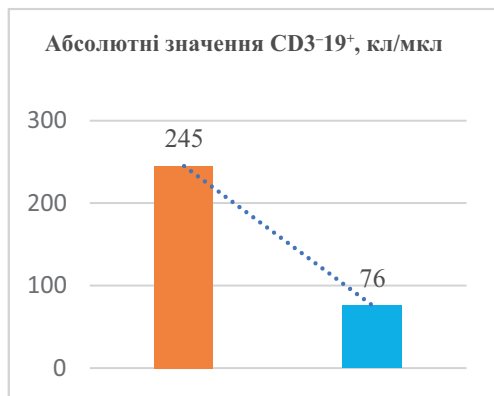
Таблиця 1

В-клітини – гранично низькі показники і в відсотковому, і в абсолютному значенні в динаміці вимірювань у хворих на ГА

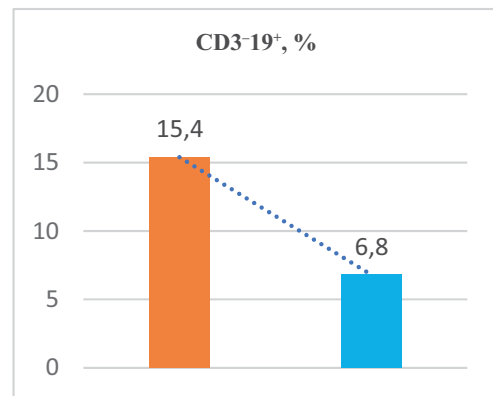
В-лімфоцити, CD3 ⁺ 19 ⁺	Хворі на гніздову алопецію*	Контрольна група**	Референтні значення
Відсоток, %	6,4	15,43	7-17
Абсолютні значення, кл/мкл	76	245	111-376

Примітка: * – $p < 0,001$, ** – $p > 0,05$

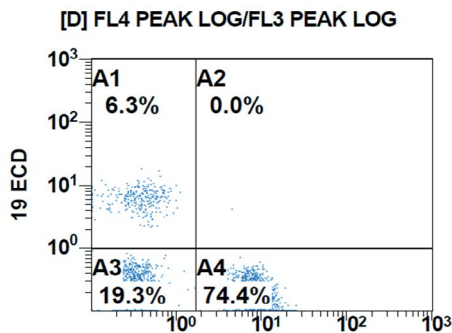
Презентаційні графіки:



Контрольна група Хворі на ГА

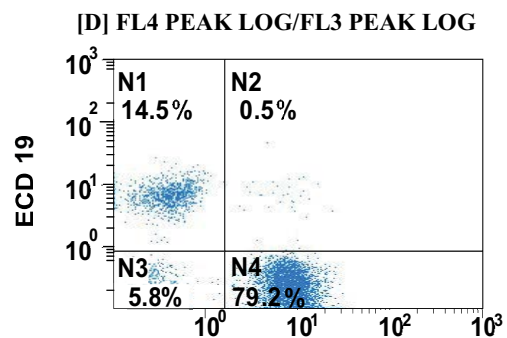


Гістограма 1



Хворі на ГА. A1 – CD3⁻CD19⁺, A3 – CD3⁻CD19⁻, A4 – CD3⁺CD19⁻

Гістограма 2



Контрольна група N1- CD3⁻CD19⁺, N3 - CD3⁻CD19⁻, N4 - CD3⁺CD19⁻

Із інформаційних джерел відомо, що регуляторні В-клітини (B-regs) виробляють проти-запальні фактори, такі як IL-10, IL-35 і TGF- β , які чинять імуносупресивну дію при аутоімунних захворюваннях шляхом індукції регуляторних

