

Експресія ангіотензинперетворювального ензиму-2 (ACE2) при експериментальній діабетичній ретинопатії та вплив на неї блокади клітинних протеїнкіназ

К. О. Усенко^{1, A, B, C, E, F}, С. О. Риков^{1, C, D, E}, О. О. Дядик^{2, B, C, D}, А. О. Тихомиров^{1, B, C, D}, С. В. Зябліцев^{1, C, E, F}

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, ²Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ, ³Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна Національної академії наук України, м. Київ

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Порушення ренін-ангіотензинової системи (РАС) ока є чинником діабетичних мікросудинних ускладнень. Протидіє ефектам РАС нещодавно відкрита вісь, що включає ангіотензинперетворювальний фермент 2 типу (ACE2) та його продукт ангіотензин 1-7.

Мета роботи – визначити експресію та вміст ACE2 у сітківці при експериментальній діабетичній ретинопатії (ДР) та встановити вплив на них блокади клітинних протеїнкіназ.

Матеріали і методи. Діабетичну ретинопатію моделювали у щурів-самців лінії Wistar. Для цього їм одноразово вводили стрептозотоксин у дозі 50 мг/кг (Sigma-Aldrich, Co, Китай). Експериментальних щурів поділили на чотири групи: контрольну; з введенням інсуліну 30 Од (NovoNordisk A/S, Bagsvaerd, Німеччина); з введенням інгібітора протеїнкіназ сорафенібу (Cipla, Індія) у дозі 50 мг/кг; з введенням інсуліну та сорафенібу. Під час імуноблотингового та імуногістохімічного дослідження застосували моноклональні антитіла проти ACE2 (EMD Millipore Corporation, США).

Результати. Встановлено багаторазове збільшення вмісту ACE2 у діабетичній сітківці: спочатку накопичення його вільних ізоформ, а потім – зв'язування з клітинними білками. Також протягом спостереження визначено збільшення експресії ACE2 у стінках судин, що підтверджувало залучення цього важливого регулятора РАС у патогенез діабетичного пошкодження сітківки. Введення інсуліну знижувало вміст ACE2 на 21 добу та через 2 місяці лікування більшою мірою, ніж його комбіноване введення з сорафенібом або окреме введення сорафенібу. Через 3 місяці зниженню вмісту ACE2, зокрема його високомолекулярних форм, ефективніше сприяло комбіноване введення інсуліну з сорафенібом, ніж окреме введення інсуліну.

Висновки. Встановлено можливу роль збільшення експресії ACE2 в патогенезі діабетичної ретинопатії, а також зафіксовано її зниження під час лікування інсуліном і сорафенібом, що відповідало гальмуванню розвитку морфологічних ознак діабетичної ретинопатії.

Ключові слова:

діабетична ретинопатія, ангіотензинперетворювальний фермент 2, сорафеніб.

Патологія. 2025.

Т. 22, № 2(64).
С. 85-92

Expression of angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) in experimental diabetic retinopathy and influence on it of cellular protein kinases blockade

K. O. Usenko, S. O. Rykov, O. O. Dyadyk, A. O. Tykhomyrov, S. V. Ziablitsev

Disruption of the renin-angiotensin system (RAS) of the eye is a causal factor in diabetic microvascular complications. The effects of RAS are counteracted by a recently discovered axis involving angiotensin-converting enzyme type 2 (ACE2) and its product angiotensin 1-7.

Aim: to determine the expression and content of ACE2 in the retina in experimental diabetic retinopathy (DR) and to establish the effect of blockade of cellular protein kinases on them.

Materials and methods. DR was modeled in male Wistar rats. For this purpose, they were administered streptozotocin once at a dose of 50 mg/kg (Sigma-Aldrich, Co, China). Experimental rats were divided into four groups: control; with the administration of insulin 30 U (NovoNordisk A/S, Bagsvaerd, Germany); with the administration of the protein kinase inhibitor sorafenib (Cipla, India) at a dose of 50 mg/kg; with the administration of insulin and sorafenib. During immunoblotting and immunohistochemical studies, monoclonal antibodies against ACE2 (EMD Millipore Corporation, USA) were used.

Results. A multiple increase in the content of ACE2 in the diabetic retina was established, first the accumulation of its free isoforms, and then binding to cellular proteins. Also, during the observation, an increase in the expression of ACE2 in the vessel walls was noted, which confirmed the involvement of this important RAS regulator in the pathogenesis of diabetic retinal damage. Insulin administration reduced the content of ACE2 after 21 days and 2 months of treatment to a greater extent than its combined administration with sorafenib, or separate administration of sorafenib. After 3 months, the content of ACE2, especially its high-molecular forms, was more effectively reduced by the combined administration of insulin with sorafenib than by separate administration of insulin.

Keywords:

diabetic retinopathy, angiotensin-converting enzyme 2, sorafenib.

Pathologia.

2025;22(2):85-92

Conclusion. The results obtained showed a possible role of increased ACE2 expression in the pathogenesis of DR and revealed its decrease during treatment with insulin and sorafenib, which corresponded to the inhibition of the development of morphological signs of DR.

Діабетична ретинопатія (ДР) – одне з найпоширеніших судинних ускладнень цукрового діабету (ЦД), що нині є однією з основних причин втрати зору в осіб працездатного віку [1].

Ренін-ангіотензинова система (РАС) відіграє важливу роль у регуляції адаптивних реакцій серцево-судинної системи, водно-електролітного обміну та ремоделювання тканин. Її основний медіатор – ангіотензин II, що опосередковує негайні фізіологічні ефекти вазоконстрикції та регуляції артеріального тиску, бере участь у розвитку запалення, ендотеліальної дисфункції, атеросклерозу, гіпертензії та застійної серцевої недостатності [2]. РАС є чинником діабетичних мікросудинних ускладнень, що зумовлює різноманітні реакції тканин, включаючи вазоконстрикцію, запалення, окиснювальний стрес, гіпертрофію та проліферацію клітин, ангіогенез і фіброз [3].

Клінічні та експериментальні моделі ДР та ангіогенезу сітківки, спричиненого гіпоксією, свідчать про активізацію РАС. У сітківці ангіотензин II призводить до вазоконстрикції судин, активує ангіогенез, а також модулює функцію ГМК-ергічних механізмів амакринових клітин, впливає на глію [4].

Показана ефективність блокади РАС для запобігання виникненню та прогресуванню ДР. Так, інгібітор ангіотензинперетворювального ферменту раміпріл і блокатор рецепторів ангіотензину II телмісартан сприяли зменшенню прогресування ДР і нефропатії у стрептозотоциновій моделі діабету [5]. У Програмі випробувань блокатора РАС кандесартану Національного інституту серця та легенів, (DIRECT); Лондон, Велика Британія) підтверджено, що препарат знижував частоту, але не впливав на прогресування ДР при ЦД 1 типу [6]. За результатами дослідження, що здійснене на базі відділення офтальмології Університетської лікарні в Одесі (Данія) – DIRECT-Protect 2, встановлено: лікування кандесартаном у пацієнтів із ЦД 2 типу може сприяти покращенню перебігу легкої та помірної ДР [7]. Незважаючи на ці позитивні результати, блокатори РАС не можна вважати ретинопротекторами, оскільки ДР може прогресувати до пізньої стадії, навіть коли пацієнт приймає ці препарати.

Відкриття ангіотензинперетворювального ферменту 2 (ACE2) призвело до визначення нової осі РАС, що включає ACE2, його продукт ангіотензин 1-7 та рецептор останнього – Mas [8]. Ця вазопротекторна вісь протидіє проліферативним, фіброзним, прозапальним і гіпертрофічним ефектам класичної осі ACE – ангіотензину II – рецептор ангіотензину II 1 типу. Дисбаланс вазопротекторної та вазоконстрикторної осі РАС в очній тканині може спричинити розвиток і прогресування ДР, а посилення захисної осі ACE2 – ангіотензину (1-7) протидіє ефектам ангіотензину II [8].

Отже, стан РАС і такого важливого її регулятора, як ACE2, може відігравати певну роль у розвитку ДР через вплив на процеси запалення та пошкодження судин сітківки за умов гіперглікемії. У попередніх дослідженнях виявлено позитивний ефект блокади

клітинних протеїніназ при експериментальній ДР, що супроводжувалося зменшенням рівня глікемії та втрати маси тіла [9], пригніченням реактивного гліюзу та запобігало виникненню ранніх проявів ДР [10]. На підставі цих даних обґрунтованим вважаємо встановлення впливу блокади клітинних протеїніназ на експресію ACE2 у сітківці за умов експериментальної ДР.

Мета роботи

Визначити експресію та вміст ACE2 у сітківці при експериментальній діабетичній ретинопатії та встановити вплив на них блокади клітинних протеїніназ.

Матеріали і методи дослідження

Під час дослідження дотримувалися норм і принципів Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/EEC (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Одержано експертний висновок Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О. О. Богомольця (протокол від 21.11.2022 року № 164).

До дослідження залучено 65 щурів-самців лінії Wistar віком 3 місяці, маса тіла – 140–160 г. Експериментальний ЦД і ДР моделювали на 60 щурах шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину (50 мг/кг; Sigma-Aldrich, Co, China), розчиненого у холодному 0,1 М цитратному буфері (pH 4,5). Для отримання вихідних даних використано 5 тварин (інтактні). Протягом 16 годин до ін'єкції тварин не годували, а протягом 24 годин після поїли 5 % розчином глюкози. Надалі кожні 3 доби контролювали рівень глікемії за допомогою глюкометра та одноразових тест-смужок (ACCU-Chek Instant, Roche, Mannheim, Germany) у крові, взятої з хвостової вени натще. Через 3 доби після ін'єкції вміст глюкози у крові тварин, яким вводили стрептозотцин, становив не менше ніж 15 ммоль/л. Спостереження за щурами тривало 3 місяці.

Через 7 діб тварин зі стійкою гіперглікемією (n = 60) сліпим випадковим способом поділили на 4 групи по 15 особин. У 1 групі (контроль) гіперглікемію не лікували. У 2 групі тваринам через день внутрішньоочеревинно вводили інсулін короткої дії (Actrapid HM Penfill, Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Denmark) у дозі 30 Од. Тваринам 3 групи *per os* щоденно вводили розчин інгібітора протеїніназ сорафенібу (Sorafenib, Індія) у дозі 50 мг/кг (саше). Тваринам 4 групи вводили інсулін (за схемою 2 групи), а також розчин сорафенібу (за схемою 3 групи).

Тварин виводили з експерименту через 7 і 21 добу, 2 і 3 місяці по 5 особин із кожної групи шляхом

смертельної ін'єкції тіопенталу (75 мг/кг). Вміст ACE2 у лізатах тканини сітківки визначали методом імуноблотингу. Зразки тканини витримували у скрапленому азоті, подрібнювали та гомогенізували у 50 ммоль Tris-HCl буфері (pH 7,4) з додаванням інгібіторів фосфатаз і протеаз (Pierce Protease and Phosphatase inhibitor, «ThermoScientific», США, #A32961). Електрофорез проводили у 8 % поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію (SDS-PAGE) у камері для вертикального гелі-електрофорезу («BioRad», США). Протеїни з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану за допомогою електроблоту. Мембрани інкубували з моноклональними антитілами до ACE2 (anti-ACE2; clone 4G5.1; Sigma-Aldrich MABN59, replaces MAB5676; виробництва «EMD Millipore Corporation»; Temecula, США). Антитіла до актину (β -actin (loading control), no. MA5-15739, mouse, 1 : 3,000, Invitrogen, США) використовували для його детекції як контроль нанесення протеїну.

Після первинної інкубації мембрани відмивали та обробляли антивидовими вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хропу (goat anti-rabbit or anti-mouse IgG, Invitrogen, США, cat. nos. G-21234 and 31430, respectively, 1 : 8,000 diluted). Нанівількісний аналіз виконано денситометрично, використано програмне забезпечення TotalLab (TL120, «Nonlinear Inc.», США). Результати імуноблот-аналізу вмісту наведено в умовних одиницях від контрольної величини оптичної густини відповідної поліпептидної зони на блотограмах, що нормована за вмістом актину в кожному зразку.

Для морфологічних досліджень очі занурювали у 10 % розчин нейтрального формаліну та заливали в парафін. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі HM 325 («Thermo Shandon», Англія) виготовляли серійні гістологічні зрізи завтовшки 2–3 мкм. Експресію ACE2 оцінювали шляхом імуногістохімічного дослідження з використанням моноклональних антитіл проти ACE2 (anti-ACE2; clone 4G5.1; Sigma-Aldrich MABN59, replaces MAB5676; «EMD Millipore Corporation»; США). Для високотемпературної обробки епітопів антигенів використано цитратний (pH 6,0) і EDTA буфер (pH 8,0). Застосували систему детекції Master Polymer Plus Detection «Master Diagnostica» (Іспанія).

Зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном. Мікроскопічне дослідження та фотоархівування здійснили, застосувавши світлооптичний мікроскоп «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки результатів «Axio Imager A2» при збільшенні об'єктів у 5, 10, 20, 40 разів, біокулярної насадки в 1,5 раза та окуляра у 10 разів з камерами (ERc 5s «Carl Zeiss» Primo Star та Axioscam 105 color) і світлооптичного мікроскопа «Olimpus BX 40», що додатково обладнаний цифровою камерою «Olimpus C3030-ADU» і програмним забезпеченням «Olimpus DP-Soft».

Для статистичного аналізу застосували програмне забезпечення Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Описовий статистичний аналіз виконали, обрахувавши середні значення та їхні стандартні похибки. Вибіркові середні порівнювали, виконавши дисперсійний аналіз (ANOVA). Вірогідними вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати

Після введення стрептозотоцину у тварин з усіх груп виникала стійка гіперглікемія з максимальним вмістом глюкози у крові тварин контрольної групи через 3 місяці спостереження ($18,04 \pm 1,41$ ммоль/л). У 2 і 4 групах, де тварин лікували інсуліном (монотерапія або в комбінації з сорафенібом), вміст глюкози значущо менший ($11,04 \pm 1,02$ ммоль/л і $8,38 \pm 0,48$ ммоль/л відповідно, $p < 0,05$). При цьому глікемія вірогідно менша в 4 групі порівняно з 2 групою ($p = 0,02$). У тварин 3 групи, які отримували тільки сорафеніб, вміст глюкози статистично не відрізнявся від контролю ($14,00 \pm 1,06$ ммоль/л, $p = 0,09$), але вірогідно більший за показник тварин, які отримували інсулін ($p < 0,05$). Отже, максимальний гіпоглікемічний ефект зафіксовано у щурів, які отримували комбіноване лікування інсуліном і сорафенібом, мінімальний – у разі введення тільки сорафенібу.

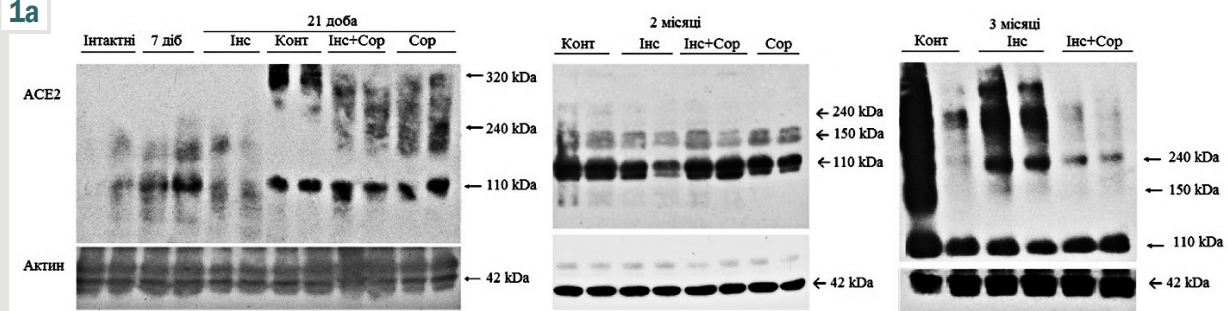
Гіперглікемія, що виникла у тварин після введення стрептозотоцину вже на сьому добу, супроводжувалася ранніми морфологічними проявами ДР. Встановлено зниження щільності клітин у гангліонарному шарі, набряк внутрішнього плексиформного шару, дилатацію капілярів вздовж внутрішньої поверхні сітківки. На 21 добу ці зміни прогресували: виявлено набряк усіх шарів сітківки з дилатацією судин і мікротромбозом у зовнішньому плексиформному шарі, розрідження ядерних шарів сітківки, ділянки ішемії, формування мікроаневризм вздовж внутрішньої поверхні сітківки. Надалі зафіксовано ознаки дисконфлексії сітківки із втратою будови шарів, а також специфічні ознаки ДР – численні мікроаневризми та судинні аномалії на внутрішній поверхні, у зовнішніх шарах – формування клітинних проліфератів.

Визначення рівня ACE2 у тканинах сітківки щурів методом імуноблот-аналізу дало змогу візуалізувати кілька зон специфічного зв'язування протеїну (рис. 1). Найлегші з них мали молекулярну масу менше ніж 110 кДа та відповідали ізоформам інтактного протеїну ACE2 [11]. Більш високомолекулярні поліпептидні зони мали масу 150–320 кДа та відповідали формам ACE2, що утворюють стабільні комплекси з клітинними лігандами. Відповідно, можна було вважати, що фракція ACE2 110 кДа характеризувала рівень синтезованого ензиму *de novo*, а фракція ACE2 >110 кДа – функціонально активну форму цього протеїну у складі РАС тканини.

В інтактних тварин вміст ACE2 110 кДа у сітківці – на рівні слідових концентрацій, а ACE2 >110 кДа не визначено (рис. 1). При розвитку ДР вже на 7 добу показано збільшення у 10,2 раза вмісту ACE2 110 кДа, в 3,9 раза – високомолекулярної фракції ($p < 0,05$ для обох порівнянь).

Через 21 добу вміст ензиму залишався високим, але більший приріст зафіксовано для високомолекулярної фракції (у 10,7 раза порівняно з інтактом), для фракції ACE2 110 кДа – у 5,7 раза ($p < 0,05$ для обох порівнянь). Результати дослідження дали змогу підтвердити збільшення вмісту ACE2 при ДР, при цьому на початку її розвитку більшою мірою активувалася експресія самого ензиму, а пізніше виразніше збільшувався вміст його зв'язаної з клітинними білками форми, що свідчило про активацію цього ланцюжка РАС.

1a



16

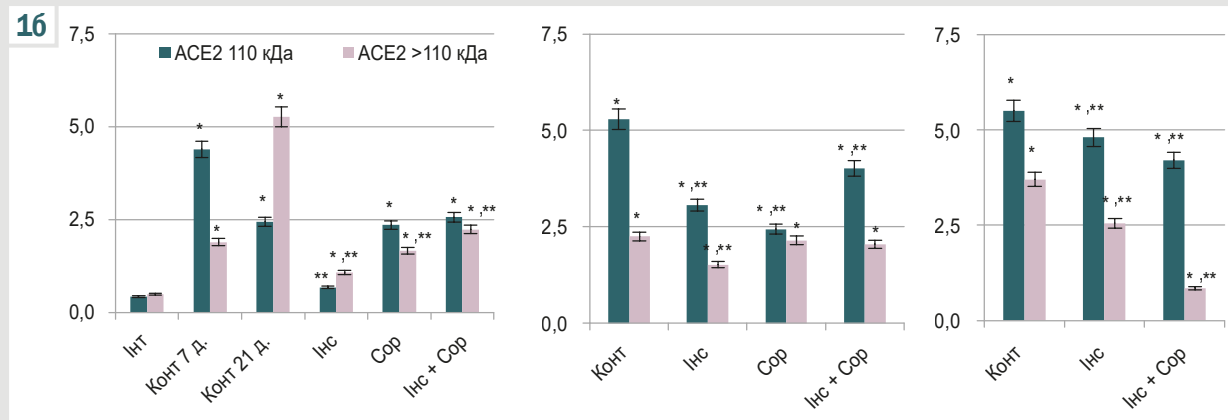


Рис. 1. Співвідношення рівня ACE2 110 / актин, ACE2 >110 / актин у тканині сітківки інтактних тварин (Інт), через 7 і 21 добу, 2 і 3 місяці. **Конт:** неліковані тварини; **Інс:** введення інсуліну; **Сор:** введення сорафенібу; **Інс + Сор:** введення інсуліну з сорафенібом. **А:** репрезентативні блотограми ACE2 та актину; **Б:** результати денситометричного аналізу блотограм (співвідношення із вмістом актину); *: $p < 0,05$ порівняно з інтактними; **: $p < 0,05$ через 21 добу, 2 і 3 місяці порівняно з відповідним контролем.

Лікування сприяло зменшенню на 21 добу вмісту обох фракцій ACE2 при застосуванні інсуліну (у 3,6 раза для ACE2 110 кДа, в 4,9 раза для ACE2 >110 кДа). Застосування сорафенібу окремо або в комплексі з інсуліном не спричиняло зменшення вмісту ACE2 110 кДа, але зумовлювало зменшення ACE2 >110 кДа (у 3,2 раза і 2,4 раза відповідно порівняно з контролем на 21 добу, $p < 0,05$). Ці дані підтвердили зниження зв'язування ензиму з клітинними білками.

Через 2 місяці лікування вміст ACE2 також нижчий, ніж у нелікованому контролі, статистично значущо – для групи із введенням інсуліну (в 1,7 раза для ACE2 110 кДа, в 1,5 раза для ACE2 >110 кДа, $p < 0,05$). При використанні сорафенібу, на відміну від терміну 21 доба, достовірно зниження порівняно з контролем зафіксовано для фракції ACE2 110 кДа (в 1,3–2,2 раза, $p < 0,05$); це свідчило про зниження утворення ензиму.

Через 3 місяці вміст обох фракцій ACE2 порівняно з відповідним контролем істотно зменшений у разі введення інсуліну та сорафенібу (в 1,3 раза для ACE2 110 кДа, у 4,4 раза для ACE2 >110 кДа, $p < 0,05$), ніж при застосуванні тільки інсуліну (в 1,15 та 1,50 раза відповідно, $p < 0,05$). Більший ефект встановлено для високомолекулярної фракції, і тому дійшли висновку про зменшення зв'язування ензиму з клітинними протеїнами, а отже й пригнічення активності РАС.

Через 2 місяці на блотограмах визначено поліпептидні зони на рівні 150 кДа (рис. 1), що відповідають глікозильованій формі ACE2 [11], вміст якої очікувано збільшувався у разі тривалої гіперглікемії. Через 3 місяці ці поліпептидні зони виявлено тільки в окремих пробах тварин із нелікованою ДР.

У результаті дослідження одержали дані, що підтвердили важливі аспекти участі ACE2 у патогенезі ДР та його регуляції за допомогою застосованого лікування. Підвищення рівнів ACE2, зокрема високомолекулярної фракції, свідчило про активацію РАС при розвитку ДР. На ранніх етапах захворювання виявлено переважне збільшення експресії власне ACE2, а на пізніших стадіях підвищення рівня високомолекулярної фракції свідчило про зв'язування ензиму з клітинними протеїнами, що могло бути маркером прогресування хвороби. Лікування інсуліном сприяло зменшенню рівнів обох форм ACE2, тому зробили висновок про його позитивний вплив на регуляцію РАС і поліпшення метаболічного статусу. Сорафеніб, зокрема в комбінації з інсуліном, ефективніше спричиняв зниження рівня високомолекулярної форми ACE2. Це могло бути свідченням зменшення зв'язування ензиму з клітинними лігандами та пригнічення патологічного активування РАС. Виявлені зони на рівні 150 кДа можуть бути індикатором глікозильованого ACE2, рівень якого підвищувався при тривалій гіперглікемії, але зменшувався після відповідної терапії.