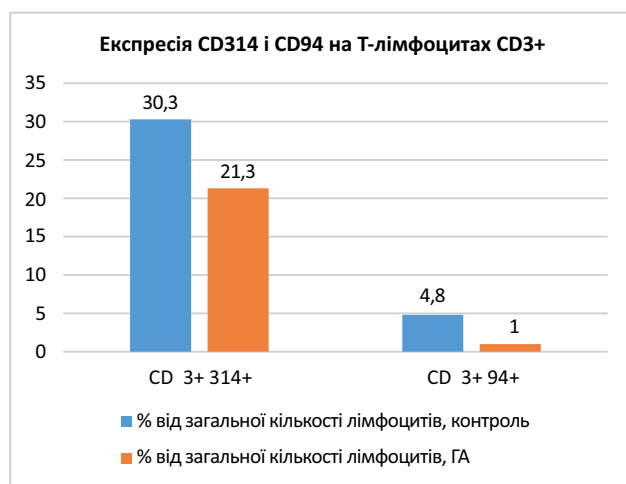
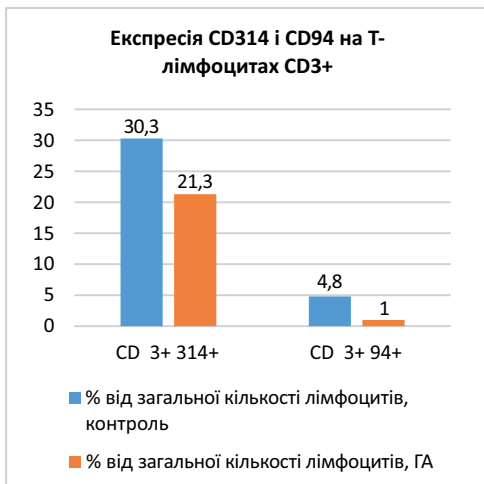
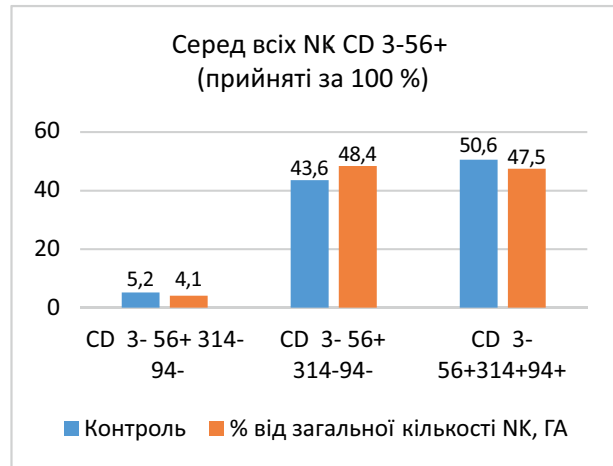
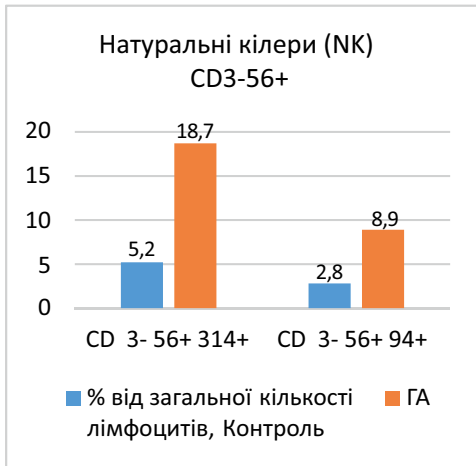
Т-клітин [10]. Тому важливими додатковими дослідженнями при наданні оцінки стану клітинного імунітету у хворих на ГА, за даними різних дослідників [8-13], є визначення сироваткових рівнів IL-10 та IFN- γ . Віднайдені різними автора-

ми взаємозв'язки між зниженими кількостями в периферичній крові В-клітин CD19⁺ CD24^{hi} CD38^{hi} та підвищеними NKG2D⁺ CD8⁺ Т-клітин, а також відповідно зниженими рівнями IL-10 та підвищеними рівнями IFN- γ в сироватці [3-6, 9-13], дають змогу застосувати ці показники в якості аналітичного інструменту оцінки тяжкості стану та прогнозування ефективності лікування ГА. Проте аналіз імунологічних показників при ГА потрібно проводити взаємозв'язано з порушенням В-клітинної ланки і, відповідно, станом Т-клітин.