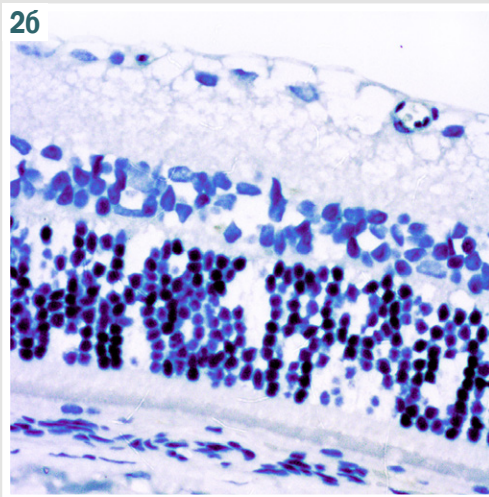
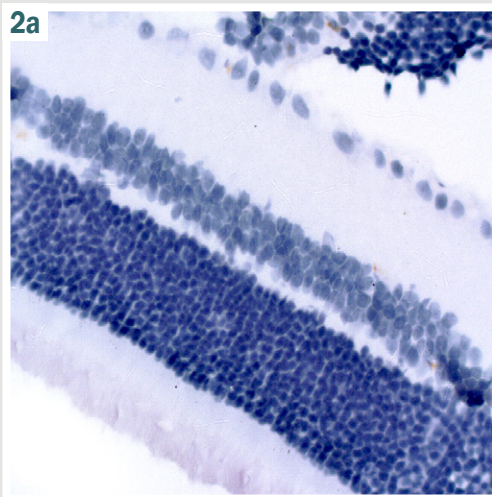


Рис. 2. Мікропрепарат сітківки інтактного щура (а), та у контрольній групі на 7 (б), 21 (в) доби та через 3 місяці (г). Репрезентативні результати імуногістохімічного дослідження ACE2; дозобарвлення гематоксиліном; $\times 400$; білі стрілки: імунопозитивно забарвлені елементи судин сітківки.

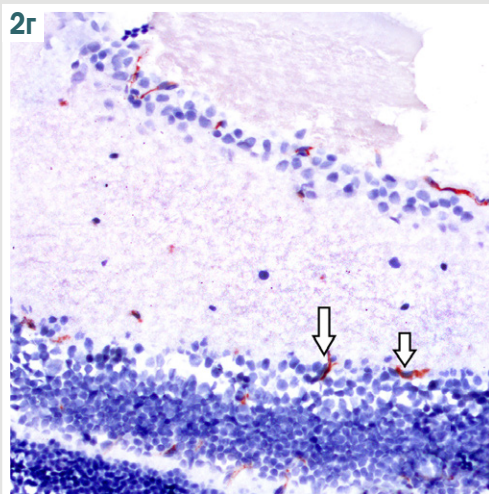
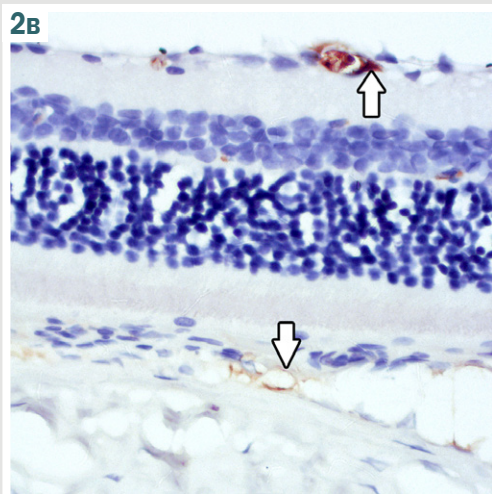
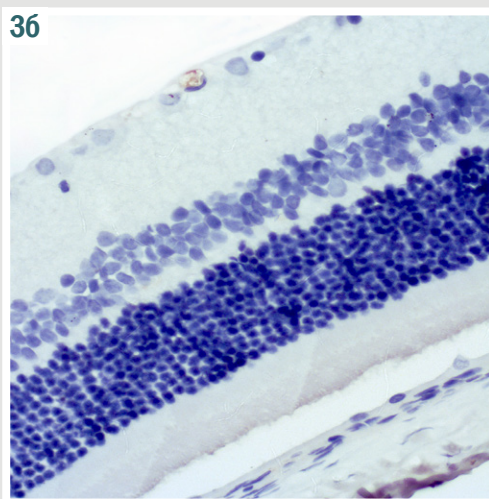
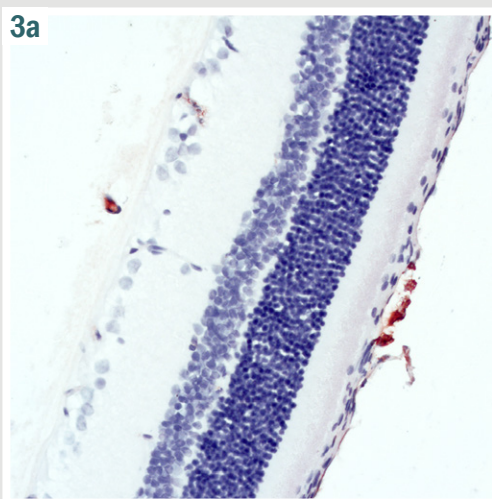


Рис. 3. Мікропрепарат сітківки щурів через 3 місяці на фоні лікування інсуліном і сорафенібом. Репрезентативні результати імуногістохімічного дослідження ACE2; дозобарвлення гематоксиліном; а: $\times 200$, б: $\times 400$.



Отже, результати цих досліджень дали змогу встановити, що ACE2 можна використовувати як маркер для моніторингу патологічних змін і ефективності лікування ДР. Крім того, підтверджено важливу роль комбінованої терапії в корекції порушень РАС.

Імуногістохімічне дослідження матеріалу, взятого в інтактних щурів, показало відсутність ACE2-позитив-

ного забарвлення у сітківці (рис. 2а). Через 7 діб на тлі виникнення ранніх ознак ДР (втрата гангліонарних клітин, виражений набряк внутрішніх шарів сітківки, розрідження ядерних шарів) експресію ACE2 не виявлено (рис. 2б). Тільки через 21 день імуногістохімічне дослідження показало ACE2-позитивне забарвлення стінок судин вздовж внутрішньої поверхні сітківки та

у судинному сплетенні (білі стрілки, *рис. 2в*). Через 3 місяці виявлено дисконкомпексацію шарів сітківки, у зовнішньому ядерному шарі утворювалися клітинні проліферати, що представлені щільно розташованими округлими базофільними клітинами, які інколи виходили за межі цього шару. ACE2-позитивне забарвлення судинних стінок більш виражене, інтенсивно виділялися елементи внутрішнього судинного сплетення сітківки (білі стрілки, *рис. 2в*).

Після комплексного лікування інсуліном і сорафенібом протягом 3 місяців морфологічно визначено суттєво кращий стан сітківки (*рис. 3*).

Шари сітківки зберігали свою звичайну структуру, не виявлено судинні або проліферативні зміни. Подекуди судини сітківки мали ACE2-позитивне забарвлення, інтенсивність якого візуально значно менша, ніж у контролі. Ці спостереження збігалися з результатами імуноблотингу та уточнювали локалізацію ACE2-позитивного забарвлення у судинних стінках сітківки. Експресія ензиму збільшувалася спочатку в судинах внутрішньої поверхні сітківки та судинного сплетення, згодом – внутрішнього сплетення сітківки.

Обговорення

Усі компоненти PAC, зокрема ACE2, у нормі виявляють у сітківці людини та гризунів [12]. При експериментальній ДР рівні мРНК ACE знижені вдвічі, а рівні мРНК ACE2 істотно не змінювалися. Лікування блокатором PAC раміприлом не впливало на експресію гена ACE2. Встановлено, що імунне забарвлення ACE2 локалізоване передусім навколо судин у внутрішньому ядерному шарі; це відповідало результатам нашого дослідження.

За іншими даними, експресія ACE2 у сітківці людей із ДР збільшена, при цьому виявляють значно більшу кількість ACE2-позитивних судин [13]. У цьому дослідженні експресію ACE2 виявлено в багатьох несудинних нейроретинальних клітинах, включаючи шар гангліозних клітин сітківки, внутрішній плексиформний шар, внутрішній ядерний шар і зовнішні сегменти фоторецепторів у зразках і недіабетичної, і діабетичної сітківки. Крім того, збільшена й експресія мембранозв'язаної серинової протеази 2 (TMPRSS2), що виявлена в багатьох нейрональних клітинах сітківки, судинних і периваскулярних клітинах, глії Мюллера [13]. За результатами нашого дослідження, експресію ACE2 у несудинних елементах сітківки не виявлено.

Встановлено, що рівень експресії генів PAC (ACE і рецептора ангіотензину II 1 типу) підвищений, а гена ACE2 – знижений у пацієнтів із ЦД 2 типу. Дослідники пов'язують це з розвитком мікросудинних діабетичних ускладнень [14]. Такі дані певною мірою суперечать тим, що одержали ми та інші дослідники в експерименті, а отже це питання потребує продовження вивчення.

Посилення локальної активності захисної осі PAC ACE2 / ангіотензин (1-7) за допомогою доставки генів ACE2, що опосередкована аденоасоційованим вірусом (AAV), сприяло захисту від виникнення ДР [8,15]. Внутрішньоочне введення AAV-ACE2 / ангіотензин (1-7) спричинило істотне зменшення витоку

судин сітківки, ацелюлярних капілярів, інфільтрації запальних клітин та окиснювального пошкодження у мишей і щурів із діабетом [8]. З іншого боку, втрата ACE2 посилювала ознаки ДР, зокрема показники електроретинографії, збільшувала зони нервових інфарктів і кількість ацелюлярних капілярів, що могло бути скоригованим впливом ангіотензину (1-7) [16]. Отже, штучне підвищення активності осі ACE2 / ангіотензин (1-7) сприяє відновленню балансу PAC і забезпечує захист від ДР.

Зважаючи на це, виявлений значний і тривалий (протягом 3 місяців) приріст вмісту ACE2 у сітківці після моделювання ДР можна визначити як загальну активацію локальної PAC, що має компенсаторний характер. Введення інсуліну супроводжувалося зменшенням гіперглікемії, і тому можна пояснити й зниження ретинального вмісту ACE2. Зауважимо, що ця реакція була максимально вираженою на 21 добу, й надалі ефект від інсуліну зменшувався. Можливо, відбувалося накопичення метаболічних пошкоджень сітківки, й активація PAC опосередковувалася іншими механізмами, а не гіперглікемією.

Одним із таких механізмів може бути активація клітинних протеїназ. Відомо, що ангіотензин II через рецептори 1 типу активує MAP-кінази (ERK 1/2, JNK, p38MAPK), рецепторні тирозинкінази (PDGF, EGFR, рецептор інсуліну) та нерцепторні тирозинкінази (Src, JAK/STAT, кіназа фокальної адгезії) [2]. Блокада клітинних протеїназ мультикіназним інгібітором сорафенібом в умовах ДР може через пригнічення патогенної осі PAC (ACE / ангіотензин II) спричинити активацію осі ACE2 / ангіотензин (1-7). Цим можна пояснити збільшення вмісту ACE2 у сітківці під впливом сорафенібу на 21 добу та через 2 місяці, а через 3 місяці застосування сорафенібу знижувало вміст ACE2. Зазначимо, що у цьому терміні у групі, де щурам вводили інсулін і сорафеніб, ознаки ДР не зафіксовано (на відміну від нелікованого контролю), сітківка в них мала мінімальні зміни, а отже очікуваною була відсутність реакції PAC. Це могло пояснювати зворотний ефект сорафенібу.

Цікаво, що лікування активатором ACE2 ксантоном 9 запобігало загибелі гангліонарних клітин через зниження експресії каспази-3 і апоптозу [17]. Ці дані можуть додатково пояснювати позитивний ефект активації осі ACE2 / ангіотензин (1-7) при ДР.

Виявлення накопичення ACE2 у сітківці при ДР мало особливе значення під час вивчення питання про можливість інфікування коронавірусом (SARS-CoV-2). Відомо, що він ушкоджує майже всі системи та органи, є сильним коморбідним фактором, що погіршує перебіг хронічних захворювань, зокрема ЦД [13]. Результати досліджень, здійснені в умовах пандемії коронавірусної хвороби (COVID-19), показали: пацієнти з ЦД мають більш несприятливі клінічні результати та більший ризик розвитку очних ускладнень [18]. Оскільки не викликає сумнівів роль ACE2 як вхідних воріт для SARS-CoV-2, встановлення факту збільшення його експресії у тканині сітківки при ДР може пояснювати несприятливі клінічні наслідки та високий ризик погіршення перебігу ДР при COVID-19.

Висновки

1. При експериментальній ДР виявлено збільшення експресії ACE2 у стінках судин, що підтвердило залучення цього важливого регулятора РАС у патогенез діабетичного пошкодження сітківки. Виявлено багаторазове збільшення вмісту ACE2: спочатку накопичення його вільних ізоформ, потім – зв'язування з клітинними білками.

2. Ізольоване введення інсуліну знижувало вміст ACE2 через 21 добу і 2 місяці лікування істотніше, ніж комбіноване введення з сорафенібом або окреме введення сорафенібу. Через 3 місяці вміст ACE2, зокрема його високомолекулярних форм, ефективніше знижувало комбіноване введення інсуліну з сорафенібом, ніж окреме введення інсуліну.

3. Результати дослідження дали змогу визначити можливу роль збільшення експресії ACE2 у патогенезі ДР, показали її зниження під час лікування інсуліном і сорафенібом; це відповідало гальмуванню розвитку морфологічних ознак ДР.

Перспективи подальших досліджень. У попередніх дослідженнях показано гальмівний вплив сорафенібу на розвиток експериментальної діабетичної ретинопатії, а в цьому – можливу роль ACE2. Відповідно, надалі обґрунтованим є вивчення механізмів цього ефекту та впливу блокаторів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи на розвиток діабетичної ретинопатії.

Фінансування

Дослідження здійснено в рамках НДР Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України: «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органів зору та їх клініко-експериментальне обґрунтування», державний реєстраційний № 0120U105324 (2020–2025).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 28.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 27.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 09.07.2025

Відомості про авторів:

Усенко К. О., канд. мед. наук, доцент каф. офтальмології та оптометрії післядипломної освіти, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-9907-6109

Риков С. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. офтальмології та оптометрії післядипломної освіти, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; чл.-кор. НАМН України, заслужений лікар України.

ORCID ID: 0000-0002-3495-7471

Дядик О. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-9912-4286

Тихомиров А. О., д-р біол. наук, зав. відділу хімії і біохімії ферментів, Інститут біохімії ім. О. В. Паладіна Національної академії наук, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2063-4636

Зяблицев С. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патофізіології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5309-3728

Information about the authors:

Usenko K. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Ophthalmology and Optometry of Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Rykov S. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Ophthalmology and Optometry of Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine; Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Honored Doctor of Ukraine.

Dyadyk O. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv.

Tykhomyrov A. O., PhD, DSc, Head of the Department of Chemistry and Biochemistry of Enzymes, Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Ziablitssev S. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.



Катерина Усенко (Kateryna Usenko)
usenko1205@gmail.com

References

1. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, et al. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*. 2021;128(11):1580-91. doi: [10.1016/j.ophtha.2021.04.027](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2021.04.027)
2. Phipps JA, Dixon MA, Jobling AI, Wang AY, Greferath U, Vessey KA, et al. The renin-angiotensin system and the retinal neurovascular unit: A role in vascular regulation and disease. *Exp Eye Res*. 2019;187:107753. doi: [10.1016/j.exer.2019.107753](https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107753)
3. Li X, Fu YH, Tong XW, Zhang YT, Shan YY, Xu YX, et al. RAAS in diabetic retinopathy: mechanisms and therapies. *Arch Endocrinol Metab*. 2024;68:e230292. doi: [10.20945/2359-4292-2023-0292](https://doi.org/10.20945/2359-4292-2023-0292)
4. Dierschke SK, Dennis MD. Retinal Protein O-GlcNAcylation and the Ocular Renin-angiotensin System: Signaling Cross-roads in Diabetic Retinopathy. *Curr Diabetes Rev*. 2022;18(2):e011121190177. doi: [10.2174/1573399817999210111205933](https://doi.org/10.2174/1573399817999210111205933)
5. Thangaraju P, Chakrabarti A, Banerjee D, Hota D, Tamilselvan, Bhatia A, Gupta A. Dual blockade of Renin Angiotensin system in reducing the early changes of diabetic retinopathy and nephropathy in a diabetic rat model. *N Am J Med Sci*. 2014;6(12):625-32. doi: [10.4103/1947-2714.147978](https://doi.org/10.4103/1947-2714.147978)
6. Chaturvedi N, Porta M, Klein R, Orchard T, Fuller J, Parving HH, et al. Effect of candesartan on prevention (DIRECT-Prevent 1) and progression (DIRECT-Protect 1) of retinopathy in type 1 diabetes: randomised, placebo-controlled trials. *Lancet*. 2008;372(9647):1394-402. doi: [10.1016/S0140-6736\(08\)61412-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61412-9)
7. Sjölle AK, Klein R, Porta M, Orchard T, Fuller J, Parving HH, et al. Effect of candesartan on progression and regression of retinopathy in type 2 diabetes (DIRECT-Protect 2): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9647):1385-93. doi: [10.1016/S0140-6736\(08\)61411-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61411-7)
8. Prasad R, Floyd JL, Dupont M, Harbour A, Adu-Agyeiwaah Y, Asare-Bediako B, et al. Maintenance of Enteral ACE2 Prevents Diabetic Retinopathy in Type 1 Diabetes. *Circ Res*. 2023;132(1):e1-e21. doi: [10.1161/CIRCRESAHA.122.322003](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.122.322003)
9. Ziablitssev SV, Usenko KO, Dobrovinska OV, Perepelytsa YV, Andrushchenko VA. [The metabolic effect of cellular protein kinases blockade on the experimental diabetes]. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2024;70(3):16-26. Ukrainian. doi: [10.15407/fz70.03.016](https://doi.org/10.15407/fz70.03.016)
10. Usenko KO, Rykov SO, Dyadyk OO, Zyablitssev SV. [Effect of cellular protein kinases blockade on the S100 retina expression in experimental diabetic retinopathy]. *Pathologia*. 2024;21(3):226-31. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1237.2024.3.316604](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2024.3.316604)
11. Stocker N, Radzikowska U, Wawrzyniak P, Tan G, Huang M, Ding M, et al. Regulation of angiotensin-converting enzyme 2 isoforms by type 2 inflammation and viral infection in human airway epithelium. *Mucosal Immunol*. 2023;16(1):5-16. doi: [10.1016/j.mucimm.2022.12.001](https://doi.org/10.1016/j.mucimm.2022.12.001)
12. Tikellis C, Johnston CI, Forbes JM, Burns WC, Thomas MC, Lew RA, et al. Identification of angiotensin converting enzyme 2 in the rodent retina. *Curr Eye Res*. 2004;29(6):419-27. doi: [10.1080/02713680490517944](https://doi.org/10.1080/02713680490517944)
13. Zhou L, Xu Z, Guerra J, Rosenberg AZ, Fenaroli P, Eberhart CG, et al. Expression of the SARS-CoV-2 Receptor ACE2 in Human Retina and Diabetes-Implications for Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2021;62(7):6. doi: [10.1167/iov.62.7.6](https://doi.org/10.1167/iov.62.7.6)

14. Jena L, Kaur P, Singh T, Sharma K, Kotru S, Munshi A. Gene Expression Analysis in T2DM and Its Associated Microvascular Diabetic Complications: Focus on Risk Factor and RAAS Pathway. *Mol Neurobiol.* 2024;61(11):8656-67. doi: [10.1007/s12035-024-04127-2](https://doi.org/10.1007/s12035-024-04127-2)
15. Dominguez JM 2nd, Hu P, Caballero S, Moldovan L, Verma A, Oudit GY, et al. Adeno-Associated Virus Overexpression of Angiotensin-Converting Enzyme-2 Reverses Diabetic Retinopathy in Type 1 Diabetes in Mice. *Am J Pathol.* 2016;186(6):1688-700. doi: [10.1016/j.ajpath.2016.01.023](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2016.01.023)
16. Duan Y, Beli E, Li Calzi S, Quigley JL, Miller RC, Moldovan L, et al. Loss of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Exacerbates Diabetic Retinopathy by Promoting Bone Marrow Dysfunction. *Stem Cells.* 2018;36(9):1430-40. doi: [10.1002/stem.2848](https://doi.org/10.1002/stem.2848)
17. Foureaux G, Nogueira BS, Coutinho DC, Raizada MK, Nogueira JC, Ferreira AJ. Activation of endogenous angiotensin converting enzyme 2 prevents early injuries induced by hyperglycemia in rat retina. *Braz J Med Biol Res.* 2015;48(12):1109-14. doi: [10.1590/1414-431X20154583](https://doi.org/10.1590/1414-431X20154583)
18. Boden I, Bernabeu MO, Dhillon B, Dorward DA, McCormick I, Megaw R, et al. Pre-existing diabetic retinopathy as a prognostic factor for COVID-19 outcomes amongst people with diabetes: A systematic review. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022;187:109869. doi: [10.1016/j.diabres.2022.109869](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109869)

Оцінювання змін показників вуглеводного обміну щурів з експериментальним цукровим діабетом різного ґенезу на фоні введення L-аргініну та N-ацетил-L-цистеїну

М. І. Ісаченко^{В,С,D}, Ю. М. Колесник^{А,Е,F}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – визначити специфіку змін вуглеводного обміну у щурів з експериментальним цукровим діабетом 1 (ЦД1), 2 (ЦД2) типів і проаналізувати кореляційні взаємозв'язки їхньої модифікації на фоні введення амінокислот L-аргініну та N-ацетил-L-цистеїну.

Матеріали і методи. ЦД1 індуковано на старих самцях щурів лінії Wistar шляхом одноразового введення 45 мг/кг стрептозоточину. У щурів із ЦД2 спочатку індукували інсулінорезистентність (високожировий комбікорм протягом 8 тижнів), після цього одноразово вводили стрептозоточин у дозі 30 мг/кг. Через 6 тижнів тварин із цукровим діабетом поділили на 3 підгрупи: без застосування амінокислот, із введенням L-аргініну, з використанням N-ацетил-L-цистеїну.

Результати. Експериментальне моделювання ЦД1 спричинило стійку гіперглікемію та гіпоінсулінемію, значно змінивши метаболічні індекси. У щурів із ЦД2 виникла гіперглікемія на фоні гіперінсулінемії, а отже сформувалася інсулінорезистентність. Введення L-аргініну та N-ацетил-L-цистеїну щурам з обома типами діабету сприяло зниженню рівня глюкози та збільшенню концентрації інсуліну, хоча статистично значущої різниці між цими амінокислотами за впливом не виявлено. L-аргінин сприяв значному збільшенню індексу HOMA-β у щурів із ЦД1, помірного – у щурів із ЦД2. Крім того, він спричиняв значне збільшення індексу HOMA-IR у групі з ЦД1, що свідчить про покращення чутливості до інсуліну. N-ацетил-L-цистеїн також покращив індекси HOMA-β та HOMA-IR у щурів із ЦД1, хоча його вплив на ЦД2 був менш вираженим і не досяг рівня статистичної значущості.

Висновки. У щурів із цукровим діабетом 1 типу обидві амінокислоти сприяли зниженню концентрації глюкози, що зумовлено покращенням функціонування β-клітин підшлункової залози через збільшення концентрації інсуліну, індексу HOMA-β порівняно з показниками підгрупи без корекції, проте спричинило й підвищення HOMA-IR, а названі показники не відновилися до контрольних значень. Ці зміни супроводжувалися істотним порушенням метаболічних зв'язків, що підтверджено за результатами кореляційного аналізу. На фоні розвитку цукрового діабету 2 типу обидві амінокислоти знизили концентрацію глюкози і збільшили рівень інсуліну порівняно з показниками підгрупи без корекції, але індекс HOMA-β покращився лише у щурів, яким вводили L-аргінин. Збережена гіперінсулінемія в усіх трьох підгрупах спричинила збільшення HOMA-IR порівняно з контролем, без значущої різниці за ефектом амінокислот. Кореляційний аналіз дав змогу визначити більшу збереженість метаболічних зв'язків показників вуглеводного обміну порівняно зі щурами з цукровим діабетом 1 типу.

Ключові слова: цукровий діабет 1 і 2 типу, інсулін, індекси HOMA-IR і HOMA-β, L-аргінин, N-ацетил-L-цистеїн, кореляційний аналіз, щури.