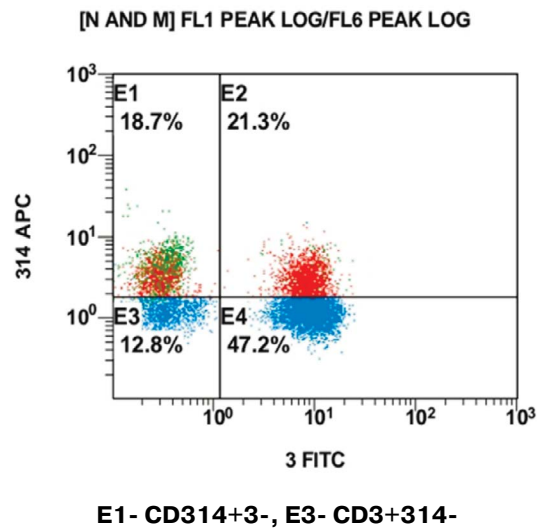
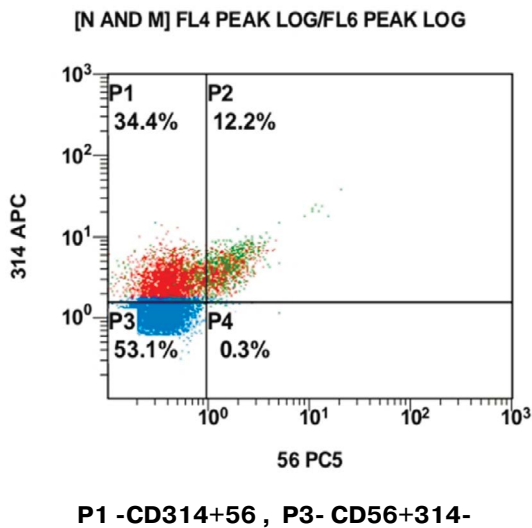
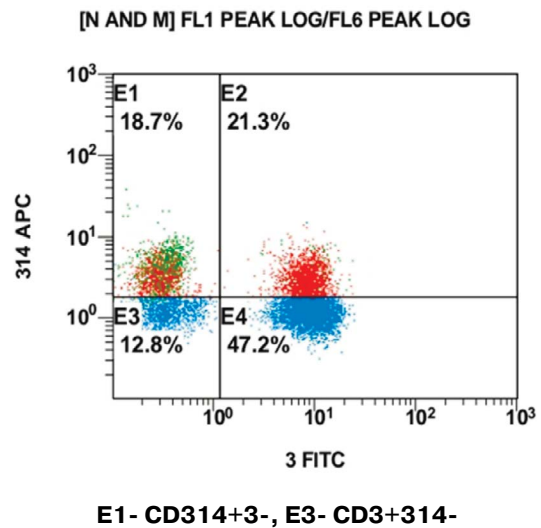
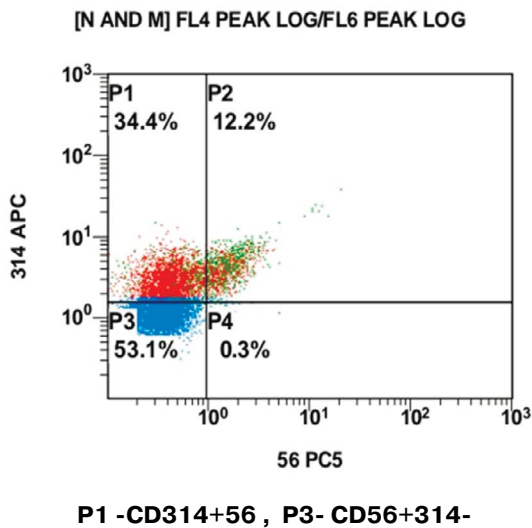
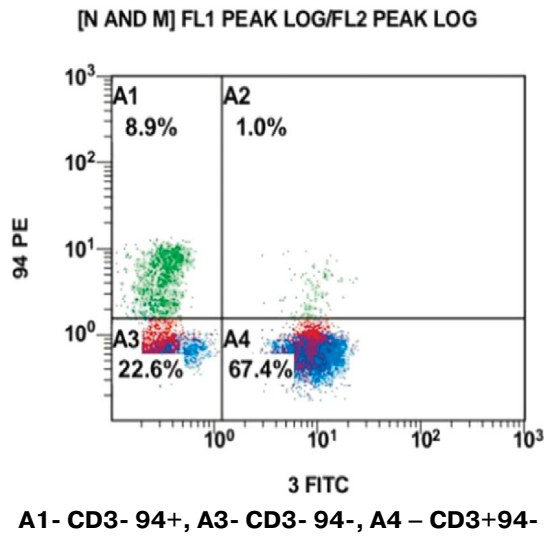
В дослідження було включено визначення експресії CD314(NKG2D) та CD94(NKG2) на CD3 (всі Т-клітини) та CD56. Досліджені та описані в інформаційних джерелах зміни NKG2D⁺ CD8⁺ Т-клітин (підвищені) та пов'язані і корелюючі рівні IFN- γ сьогодні вважаються доведеними у значної кількості хворих на ГА. Проте недостатньо освітлена вся система комплексних імуноглобулінових рецепторів (KIR) і не висвітлено ролі CD94/NKG2, що експресується на природних кілерах (NK) і на невеликій підгрупі Т-клітин. Цей рецептор змінює свою функцію на інгібіторну або активаторну залежно від того,

яка ізоформа NKG2 експресується на клітинах. Подібно до НК-клітин, більшість Т-клітин CD8⁺, які експресують високі рівні CD94, одночасно експресують інгібіторну ізоформу NKG2A. Залучення цього рецептора може призвести до блокування цитотоксичності. Однак ці рецептори також беруть участь у виживанні як НК, так і CD8 Т-клітин. Рівень експресії CD94 обернено корелює з рівнем апоптозу в культурі клітин. Рецептори CD94/NKG2 можуть регулювати ефекторні функції та виживання НК-клітин і CD8 Т-клітин, тим самим відіграючи вирішальну роль у вродженій та адаптивній імунній відповіді на патоген. NKG2D (CD314) – це активуючий рецептор клітинної поверхні, який переважно експресується на всіх НК-клітинах, NKT-клітинах та підмножинах $\gamma\delta$ Т-клітин. При ГА динаміка змін CD94/NKG2 не розглядалась, і даних про роль в каскаді змін Т-клітинної відповіді в патогенезі ГА в інформаційних джерелах не знайдено.

Нашими дослідженнями встановлено наступні зміни експресії CD94/NKG2 і NKG2D (CD314), представлені в презентаційних графіках і гістограмах:



Типові гістограми експресії CD94/NKG2 і NKG2D (CD314) хворих на ГА:



Результати: хворі на ГА з низькими рівнями В-клітин мають відповідно пов'язані порушення Т-клітинного імунітету, а саме:

1. Значно підвищені в порівнянні з контрольною групою CD3- 56+314+ (і в %, і в абсолютних значеннях) – в 3,6 рази, $p < 0,02$. Співвідношення CD3-56+314+ до CD3-56+94+ у хворих на ГА було 2,18, в контрольній групі – 1,82.
2. На всіх Т-лімфоцитах CD3+314+ та CD3+94+ в контрольній групі показники були вищі ($p < 0,05$), особливо експресія CD3+94+ – в 4,8 рази і CD3+314+ – в 1,4 рази.
3. Марковані за обома показниками (CD3+314+94+) Т-лімфоцити також в контрольній групі були в 3,2 рази вищі, ніж у хворих на ГА ($p < 0,04$).

Висновок. Пацієнти з ГА з низькими рівнями В-клітин складають окрему групу серед всіх хворих з вогнищевою алопецією і потребують імунокорегуючого лікування з імунологічними дослідженнями в супроводі. При цьому для первинного скринінгу достатньо виконувати базову клітинну імунограму (CD3, CD4, CD8, CD16+56), а в подальші дослідження додавати визначення експресії CD314+ та CD94+ з вимірюванням сироваткових рівнів інтерлейкіну 10 та гамма-інтерферону у хворих на ГА з низькими рівнями В-клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Safavi KH, Muller SA, Suman VJ, Moshell AN, Melton LJ 3rd.* Incidence of alopecia areata in Olmsted county, Minnesota, 1975 through 1989. *Mayo Clin Proc* (1995) 70:628–33. doi: 10.4065/70.7.628
2. *Lee HH, Gwillim E, Patel KR, Hua T, Rastogi S, Ibler E, et al.* Epidemiology of alopecia areata, ophiasis, totalis, and universalis: a systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol* (2020) 82:675–82. doi: 10.1016/j.jaad.2019.08.032
3. *Bertolini M, McElwee K, Gilhar A, Bulfone-Paus S, Paus R.* Hair follicle immune privilege and its collapse in alopecia areata. *Exp Dermatol* (2020) 29:703–25. doi: 10.1111/exd.14155
4. *Paus R, Bulfone-Paus S, Bertolini M.* Hair Follicle Immune Privilege Revisited: The Key to Alopecia Areata Management. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (2018) 19, S12eS17; doi: 10.1016/j.jisp.2017.10.014
5. *Ghraieb A, Keren A, Ginzburg A, Ullmann Y, Schrum AG, Paus R, et al.* iNKT cells ameliorate human autoimmunity: lessons from alopecia areata. *J autoimmunity*. (2018) 91:61–72. doi: 10.1016/j.jaut.2018.04.001
6. *Tanemura A, Oiso N, Nakano M, Itoi S, Kawada A, Katayama I.* Alopecia areata: infiltration of Th17 cells in the dermis, particularly around hair follicles. *Dermatol (Basel Switzerland)*. (2013) 226:333–6. doi: 10.1159/000350933
7. *Abou Rahal J, Kurban M, Kibbi AG, Abbas O.* Plasmacytoid dendritic cells in alopecia areata: missing link? *J Eur Acad Dermatol Venereology JEADV* (2016) 30:119–23. doi: 10.1111/jdv.12932
8. *Ali N, Zirak B, Rodriguez RS, Pauli ML, Truong HA, Lai K, et al.* Regulatory T cells in skin facilitate epithelial stem cell differentiation. *Cell*. (2017) 169:1119–29.e11. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.002
9. *Lee JY, Lim HJ, Kim SH, Lee GJ, Nam KH, Park J, Choi JK.* Decreased CD19+CD24hiCD38hi Regulatory B Cells in Alopecia Areata. *J Invest Dermatol*. 2024 Feb 21:S0022-202X(24)00160-X. doi: 10.1016/j.jid.2024.02.004. PMID: 38387525.
10. *Garcia Sergio G., Sandoval-Hell n Noelia, Franquesa Marcella.* Regulatory B Cell Therapy in Kidney Transplantation. *Frontiers in Pharmacology*. V.12. 2021. DOI=10.3389/fphar.2021.791450.ISSN=1663-9812
11. *Matsumura Y, Watanabe R, Koguchi-Yoshioka H, Nakamura Y, Saito A, Kume M, Nakai S, Ishitsuka Y, Furuta J, Fujimoto M.* IL-10 – Producing Potency from Blood B Cells Correlates with the Prognosis of Alopecia Areata. *J Invest Dermatol*. 2023 May;143(5):871-874.e5. doi: 10.1016/j.jid.2022.11.006. Epub 2022 Dec 9. PMID: 36502940.
12. *Rosser EC, Mauri C.* Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity*. 2015 Apr 21;42(4):607-12. doi: 10.1016/j.immuni.2015.04.005. PMID: 25902480.
13. *Simakou T, Butcher JP, Reid S, Henriquez FL.* Alopecia areata: A multifactorial autoimmune condition. *J Autoimmun*. 2019 Mar; 98:74-85. doi: 10.1016/j.jaut.2018.12.001. Epub 2018 Dec 15. PMID: 30558963.
14. *Torkestani S, Moghimi H, Farsiabi R, Khazaei S, Eftekharian MM, Dalvand E.* Evaluation of serum levels of IL-6, IL-10, and TNF-alpha in alopecia areata patients: a systematic review and meta-analysis. *Biomedical Research and Therapy*. 2021 Oct 31;8(10):4668-78.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ГНІЗДОВІЙ (ВОГНИЩЕВІЙ) АЛОПЕЦІЇ