Патологія. 2025. Т. 22, № 2(64). С. 93-99

Assessment of changes in carbohydrate metabolism parameters in rats with experimental diabetes mellitus of different origins under L-arginine and N-acetyl-L-cysteine administration

M. I. Isachenko, Yu. M. Kolesnyk

The aim: to determine the specificity of changes in carbohydrate metabolism in rats with experimental type 1 (DM1) and type 2 (DM2) diabetes mellitus and to analyze correlations of their modification under administration of the amino acids L-arginine and N-acetyl-L-cysteine.

Materials and methods. DM1 was induced in old male Wistar rats by a single 45 mg/kg streptozotocin. In rats with DM2, insulin resistance was first induced (high-fat mixed feed for 8 weeks), after which 30 mg/kg streptozotocin was administered once. After 6 weeks, animals with DM were divided into 3 subgroups: without amino acid administration, rats with L-arginine and with N-acetyl-L-cysteine.

Results. Experimental modeling of DM1 resulted in persistent hyperglycemia and hypoinsulinemia, which significantly altered metabolic indices. In rats with DM2, hyperglycemia developed with hyperinsulinemia, indicating established insulin resistance. Administration of L-arginine and N-acetyl-L-cysteine to rats with both types of diabetes lowered glucose levels and increased insulin concentrations, although no statistically significant difference was found between the effects of these amino acids. L-arginine significantly increased the HOMA-β index in rats with DM1 and moderately increased it in rats with DM2. In addition, it caused a significant increase in the HOMA-IR index in the group with DM1, indicating improved insulin sensitivity. N-acetyl-L-cysteine also improved HOMA-β and HOMA-IR indices in rats with DM1, although its effect on DM2 was less pronounced and did not reach statistical significance.

Keywords: type 1 and 2 diabetes mellitus, insulin, HOMA-IR and HOMA-β indices, L-arginine, N-acetyl-L-cysteine, correlation analysis, rats.

Pathologia. 2025;22(2):93-99

Conclusions. In rats with type 1 diabetes, both amino acids cause a decrease in glucose concentration, which is due to improved pancreatic β -cell function due to increased insulin concentration, the HOMA- β index compared to the subgroup without correction, but also causes an increase in the HOMA-IR index, and the listed indicators do not return to control values. These changes were accompanied by profound disruption of metabolic relationships, which is confirmed by correlation analysis. Against the background of the development of type 2 diabetes mellitus, both amino acids reduce glucose concentration and increase insulin compared to the subgroup without correction, however, the HOMA- β index improves only in rats with L-arginine, and the preserved hyperinsulinemia in all 3 subgroups leads to an increase, compared to the control, in the HOMA-IR index without a significant difference between the effects of amino acids. Correlation analysis revealed greater preservation of metabolic relationships of carbohydrate metabolism indicators compared to rats with type 1 diabetes mellitus.

Цукровий діабет (ЦД) є однією з найпоширеніших ендокринних патологій (29,3 млн хворих у світі) та характеризується порушенням вуглеводного обміну [1]. За даними ВООЗ, за останні десятиліття кількість хворих на цукровий діабет у світі зросла вчетверо, і цим зумовлена актуальність всебічного дослідження цієї нозології [2].

Основними патогенетичними варіантами цукрового діабету є 1 (ЦД1) і 2 (ЦД2) типи, які, хоча і призводять до гіперглікемії, але мають дещо різні механізми ушкодження органів-мішеней [3]. Різниця в патогенезі цих типів ЦД зумовлює доцільність різних підходів до лікування та корекції метаболічних порушень. Традиційні методи лікування передбачають застосування інсуліну, препаратів з гіпоглікемічною дією, зміни в дієті та фізичній активності [4]. Останнім часом посилюється інтерес до використання амінокислот (АК) як потенційних коректорів метаболічних дисфункцій та прямої асоціації ЦД із порушенням їхнього ендогенного біосинтезу [5].

Серед амінокислот, що нині вивчають, L-аргінін і L-цистеїн (опосередковано через його донатор N-ацетил-L-цистеїн) мають значний потенціал до поліпшення функції β -клітин панкреатичних островців, зниження оксидативного стресу та покращення метаболічних показників [6]. L-аргінін може сприяти підвищенню продукції оксиду азоту, що покращує мікроциркуляцію і в підшлунковій залозі, і в органах-мішенях, що може впливати на резистентність до інсуліну [7,8]. L-цистеїн є потужним антиоксидантом, який може захищати клітини від оксидативного ушкодження [9].

Вивчення впливу цих амінокислот на показники вуглеводного обміну у щурів з експериментальним ЦД різного ґенезу може дати нові відомості, що сприятиме розробленню ефективних терапевтичних стратегій. Мета цього дослідження полягала не лише в оцінюванні корекційного ефекту амінокислот, але й у виявленні кореляційних зв'язків між показниками вуглеводного обміну. Це дасть змогу схарактеризувати патогенетичні особливості двох експериментальних моделей та оцінити їхню цінність, а отже стане основою для нових клінічних досліджень.

Мета роботи

Визначити специфіку змін вуглеводного обміну у щурів з експериментальним цукровим діабетом 1, 2 типів і проаналізувати кореляційні взаємозв'язки їхньої модифікації на фоні введення амінокислот L-аргініну та N-ацетил-L-цистеїну.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на базі Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (свідоцтво про технічну компетентність МОЗ України від 21.12.2023 року № 181/23, діє до 20.12.2028 року). Експеримент проведено з дотриманням етичних принципів експериментів на тваринах, одержано дозвіл локальної Комісії з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (протокол від 19.06.2025 року № 8) [10,11].

Експеримент здійснили на нормоглікемічних, нормотензивних щурах-самцях лінії Wistar, вік тварин – 18–22 місяці. Щурів поділили на три експериментальні групи, дві із них надалі ділили на три підгрупи. Дизайн експерименту наведено на *рис. 1*.

ЦД1 моделювали одноразовим введенням стрептозотину (Streptozocin, S0130-1G, Sigma) у 50 мМ натрій цитратному буфері (рН 4,5) у дозі 45 мг/кг внутрішньочеревинно *ex tempore* із вільним випоюванням розчином глюкози надалі [12]. Щурам ЦД2 на етапі 0 моделювали інсулінорезистентність, годуючи їх комбікормом із 40 % вмістом жирів (внаслідок комбінації жирів рослинного та тваринного походження) протягом 8 тижнів із розрахунку 30 г/добу/тварину [13]. Після цього паралельно зі щурами групи ЦД1 їм одноразово вели стрептозотин у дозі 30 мг/кг.

Контрольним тваринам вводили лише цитратний буфер у тому самому об'ємі. Через 2 тижні від дня введення стрептозотину в обох експериментальних групах відібрані тварини з концентрацією глюкози >15 мМ/л.

Через 6 тижнів від дня введення стрептозотину щурів поділили на підгрупи. До підгруп ЦД1-8-1 і ЦД2-8-1 залучено щурів із ЦД1 і ЦД2 відповідно, їм не вводили амінокислоти; до підгруп ЦД1-8-2 і ЦД2-8-2 – тварин із цукровим діабетом, яким давали розчин L-аргініну (2-аміно-5-гуанідиновалеріанова кислота, $C_6H_{14}N_4O_2$, ЧДА, Китай) шляхом додавання до питної води у дозі 1,5 г/кг/л на день; до підгруп ЦД1-8-3 і ЦД2-8-3 – щурів із цукровим діабетом і додаванням N-ацетил-L-цистеїну (N-ацетил-L-цистеїн, $C_5H_9NO_3S$, Китай) до питної води в такій самій дозі, що й L-аргінін. Розчини амінокислот оновлювали щодня о 08:00, введення продовжували 2 тижні. Після цього щурів виводили з експерименту шляхом одномоментної декапітації під «Тіопенталом» (тіопентал натрію, 120 мг/кг внутрішньочеревинно).

Концентрацію глюкози вимірювали натще в зразку крові з хвостової вени за допомогою глюкометра Contour plus (BAYER CONSUMER CARE AG,

1

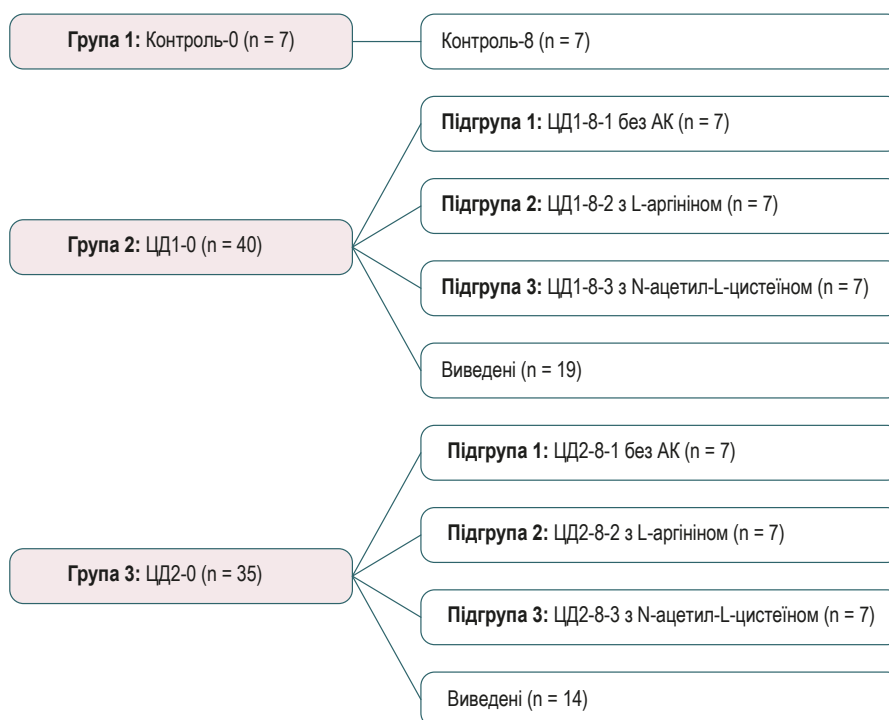


Рис. 1. Дизайн експерименту.

Швейцарія) і тест-смужок Contour plus (із глюкозодегідрогеназою).

Концентрацію інсуліну плазми оцінювали у зразку крові з хвостової вени імуноферментним методом відповідно до інструкції до набору Rat Insulin ELISA Kit (Thermo Scientific, США) на спектрофотометрі Sirio S (Seac, Італія) на 450 нм.

Індекси HOMA-β (оцінює функцію бета-клітин підшлункової залози, тобто здатність виробляти інсулін) та HOMA-IR (визначає інсулінорезистентність) обраховували за формулами: $HOMA-\beta = (20 \times C_i) / (C_f - 3,5)$ та $HOMA-IR = (C_i \times C_f) / 22,5$, де C_i – концентрація інсуліну, мкМО/мл, C_f – концентрація глюкози, мм/л.

Статистично результати опрацювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) у програмі Statistica (ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J). Безперервні змінні наведено як середнє (M) ± середнє значення стандартної помилки (m). Усі параметри зіставляли за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу, а потім, у разі значущості, – двостороннього тесту Тьюкі для численних порівнянь. Під час кореляційного аналізу використано коефіцієнт кореляції Пірсона. Двостороннє значення $p < 0,05$ визначено як статистично значуще для всіх тестів.