ХАЛДЄЄВА А.Є.

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

Мета дослідження – визначення особливостей складу клітинної ланки імунної системи у хворих на гніздову (вогнищеву) алопецію, за протоколом базової клінічної імунограми (відповідно до Наказу МОЗ України №626 від 08.10.2007 р.) – популяцій лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD19, та експресії активуючих CD314(NKG2D) та інгібуючих CD94(NKG2A) рецепторів на Т-лімфоцитах.

Матеріали та методи. Дослідження проведено з включенням 30 хворих на ГА, віком від 20 до 40 років: 6 чоловіків і 24 жінки, давність захворювання 1,5-2 роки, SBN: S1B0N0, та 20 практично здорових донорів без проявів будь-яких типів алопеції протягом життя. Методом проточної цитофлуориметрії визначено субпопуляційний склад лімфоцитів периферійної крові (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) та експресію активуючих та інгібуючих рецепторів (CD314(NKG2D) і CD94(NKG2A)) на цитотоксичних клітинах з використанням реагентів для визначення кластерів диференціації виробництва "Beckman Coulter Inc." Цитофлуорометричний аналіз виконували на проточному цитометрі NAVIOS ("Beckman Coulter Inc.").

Результати дослідження. Хворі на ГА з низькими рівнями В-клітин мають відповідно пов'язані порушення Т-клітинного імунітету, а саме:

1. Значно підвищені в порівнянні з контрольною групою CD3-56+314+ (і в %, і в абсолютних значеннях) – в 3,6 рази, $p < 0,02$. Співвідношення CD3-56+314+ до CD3-56+94+ у хворих на ГА було 2,18, в контрольній групі – 1,82.
2. На всіх Т-лімфоцитах CD3+314+ та CD3+94+ в контрольній групі показники були вищі ($p < 0,05$), особливо експресія CD3+94+ – в 4,8 рази і CD3+314+ – в 1,4 рази.
3. Марковані за обома показниками (CD3+314+94+) Т-лімфоцити також в контрольній групі були в 3,2 рази вищі, ніж у хворих на ГА ($p < 0,04$).

Висновок. Пацієнти з ГА з низькими рівнями В-клітин складають окрему групу серед всіх хворих з вогнищеву алопецією і потребують імунокорегуючого лікування з імунологічними дослідженнями в супроводі. При цьому для первинного скринінгу достатньо виконувати класичну імунограму за Наказом МОЗ України №626 від 08.10.2007р., а в подальші дослідження додавати визначення експресії CD314+ та CD94+ з визначенням сироваткових рівнів інтерлейкіну 10 та гамма-інтерферону у хворих на ГА з низькими рівнями В-клітин.

пресії CD314+ та CD94+ з визначенням сироваткових рівнів інтерлейкіну 10 та гамма-інтерферону у хворих на ГА з низькими рівнями В-клітин.

Ключові слова: Імунограма, В- і Т-клітини, НК-клітини, CD314, CD94, гніздова алопеція, протокол фенотипування лімфоцитів при гніздовій алопеції.

SUMMARY

CHARACTERISTICS OF THE STATE OF CELLULAR IMMUNITY IN FOCAL ALOPECIA

KHALDIEVA A.

Bogomolets National Medical University
Kyiv, Ukraine

The purpose of the study is to determine the characteristics of the composition of the cellular link of the immune system in patients with alopecia areata, according to the protocol of the basic clinical immunogram (in accordance with the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 626 dated October 8, 2007) – lymphocyte populations CD3, CD4, CD8, CD16+56, CD19, and expression of activating CD314(NKG2D) and inhibitory CD94(NKG2A) receptors on T-lymphocytes.

Materials and methods. The study was conducted with the inclusion of 30 patients with HA, aged from 20 to 40 years, 6 men and 24 women, disease duration 1.5-2 years, SBN: S1B0N0 and 20 practically healthy donors without manifestations of any type of alopecia during life. The subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) and the expression of activating and inhibitory receptors (CD314(NKG2D) and CD94(NKG2A)) on cytotoxic cells were determined by the method of ductal cytofluorometry using reagents for the determination of differentiation clusters manufactured by "Beckman Coulter Inc." Cytofluorometric analysis was performed on a NAVIOS flow cytometer ("Beckman Coulter Inc.").

Results: AA (alopecia areata) patients with low B-cell levels have correspondingly associated abnormalities of T-cell immunity, namely:

1. 1. Significantly increased compared to the control group CD3-56+314+ (both in % and in absolute values) – 3.6 times, $p < 0.02$. The ratio of CD3-56+314+ to CD3-56+94+ in patients with HA was 2.18, in the control group – 1.82.
2. 2. On all CD3+314+ and CD3+94+ T-lymphocytes in the control group, the indicators were higher ($p < 0.05$), especially the expression of CD3+94+ – by 4.8 times and CD3+314+ – by 1.4 times.
3. 3. T-lymphocytes marked by both indicators (CD3+314+94+) were also 3.2 times higher in the control group than in patients with HA ($p < 0.04$).

Conclusion. Patients with HA with low levels of B cells constitute a separate group among all patients with alopecia areata and require immunocorrective treatment with accompanying immunological studies. At the same time, for primary screening, it is enough to perform a classic immunogram according to the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 626 of 08.10.2007, and in further studies to add the determi-

nation of the expression of CD314+ and CD94+ with the determination of the serum levels of interleukin 10 and gamma interferon in patients with HA with low levels of B cells.

Key words: Immunogram, B- and T-cells, NK-cells, CD314, CD94, alopecia areata, lymphocyte phenotyping protocol in alopecia areata

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

• **Халдєєва Анна Євгенівна**

Лікар-дерматолог, аспірантка кафедри клінічної імунології та алергології з секцією медичної генетики Національного медичного університету імені О.О.Богомольця
Адреса: 01053, Україна, м. Київ, бульвар Т.Шевченка, 17
Тел.: +38(067)220-16-19
E-mail: nyura.h@gmail.com

• **Khaldieieva Anna**

MD, post-graduate student of Medical Sciences of the Department of Clinical Immunology and Allergology with a section of Medical Genetics of Bogomolets National Medical University
Address: 01053, Ukraine, Kyiv, T. Shevchenko Blvd., 17
Tel.: +38(067)220-16-19
E-mail: nyura.h@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 06.06.2024 р.

АВТОРАМ ЖУРНАЛЬНИХ ПУБЛІКАЦІЙ

Редакція журналу «Імунологія та алергологія» закликає авторів до активної творчої співпраці. Ми просимо уважно вивчити всі наведені нижче типові положення. Ретельне дотримання цих вимог значно скоротить правку авторського тексту у всіх його елементах, полегшить Вашу і нашу роботу, прискорить публікацію Ваших матеріалів. Наші вимоги поступово будуть наближатись до міжнародних відповідних рекомендацій.

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ

Всі статті повинні бути оригінальними, а рукописи узгоджені з усіма авторами. Попередня публікація наданих матеріалів в будь-якому виданні, як в цілому, так і частково, за виключенням оформлення у вигляді тез, не допускається. Також ці матеріали не повинні подаватися до друку в інші видання і передруковуватися в цілому або частково без письмового дозволу видавництва.

Якщо в роботі використовуються ілюстрації, таблиці та інші матеріали, що були опубліковані іншими дослідниками, автору необхідно подати дозвіл на їх публікацію.

Матеріал, надісланий для публікації, повинен мати експертне заключення. Мова статей українська або англійська.

Рукописи будуть прийматись на розгляд рецензентами та видавниками. Рукописи, які мають потребу в значних змінах в процесі рецензування, будуть повернені авторам для доробки.

Редакція не несе відповідальності за допущені авторами помилки.

Якщо редакція вважає, що в статті є прихована реклама, вона залишає за собою право скласти з автором угоду на додаткову оплату. Обсяг статей необмежений, але редакція залишає за собою право на скорочення матеріалу при обсязі більше 20 сторінок машинопису чи його вміщення в кількох номерах журналу.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

Стаття до редакції подається у 2-х примірниках з 2 наборами ілюстрацій, з текстом, надрукованим через 2 інтервали на одному боці стандартного листа А4 (210x 197 мм) з полями по 3 см з усіх боків. Нумерувати всі сторінки рукопису необхідно послідовно, починаючи з титульного аркуша.

1. Титульний аркуш.

Назва (великими літерами), повне ім'я (імена) авторів, назва установи, де виконана робота, та її точна поштова адреса, повна адреса автора, якому буде надсилатись кореспонденція. При бажанні – телефон/факс для спілкування.