Результати

Аналіз показників параметрів вуглеводного обміну в контрольних щурів на 0 і 8 тижнях дав змогу визначити еуглікемію та нормоінсулінемію. Після обрахунку індексів HOMA-β і HOMA-IR встановлено нормативні

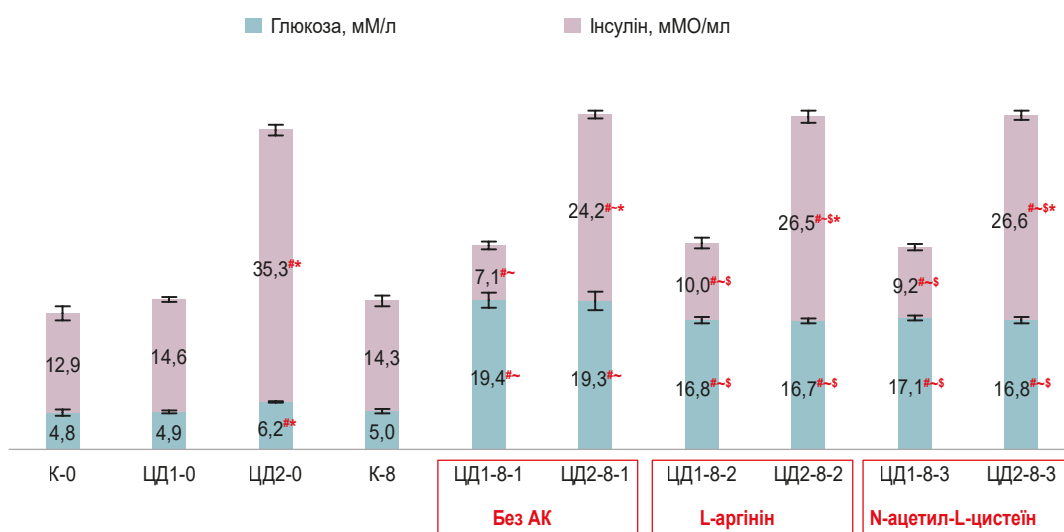
діапазони: для HOMA-β – у межах 368–377, для HOMA-IR – 2,8–3,2 (рис. 2А–С).

У групі контролю кореляційний аналіз зв'язків концентрації глюкози з названими показниками дав змогу встановити сильну позитивну кореляцію з інсуліном на 0 і 8 тижнях. З індексами HOMA-IR і HOMA-β виявлено високу залежність, але різної спрямованості; це підтверджує відсутність резистентності тканин до інсуліну та збалансовану функціональну активність β-клітин. Аналіз кореляції Пірсона вмісту інсуліну з обрахованими індексами показав майже оптимальний достовірний лінійний позитивний зв'язок з HOMA-IR протягом обох термінів дослідження, але високий негативний – з HOMA-β на 0 тижні із втратою залежності на 8 тижні (табл. 1).

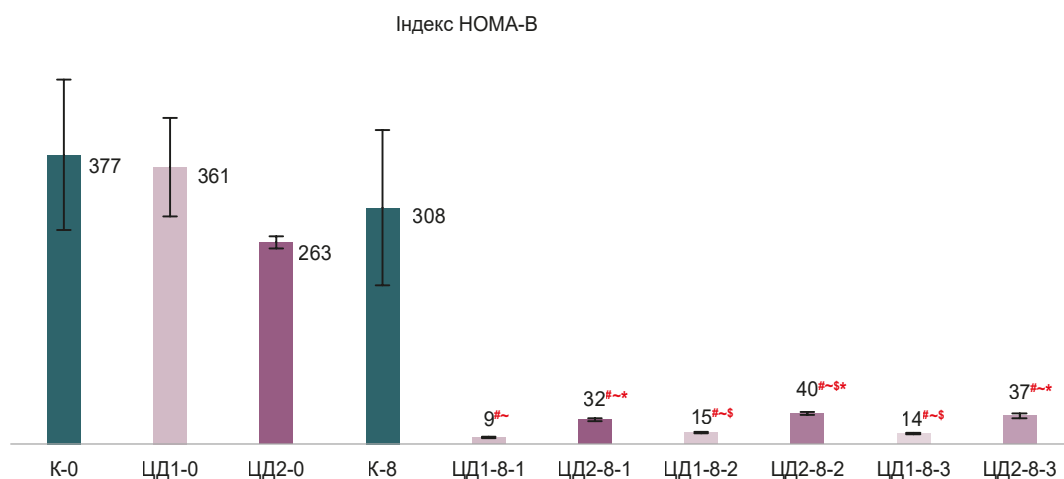
Експериментальне моделювання ЦД1 на 8 тижні призвело до стійкої гіперглікемії та гіпоінсулінемії, що спричинило зменшення індексу HOMA-β і збільшення HOMA-IR порівняно з контролем (рис. 2А–С). На фоні виявлених трансформацій аналіз взаємозв'язків параметрів, які вивчали, та обрахованих індексів показав зміну вектора лінійної залежності глікемії та інсуліну на протилежний негативний зі зменшенням її сили, а зв'язки з індексами HOMA-IR і HOMA-β зберегли закономірності, як і в контролі. Кореляція Пірсона між інсуліном та індексом HOMA-β показала зміни направленості – зі слабкої негативної на сильну позитивну (табл. 1).

У щурів із групи ЦД2 порівняно з контролем на 8 тижні дослідження концентрацій глюкози та інсуліну виявлено сформовану гіперглікемію (на рівні показника ЦД1-8-1) на фоні підвищеного рівня інсуліну

2A



2B



2C

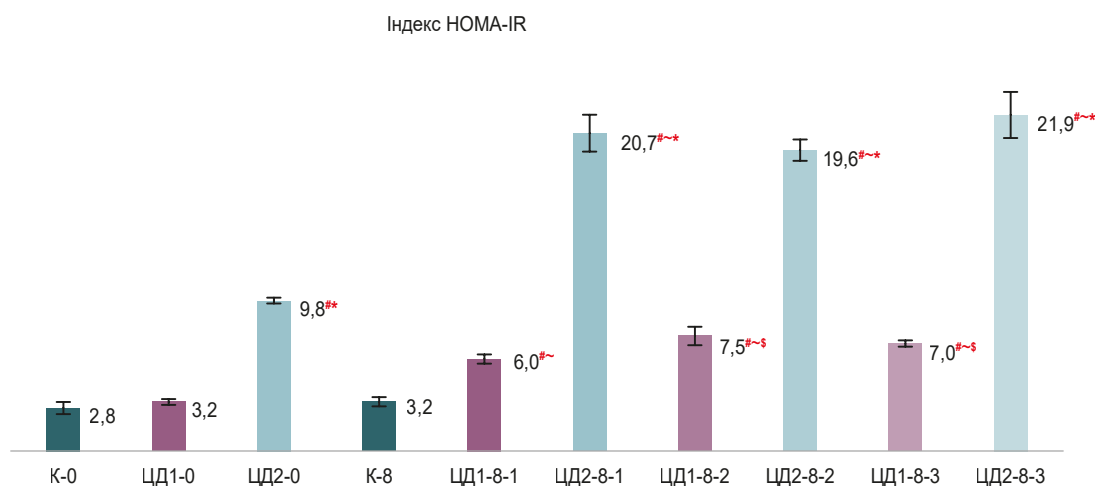


Рис. 2. Показники вуглеводного обміну щурів експериментальних груп ($M \pm m$).

#: статистично значуща різниця показників ЦД щодо показників контрольної групи у відповідний строк ($p < 0,05$); ~: статистично значуща різниця показників груп на 8 тижні щодо показників цієї самої групи на 0 тижні ($p < 0,05$); \$: статистично значуща різниця показників підгруп щурів, яким вводили амінокислоти, порівняно з показниками тварин без корекції ($p < 0,05$); *: статистично значуща різниця показників ЦД1 щодо показників ЦД2 відповідного терміну ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Кореляційний аналіз зв'язків параметрів вуглеводного обміну (кореляція Пірсона, r)

Групи, підгрупи		Кореляція Пірсона, r				
		Глюкоза з			Інсулін з	
		інсуліном	НОМА- β	НОМА-IR	НОМА- β	НОМА-IR
Контроль	Контроль-0, $n = 7$	$r = 0,664$; $p = 0,001^*$	$r = -0,966$; $p = 0,001^*$	$r = 0,919$; $p = 0,001^*$	$r = -0,780$; $p = 0,078$	$r = 0,903$; $p = 0,048^*$
	Контроль-8, $n = 7$	$r = 0,269$; $p = 0,560$	$r = -0,901$; $p = 0,006^*$	$r = 0,851$; $p = 0,015^*$	$r = -0,102$; $p = 0,795$	$r = 0,733$; $p = 0,094$
ЦД1	ЦД1-0, $n = 21$	$r = 0,458$; $p = 0,037^*$	$r = -0,900$; $p = 0,001^*$	$r = 0,941$; $p = 0,001^*$	$r = -0,299$; $p = 0,188$	$r = 0,691$; $p = 0,001^*$
	ЦД1-8-1, $n = 7$	$r = -0,601$; $p = 0,154$	$r = -0,865$; $p = 0,012^*$	$r = 0,279$; $p = 0,545$	$r = 0,914$; $p = 0,004^*$	$r = 0,594$; $p = 0,160$
	ЦД1-8-2, $n = 7$	$r = 0,129$; $p = 0,782$	$r = -0,212$; $p = 0,648$	$r = 0,392$; $p = 0,385$	$r = 0,942$; $p = 0,002^*$	$r = 0,963$; $p = 0,001^*$
	ЦД1-8-3, $n = 7$	$r = -0,645$; $p = 0,118$	$r = -0,853$; $p = 0,015^*$	$r = -0,244$; $p = 0,598$	$r = 0,949$; $p = 0,001^*$	$r = 0,898$; $p = 0,006^*$
ЦД2	ЦД2-0, $n = 21$	$r = 0,035$; $p = 0,880$	$r = -0,755$; $p = 0,001^*$	$r = 0,496$; $p = 0,022^*$	$r = 0,619$; $p = 0,003^*$	$r = 0,885$; $p = 0,001^*$
	ЦД2-8-1, $n = 7$	$r = -0,287$; $p = 0,533$	$r = -0,944$; $p = 0,001^*$	$r = 0,954$; $p = 0,001^*$	$r = 0,558$; $p = 0,193$	$r = 0,013$; $p = 0,978$
	ЦД2-8-2, $n = 7$	$r = -0,050$; $p = 0,915$	$r = -0,623$; $p = 0,135$	$r = 0,463$; $p = 0,296$	$r = 0,812$; $p = 0,027^*$	$r = 0,862$; $p = 0,013^*$
	ЦД2-8-3, $n = 7$	$r = 0,130$; $p = 0,782$	$r = -0,928$; $p = 0,003^*$	$r = 0,952$; $p = 0,001^*$	$r = 0,206$; $p = 0,658$	$r = 0,424$; $p = 0,343$

*: статистично значуща різниця ($p < 0,05$).

(на 69,2 % порівняно з контролем) (рис. 2А–С). Це спричинило зменшення індексу НОМА- β і збільшення НОМА-IR, але порівняно з показниками відповідної підгрупи з ЦД1 вони були більшими в 3,4 і 3,5 рази. Кореляційний аналіз показав втрату зв'язку показників глюкози з інсуліном зі збереженням сили та спрямованості залежності глюкози з обрахованими індексами, а також повну втрату лінійної кореляції інсуліну з індексами НОМА- β та НОМА-IR (табл. 1).

Введення L-аргініну щурам ЦД1-8-2 і ЦД2-8-2 сприяло зменшенню концентрації глюкози порівняно з підгрупами без введення АК (ЦД1-8-1 і ЦД2-8-1 відповідно) без статистично значущої різниці між групами ЦД1 і ЦД2 (рис. 2А). Крім того, виявлено збільшення інсуліну у ЦД1-8-2 на 41,5 % і ЦД2-8-2 на 9,5 % порівняно з підгрупами щурів без введення АК (рис. 2А). Результатом змін цих параметрів стали зсуви обрахованих індексів НОМА- β у щурів ЦД1-8-2 – збільшення на 61,6 %, а у тварин ЦД2-8-2 – 27,0 %. НОМА-IR значущих змін зазнав лише у підгрупі ЦД1-8-2 (збільшення на 24,8 %) порівняно з ЦД1-8-1 (рис. 2В, С). Аналіз кореляційних зв'язків глюкози з індексами у щурів ЦД1-8-2 показав зсуви, подібні до підгрупи без введення АК. Втім, виявлено тенденцію до відновлення позитивного зв'язку з інсуліном (як було в контролі), а також відновлення сильного позитивного зв'язку інсуліну з індексом НОМА-IR. У щурів із ЦД2-8-2 кореляційний аналіз дав змогу встановити втрату зв'язку глюкози зі всіма параметрами, але, разом із тим, і відновлення статистично значущої сильної позитивної кореляції інсуліну з індексами порівняно з підгрупами без АК, хоча й не відновило зв'язки, як у контролі (табл. 1).