Якщо Ви готуєте матеріал на комп'ютері, просимо робити це на CD-диску, вказавши назву та версію текстового редактора (бажано Win Word 2000 та XP). Ілюстрації, розроблені на комп'ютері, приймаються в TIFF форматі з роздільною здатністю 300 dpi. Додатково до CD-диску повинен обов'язково надсилатись друкований матеріал статті.

2. УДК

3. Резюме. Кожна стаття повинна мати резюме, яке складається з наступних розділів - Мета роботи, Матеріали і методи, Результати, Висновки, Ключові слова. Рукописи супроводжуються резюме українською та англійською мовами. Всі резюме повинні мати переклад назви статті, прізвища автора (авторів), назви установи.

4. Текст статті, враховуючи міжнародні вимоги оформлення (для коротких повідомлень (менше 5 стор.) - необов'язково) повинен мати наступну схему викладення:

Вступ, Матеріали та методи, Результати, Обговорення, Література.

Вступ — повинен відображати суть дослідження і пояснювати його актуальність.

Матеріали та методи — містять суттєві деталі, в тому числі опис проведеного експериментального дослідження, методи статистичного обчислювання результатів.

Результати — в них треба відобразити основні дані, що були отримані в результаті проведеного дослідження. Результати не повинні містити обговорення отриманих даних.

Обговорення та висновки — не повинно бути повторення розділу Результати, а представити отримані дані в більш широкому вигляді з використанням робіт інших авторів на цю тему.

Література — всі джерела літератури, на які робляться посилання в тексті статті (повинні бути надруковані в [] дужках), мають бути надані в списку літератури послідовно, як вони зустрічаються в тексті статті. Приклади оформлення списку літератури наводимо нижче згідно вимог ВАКу (див. Бюлетень ВАК України. 2008. №3).

Список літератури:

Приклади оформлення

Монографії (один, два або три автори)

Суберляк О. В. Технологія переробки композиційних матеріалів: підруч. [для студ. вищ. навч. закл.] / О. В. Суберляк, П. І. Баштан. - Львів : Растр-7, 2007. - 375 с.

П'ять та більше авторів

Формування здорового способу життя: навч.-метод. посіб. для працівників соц. служб / [Т. В. Бондар, О. Г. Карпенко, та ін.]. - К.: Укр. ін-т соц. дослідж., 2005. - 115 с. - (Серія «Здоровий спосіб життя»: у 14 кн., кн. 13).

Колективний автор

Проблеми типологічної та квантитативної лексикології: [зб. наук. праць / наук. ред. Калішченко В. та ін.]. - Чернівці: Рута, 2007. - 310 с.

Багатомовні видання

Кучерявенко Н.П. Курс налогового права: Особенная часть: в 6 т./Н.П. Кучерявенко.-Х.: Право, 2002. - Т.4: Косвенные налоги.- 2007.-534с.

Перекладні видання

Акофф Р. Л. Идеализированное проектирование/ Акофф Р.Л.; пер.с англ. Ф.П.Тарасенко. — Днепропетровск: Баланс Бизнес Букс, 2007. — XLIII, 265 с.

Стандарти

Якість води.Словник термінів:ДСТУ ISO 6107-1:2004-ДСТУ ISO 6107-9:2004. - [Чинний від 2005-04-01]. -К.:Держспоживстанд арт України,2006.-IV,231 с. -(Національний стандарт України).

Збірки наукових праць

Социологическое исследование малых групп населения / В. И. Иванов [и др.] ; М-во образования Рос. Федерации, Финансовая академия. – М., 2002. – 110 с. – Деп. в ВИНТИ 13.06.02, № 145432.

Складові частини книги

Козіна Ж. Л. Теоретичні основи практичного застосування системного аналізу в наукових дослідженнях в області спортивних ігор / Ж. Л. Козіна // Теорія та методика фізичного виховання. — 2007. — № 6. — С.15-18.

Тези доповідей

Оцінка ресурсу елементів конструкцій: праці конф., 6-9 черв. 2000 р., Київ. Т. 2 / відп. Ред. В. Т. Троценко. — К. : НАН України, Ін-т пробл. міцності, 2000. — С. 559-956, XIII, [2] с. — (Ресурс 2000).

Таблиці та ілюстрації

Нумеруються арабськими цифрами і виконуються на окремих листках. Таблиці повинні мати заголовок, а графіки, малюнки і мікрофотокартки — підписи, виконані на окремому аркуші (аркушах), які чітко відображують суть ілюстрації. Якщо в тексті приведено збільшення об'єкта, то його необхідно приводити в дужках, наприклад (x500), а в кінці надпису — «...волокна x 46000». Для передрукування мікрофотокарток необхідні оригінальні, хорошої якості фотокартки; негативи та фотокопії не використовуються. На звороті кожної ілюстрації вкажіть її номер, імена авторів і верхній та нижній краї. Графіки та малюнки повинні бути надані у вигляді чітких глянцевого фотокарток або виконані на окремому аркуші. Розміщення в тексті відповідної ілюстрації вкажіть на лівому полі в квадраті з номером ілюстрації.