N-ацетил-L-цистеїн у щурів обох підгруп (ЦД1-8-3 і ЦД2-8-3) сприяв зниженню концентрації глюкози порівняно з підгрупами без введення АК, але статистично значущої різниці між групами з діабетами та L-аргініном це зниження не мало (рис. 2А). Такі зміни супроводжувались збільшенням концентрації інсуліну на 30,6 % у ЦД1-8-3 і 10,0 % у ЦД2-8-3 порівняно з підгрупами без корекції, що не мало достовірної різниці з ефектами L-аргініну (рис. 2А).

Логічними є зсуви обрахованих індексів НОМА- β і НОМА-IR. Так, у щурів із підгрупи ЦД1-8-3 вони збільшились порівняно з ЦД1-8-1 на 46,9 % і 16,4 %, що перевищувало показники ЦД2-8-3 у 2,7 і 3,1 рази.

Зауважимо, що порівняння показників ЦД2-8-3 і ЦД2-8-1 статистично значущої різниці не виявило, як і різниці за впливом обох АК на експериментальні підгрупи (рис. 2В, С).

Аналіз кореляцій Пірсона показав значущу збереженість сили та спрямованості зв'язку між глюкозою і НОМА- β на рівні контролю в щурів з обох підгруп (ЦД1-8-3 і ЦД2-8-3), а також глюкози з НОМА-IR у ЦД2-8-3, що став сильним позитивним, а не помірним, як у контролі. Ці дані зіставні з ЦД2 на 8 тижні без АК, на відміну від підгрупи з L-аргініном, який такі зміни не спричинив. Кореляційний аналіз зв'язків інсуліну й обрахованих індексів показав у щурів із підгрупи ЦД1-8-3 наявність кореляцій, що за силою і направленістю зіставні з ЦД1-8-2 і L-аргініном, але у щурів із підгрупи ЦД2-8-3 статистично значущих змін не виявлено (табл. 1).

Обговорення

У щурів з обох підгруп із ЦД1 і ЦД2 обидві амінокислоти, що вивчали, показали потенційну здатність знижувати концентрацію глюкози у крові. Такі властивості АК вже відомі за результатами дослідження, що здійснили N. S. Bajwa et al. [6]. Це зниження, імовірно, є результатом покращення функціонування β -клітин підшлункової залози, що підтверджено збільшенням концентрації інсуліну та порівняно з підгрупами без введення АК. Ці дані наведено в метааналізі I. T. Forzano et al. [7].

L-аргінін – відомий попередник оксиду азоту (NO), може покращувати кровопостачання та функцію острівців підшлункової залози [14]. За даними, що одержали J. Cho et al., така індукція секреції інсуліну пов'язана зі збільшенням продукції глюкозо-6-фосфату глюкокіназою шляхом прямої стимуляції та запобігання його деградації [15].

L-цистеїн, будучи прекурсором глутатіону, міг би знижувати оксидативний стрес, який посилює пошкодження β -клітин. Втім, за результатами нашого дослідження, значуще покращення індексу НОМА- β зафіксовано лише в тварин із ЦД1, що пов'язано з принципово різними патогенетичними мішенями при різних типах цукрового діабету. Втім, у результаті аналогічного за експериментальною моделлю ЦД2

дослідження M. Schuurman et al., виявлено зниження оксидативного стресу β -клітин, покращення їхнього функціонування. Ці дані підтверджують ад'ювантний терапевтичний потенціал N-ацетил-L-цистеїну для контролю прогресування ЦД2 у людей [16].

Незважаючи на позитивні зміни, показники, що вивчали, не відновились до контрольних значень, а отже зробили висновок про обмеженість регенеративного або функціонального потенціалу β -клітин в умовах значної деструкції [17].

Встановлено підвищення індексу HOMA-IR у групі ЦД1, що свідчить про посилення інсулінорезистентності. Втім, це, найімовірніше, є результатом вираженої гіперглікемії в щурів із ЦД1. За результатами досліджень, що здійснили в останні роки, повідомляли не тільки про розвиток інсулінорезистентності, але і про ініціацію нею аутоімунної сероконверсії [18]. У щурів із ЦД2 встановлено збільшення індексу HOMA-IR порівняно з контролем, без значущої різниці за ефектами амінокислот. Це підтверджує ключову роль інсулінорезистентності в патогенезі ЦД2, а також є свідченням того, що амінокислоти, хоча й можуть знижувати рівень глюкози й інсуліну, але не повністю усувають основну причину – резистентність тканин до інсуліну [19].

Кореляційний аналіз дав змогу встановити істотне порушення метаболічних зв'язків ЦД1. Це пояснює складність відновлення гомеостазу вуглеводного обміну навіть за умов часткового покращення інсулінової секреції. У тварин із ЦД2 виявлено більшу збереженість метаболічних зв'язків показників вуглеводного обміну порівняно зі щурами з ЦД1. Ці дані підтверджують принципові відмінності в патофізіології діабету цих двох типів. Ба більше, це дає змогу схарактеризувати предиктори, сприяє класифікації підтипів переддіабету, а отже дає змогу оцінити ефективність терапевтичного підходу [20].

Отже, за результатами дослідження, L-аргінін і L-цистеїн мають певний терапевтичний потенціал для корекції метаболічних порушень вуглеводного обміну при обох типах ЦД, але їхні механізми та ступінь ефективності відрізняються. У разі ЦД1 їхня дія спрямована на часткове покращення функції β -клітин, а при ЦД2 вони впливають на рівень глюкози та інсуліну, але мають обмежений вплив на інсулінорезистентність. Ці дані обґрунтовують доцільність продовження досліджень для детальнішого розуміння механізмів дії цих АК та їхнього потенційного застосування в комплексній терапії цукрового діабету.

Висновки

1. У щурів із цукровим діабетом 1 типу обидві амінокислоти спричиняють зниження концентрації глюкози, що зумовлено покращенням функціонування β -клітин підшлункової залози через збільшення концентрації інсуліну, індексу HOMA- β порівняно з підгрупою без корекції, але разом із тим призводить до збільшення HOMA-IR, а названі показники не відновлюються до контрольних значень. Ці зміни супроводжувались істотним порушенням метаболічних зв'язків, що підтверджено за результатами кореляційного аналізу.

2. На фоні розвитку цукрового діабету 2 типу обидві амінокислоти знижують концентрацію глюкози і збільшують рівень інсуліну порівняно з підгрупою без корекції. Втім, індекс HOMA- β покращився лише у щурів із введенням L-аргініну, а збережена гіперінсулінемія в усіх трьох підгрупах експериментальних тварин спричиняла збільшення HOMA-IR порівняно з контролем, без значущої різниці за ефектами амінокислот. Кореляційний аналіз дав змогу визначити більшу збереженість метаболічних зв'язків параметрів вуглеводного обміну порівняно з показниками щурів із цукровим діабетом 1 типу.

Фінансування

Дослідження здійснене в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Патогенез і патоморфологія ендокринних, церебро-васкулярних, пухлинних і непухлинних захворювань у пацієнтів та в експерименті, державний реєстраційний № 0125U002639 (2025–2029).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 25.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 03.07.2025

Схвалено до друку / Accepted: 08.07.2025

Відомості про авторів:

Ісаченко М. І., PhD, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3026-1012

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Information about the authors:

Isachenko M. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine; ESC Member.

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Honored Science and Technology Figure of Ukraine.



Марія Ісаченко (Mariia Isachenko)
isachenko.mariia@gmail.com

References

1. Martin SS, Aday AW, Almarazgo ZI, Anderson CA, Arora P, Avery CL, et al. 2024 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*. 2024;149(8):e347-e913. doi: 10.1161/CIR.0000000000001209. Erratum in: *Circulation*. 2024;149(19):e1164. doi: 10.1161/CIR.0000000000001247. Erratum in: *Circulation*. 2025;151(25):e1095. doi: 10.1161/CIR.0000000000001344
2. Urgent action needed as global diabetes cases increase four-fold over past decades [Internet]. Who.int. [cited 2025 Jun 25]. Available from: <https://www.who.int/news/item/13-11-2024-urgent-action-needed-as-global-diabetes-cases-increase-four-fold-over-past-decades>
3. Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management. *Nurs Stand*. 2022;37(1):61-6. doi: 10.7748/ns.2021.e11709
4. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Lernmark Å, et al. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2023;46(10):e151-99. doi: 10.2337/dci23-0036

5. Liu Y, Wang H, Liang Y, Guo Z, Qu L, Wang Y, et al. Dietary intakes of methionine, threonine, lysine, arginine and histidine increased risk of type 2 diabetes in Chinese population: does the mediation effect of obesity exist? *BMC Public Health*. 2023;23(1):1551. doi: [10.1186/s12889-023-16468-z](https://doi.org/10.1186/s12889-023-16468-z)
6. Bajwa NS, Aslam MW, Amin MR ul, Abida Mateen A, Saifullah Khan, Ain Q ul, et al. Comparative Study of Metformin, N-Acetylcysteine and L-Arginine on Hyperglycemia in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*. 2022;16(02):508-11. doi: [10.53350/pjmhs22162508](https://doi.org/10.53350/pjmhs22162508)
7. Forzano I, Avvisato R, Varzideh F, Jankauskas SS, Cioppa A, Mone P, et al. L-Arginine in diabetes: clinical and preclinical evidence. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):89. doi: [10.1186/s12933-023-01827-2](https://doi.org/10.1186/s12933-023-01827-2). Erratum in: *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):117. doi: [10.1186/s12933-023-01852-1](https://doi.org/10.1186/s12933-023-01852-1)
8. Popazova O, Belenichev I, Bukhtiyarova N, Ryzhenko V, Gorchakova N, Oksenysh V, et al. Molecular and Biochemical Mechanisms of Cardiomyopathy Development Following Prenatal Hypoxia-Focus on the NO System. *Antioxidants (Basel)*. 2025;14(6):743. doi: [10.3390/antiox14060743](https://doi.org/10.3390/antiox14060743)
9. Xing S, Guo Z, Lang J, Zhou M, Cao J, He H, et al. N-Acetyl-L-cysteine ameliorates gestational diabetes mellitus by inhibiting oxidative stress. *Gynecol Endocrinol*. 2023;39(1):2189969. doi: [10.1080/09513590.2023.2189969](https://doi.org/10.1080/09513590.2023.2189969)
10. European Union. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, L276/33, 2010.
11. Verkhovna Rada of Ukraine. On the Protection of Animals from Brutal Treatment. *Law of Ukraine*; February 21, 2006 No. 3447-IV. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/go/3447-15>
12. Kolesnyk YM, Isachenko MI. [Analysis of the body composition of rats with experimental diabetes mellitus type 1 and its correction]. *Modern medical technology*. 2024;16(4):247-54. Ukrainian. doi: [10.14739/mmt.2024.4.311425](https://doi.org/10.14739/mmt.2024.4.311425)
13. Kolesnyk YM, Isachenko MI. [Modeling insulin resistance in Wistar rats induced by a combined high-fat diet as a predictor of type 2 diabetes (experimental phase 1 study)]. *Pathologia*. 2025;22(1):5-11. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1237.2025.1.314277](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2025.1.314277)
14. Halperin F, Mezza T, Li P, Shirakawa J, Kulkarni RN, Goldfine AB. Insulin regulates arginine-stimulated insulin secretion in humans. *Metabolism*. 2022;128:155117. doi: [10.1016/j.metabol.2021.155117](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.155117)
15. Cho J, Horikawa Y, Enya M, Takeda J, Imai Y, Imai Y, et al. L-Arginine prevents cereblon-mediated ubiquitination of glucokinase and stimulates glucose-6-phosphate production in pancreatic β -cells. *Commun Biol*. 2020 Sep 8;3(1):497. doi: [10.1038/s42003-020-01226-3](https://doi.org/10.1038/s42003-020-01226-3)
16. Schuurman M, Wallace M, Sahi G, Barillaro M, Zhang S, Rahman M, et al. N-acetyl-L-cysteine treatment reduces beta-cell oxidative stress and pancreatic stellate cell activity in a high fat diet-induced diabetic mouse model. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:938680. doi: [10.3389/fendo.2022.938680](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.938680)
17. Hosseinkhani S, Arjmand B, Dilmaghani-Marand A, Mohammadi Fateh S, Dehghanbanadaki H, Najjar N, et al. Targeted metabolomics analysis of amino acids and acylcarnitines as risk markers for diabetes by LC-MS/MS technique. *Sci Rep*. 2022;12(1):8418. doi: [10.1038/s41598-022-11970-7](https://doi.org/10.1038/s41598-022-11970-7)
18. Apostolopoulou M, Lambadiari V, Roden M, Dimitriadis GD. Insulin Resistance in Type 1 Diabetes: Pathophysiological, Clinical, and Therapeutic Relevance. *Endocr Rev*. 2025;46(3):317-48. doi: [10.1210/endrev/bnae032](https://doi.org/10.1210/endrev/bnae032)
19. White PJ, McGarrah RW, Herman MA, Bain JR, Shah SH, Newgard CB. Insulin action, type 2 diabetes, and branched-chain amino acids: A two-way street. *Mol Metab*. 2021;52:101261. doi: [10.1016/j.molmet.2021.101261](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101261)
20. Khalili D, Khayamzadeh M, Kohansal K, Ahanchi NS, Hasheminia M, Hadaegh F, et al. Are HOMA-IR and HOMA-B good predictors for diabetes and pre-diabetes subtypes? *BMC Endocr Disord*. 2023;23(1):39. doi: [10.1186/s12902-023-01291-9](https://doi.org/10.1186/s12902-023-01291-9)