Хімічні формули

Всі хімічні формули та схеми з них вписують від руки пастою чорного кольору. Хімічні формули публікації (крім найпростіших, типу HCl, H2SO4) і схеми реакцій нумерують арабськими цифрами в дужках і подають після кінця абзацу з посиланням на них. Порядкові номери одиничних формул представляють під формулою, номери схем — на правому краї формату.

Статті, оформлення яких не відповідає вказаним правилам, повертаються авторам без розгляду редакції.

СТАТТІ НАДСИЛАТИ ЗА АДРЕСОЮ:

04053, м. Київ, вул. В.Винниченка, 9^А,
ДУ «Інститут урології імені академіка О.Ф.Возіанова»
Національна академія медичних наук України,
Лабораторія імунології
info@immunology.org.ua



Відкрийте для себе переваги використання Трансфер Факторів "4Life Research – *The Immune System Company*" вже зараз!

ТРАНСФЕР ФАКТОРИ – ДЖЕРЕЛО ПРИРОДНИХ ПЕПТИДІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ



Дослідження 4Life та прагнення до патентного захисту демонструють довгострокову прихильність компанії до ексклюзивності та стабільності. 4Life має 6 патентів США і 38 міжнародних патентів, а також десятки нових у процесі оформлення.



«Перевага ТФ перед іншими імуномодуляторами в тому, що він володіє широким спектром дії, абсолютно безпечний і нешкідливий, застосовується перорально, не має протипоказань до вживання, не викликає побічних дій, що особливо важливо для дітей».

(Із Методичних рекомендацій МОЗ і НАМН України)



Натуральні та безпечні, ексклюзивні високотехнологічні продукти компанії "4Life Research", USA, які пропонує Центр Трансфер Фактор 4Life Україна, – це найкращий вибір для здоров'я, енергії та активності всієї вашої родини від народження до самого поважного віку!

UltraFactor



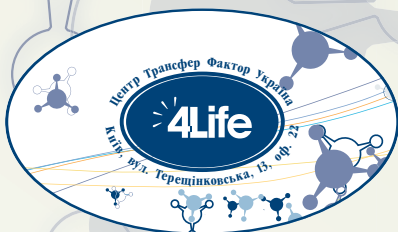
QyoFactor



NanoFactor



4Life



ЗАПРОШУЄМО ДО СПІВПРАЦІ

Центр 4Life Трансфер Фактор UA:

м. Київ, вул. Терещинківська, 13, оф. 22

тел.: (097), (095), (063) 113-14-15.

<https://transferfactor.in.ua>

Міцний імунітет – запорука здоров'я!



Дія:

- Імуномодуюча
- Протизапальна
- Дезінтоксикаційна

Показання:

Комплексне лікування гострих та хронічних запальних та гнійно-інфекційних захворювань слизових оболонок, внутрішніх органів і шкіри, що перебігають з вираженою інтоксикацією та частими рецидивами



Інформація про лікарський засіб призначена для професійної діяльності медичних та фармацевтичних працівників. Повна інформація про лікарський засіб та повний перелік можливих побічних реакцій вказані в інструкції для медичного застосування лікарського засобу.

Ехінацея композитум С, розчин для ін'єкцій. Р.П. UA/7368/01/01 від 25.10.2017. Склад. Діючі речовини: Acidum arsenicosum D8, Aconitum napellus D3, Argentum nitricum D8, Arnica montana D4, Baptisia tinctoria D4, Bryonia D6, Cortisonum aceticum D13, Echinacea D3, Eupatorium perfoliatum D6, Euphorbium D6, Gelsemium sempervirens D6, Grippeimpfstoff Nosode D13, Hepar sulfuris D10 m, Hydrargyrum bichloratum D8, Lachesis D 10, Phosphorus D8, Phytolacca americana D6, Pulsatilla pratensis D8, Pyrogenium Nosode D 198, Rhus toxicodendron D4, Sanguinaria canadensis D4, Staphylococcus Nosode D18, Streptococcus haemolyticus Nosode D18, Sulfur D8, Thuja occidentalis D8, Zincum metallicum D10. Побічні реакції. У поодиноких випадках можуть виникати шлунково-кишкові розлади або шкірні реакції, у тому числі через кілька днів після застосування препарату.

Виробник: «Біологіше Хайльміттель Хеель ГмбХ» / Biologische Heilmittel Heel GmbH (Баден-Баден, Німеччина).

Макет затверджено Замовником ТОВ «УКРАЇНЬКА АКАДЕМІЯ БІОЛОГІЧНОЇ МЕДИЦИНИ» 22.02.2024 р.