Морфологічні особливості ураження внутрішньопечінкових жовчних шляхів у дітей з аутоімунними захворюваннями печінки

М. Б. Диба^{1, A, B, C, D, E, F}, Т. Д. Задорожна^{1, C, E}, В. С. Березенко^{1, 2, E, F}

¹Державна установа «Всеукраїнський центр материнства та дитинства Національної академії медичних наук України», м. Київ,

²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

захворювання печінки, аутоімунні захворювання, діти, біопсія печінки, біліарний фенотип, дуктули.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 2(64).
С. 100-110

Ураження малих внутрішньопечінкових жовчних протоків є характерним, але недостатньо вивченим компонентом аутоімунних захворювань печінки (АЗП) у дітей. Особливість педіатричних форм АЗП – поєднання ознак аутоімунного гепатиту (АІГ) та первинного склерозуючого холангіту (ПСХ), що ускладнює диференційну діагностику, особливо коли виникло ізольоване ураження малих жовчних протоків і немає типових ознак ПСХ, за даними магнітно-резонансної холангіопанкреатографії (МРХПГ).

Мета роботи – оцінити спектр і частоту біліарних уражень у дітей з АІГ, АСХ і ПСХ із застосуванням модифікованої шкали Nakanuma та додаткових морфологічних критеріїв холестази.

Матеріали і методи. До дослідження залучено 69 дітей з АЗП: 26 пацієнтів з АІГ, 29 – з АСХ, 14 – з ПСХ. Гістологічне оцінювання біоптатів печінки здійснили за класифікацією Nakanuma. Додатково оцінювали перидуктальний фіброз, ознаки холестази (біліарний інтерфейс, біліарні розетки, балонна / пір'яста дистрофія гепатоцитів, портальний / перипортальний набряк і мукобілія).

Результати. Медіана віку дітей на час встановлення діагнозу становила 11 років (IQR: 8–14). Фіброз печінки F3–F4 за Metavir виявлено у 54 % дітей з АІГ, 79 % з АСХ та 43 % з ПСХ. Цирроз печінки діагностовано в 24 % пацієнтів з АСХ, 19 % – з АІГ, 7 % – з ПСХ. Запальні захворювання кишечника виявляли передусім при біліарних формах АЗП: у 72 % дітей з АСХ, 71 % – з ПСХ, а при АІГ – лише в одного пацієнта (3,8 %). За даними МРХПГ, ураження великих жовчних протоків виявлено у більшості пацієнтів із ПСХ (71 %) та АСХ (72 %), а ізольоване ураження малих протоків – у 29 % і 28 % відповідно. Запальні захворювання кишечника діагностували переважно у пацієнтів із біліарним фенотипом – у 72 % дітей з АСХ і 71 % з ПСХ, а при АІГ – лише в одному випадку ($p < 0,001$). У пацієнтів з АСХ і ПСХ визначено ширший спектр біліарного ураження порівняно з АІГ. Достовірні відмінності між групами виявлено за частотою дуктопенії ≥ 2 ступеня (АСХ – 52 %, ПСХ – 64 %, АІГ – 19 %, $p = 0,009$), перидуктального фіброзу ≥ 3 ступеня (АСХ – 62 %, ПСХ – 71 %, АІГ – 8 %, $p < 0,001$), наявності мукобілії (АСХ – 66 %, ПСХ – 36 %, АІГ – 4 %, $p < 0,001$). Комплексне оцінювання морфологічних ознак дало змогу достовірно відрізнити АІГ ($3,4 \pm 1,4$ бала) від АСХ ($6,4 \pm 1,6$) та ПСХ ($6,7 \pm 1,9$, $p < 0,001$).

Висновки. Розширений морфологічний аналіз із застосуванням класифікації Nakanuma та додаткових критеріїв біліарного ушкодження дає змогу точніше діагностувати біліарний фенотип АЗП, зокрема форми з ураженням малих жовчних протоків. Це має важливе значення для формування індивідуалізованої стратегії ведення пацієнтів.

Keywords:

liver diseases, autoimmune diseases, children, liver biopsy, biliary phenotype, ductules.

Pathologia.
2025;22(2):100-110

Morphological features of intrahepatic bile duct injury in children with autoimmune liver diseases

M. B. Dyba, T. D. Zadorozhna, V. S. Berezenko

Involvement of small intrahepatic bile ducts is a characteristic but underexplored feature of autoimmune liver diseases (AILD) in children. A distinctive aspect of pediatric AILD is the overlap between autoimmune hepatitis (AIH) and primary sclerosing cholangitis (PSC), which complicates differential diagnosis – especially in cases with isolated small-duct injury and absence of typical PSC features on MRCP.

The aim of the study was to assess the spectrum and frequency of biliary injury in children with autoimmune hepatitis, autoimmune sclerosing cholangitis, and primary sclerosing cholangitis using the modified Nakanuma scoring system and additional morphological criteria of cholestasis.

Materials and methods. Sixty-nine children with AILD were included: 26 with AIH, 29 with ASC, and 14 with PSC. Liver biopsies were evaluated using the Nakanuma classification. Additional features assessed included periductal fibrosis and signs of cholestasis (biliary interface, rosettes, ballooning / feathery hepatocyte degeneration, portal / periportal edema, and mucobilia).

Results. The median age at diagnosis was 11 years (IQR: 8–14). Advanced liver fibrosis (F3–F4) was present in 54 % of AIH, 79 % of ASC, and 43 % of PSC cases. Cirrhosis was observed in 24 % of ASC, 19 % of AIH, and 7 % of PSC patients. Inflammatory bowel disease was common in biliary phenotypes – detected in 72 % of ASC and 71 % of PSC patients, and in only 3.8 % of AIH cases. According to MRCP, large-duct involvement was seen in 71 % of PSC and 72 % of ASC patients, while isolated small-duct injury was found in 29 % and 28 %, respectively. ASC and PSC patients showed a broader range of

biliary lesions compared to AIH. Statistically significant differences were observed in the frequency of ductopenia $\geq$ grade 2 (ASC – 52 %, PSC – 64 %, AIH – 19 %), advanced periductal fibrosis $\geq$ grade 3 (ASC – 62 %, PSC – 71 %, AIH – 8 %), and mucobilia (ASC – 66 %, PSC – 36 %, AIH – 4 %; $p < 0.001$). Cumulative scoring of biliary features reliably distinguished AIH (mean 3.4 ± 1.4) from ASC (6.4 ± 1.6) and PSC (6.7 ± 1.9 , $p < 0.001$).

Conclusions. Extended morphological analysis using the Nakanuma classification and additional biliary injury criteria improves diagnostic accuracy for identifying the biliary phenotype of AILD in children, including small-duct variants of ASC and PSC. This approach supports more precise diagnosis and individualized treatment strategies.

Патологія жовчних проток у дітей з аутоімунними захворюваннями печінки (АЗП) залишається однією з найменш вивчених, але водночас найскладніших для діагностики в дитячій гепатології [1,2,3]. У значної частини пацієнтів з аутоімунним гепатитом (АІГ) виявляють ознаки ураження внутрішньопечінкових жовчних проток, що ускладнює чітке визначення належності цих змін до конкретного нозологічного варіанта. В окремих випадках гістологічна картина може нагадувати морфологічні ознаки, характерні для первинного склерозуючого холангіту (ПСХ) [4].

У сучасній фаховій літературі для позначення поєднання АІГ з ознаками ураження жовчних протоків використовують два терміни: overlap-синдром та аутоімунний склерозуючий холангіт (АСХ). Обидва терміни залишаються в науковому обігу, але є певні відмінності у підходах різних клінічних шкіл. У дорослій гепатології частіше застосовують термін overlap-синдром АІГ / ПСХ, а в педіатричній практиці частіше використовують термін АСХ як окреме захворювання з характерними клініко-морфологічними ознаками, що поєднують риси АІГ і ПСХ [5,6,7,8].

У сучасних клінічних настановах [1,3,5] рекомендовано включати магнітно-резонансну холангіопанкреатографію (МРХПГ) до алгоритму обстеження всіх дітей, у яких припускають розвиток АІГ, аби виключити / підтвердити ознаки ПСХ. Втім, навіть якщо холангіограма нормальна, можливе ізольоване ураження дрібних внутрішньопечінкових протоків (так званий ПСХ малих протоків), що складно виявляють під час МРХПГ [9,10,11,12,13]. Це обґрунтовує провідну роль гістологічного дослідження в діагностиці цих форм ураження, адже в таких випадках є ризик пропустити АСХ або ПСХ та помилково діагностувати в пацієнта класичний АІГ [14,15,16,17]. Така діагностична помилка може призвести до неефективного лікування та спричинити гірший прогноз, тому морфологічне оцінювання біліарного компонента набуває особливого значення.

Типові гістологічні ознаки ПСХ, як-от концентричний перидуктальний фіброз за типом «цибулинної луски» («onion-skin») і фіброзно-облітеруюче ураження жовчних проток, не завжди можуть бути чітко ідентифіковані в біопатії, оскільки ураження має осередковий, а не дифузний характер [18,19,20,21]. У зв'язку з цим було запропоновано розрізняти типові (патогномонічні) для ПСХ і спільні з ПСХ морфологічні ознаки. Як типові визначено перидуктальний фіброз і фіброзно-облітеруюче ураження жовчних проток; як спільні – дуктопенію, дуктулярну реакцію, морфологічні ознаки холестази, а також біліарну метаплазію гепатоцитів [13,19]. Така класифікація дає змогу розширити спектр морфологічних маркерів ПСХ у дітей, покращити діагностику ПСХ малих проток у педіатричній популяції, коли не було типових ознак ПСХ.

Біліарні ураження при АІГ детально охарактеризовані А. J. Czaja et al. у 2004 році [22]. Ці ураження включають набряк, вакуолізацію епітелію, гіперхромазію ядер, деструкцію базальної мембрани та перидуктальний лімфоцитарний інфільтрат. Частина цих змін тривалий час зберігається навіть після лікування, і, коли немає типових ознак ПСХ, у біопатії виникає ризик хибної класифікації [14,17,18]. Враховуючи це, все частіше порушують питання про клінічну значущість диференціації АСХ як окремого фенотипу АЗП, діагностика якого є важливою не лише в морфологічному аспекті, але й для стратифікації ризику, прогнозу перебігу захворювання та вибору терапевтичної тактики [18,22].

У педіатричній практиці гістологічне оцінювання часто є єдиним доступним методом діагностики ураження малих жовчних проток. Однак це оцінювання ускладнене тим, що досі немає чітких діагностичних критеріїв ПСХ малих проток у дітей і варіативністю проявів біліарного пошкодження при АІГ [18,22]. Це є чинником ризику і гіпердіагностики АСХ, і недооцінювання біліарного компонента при АІГ. Зважаючи на це, увага науковців зосереджена на необхідності стандартизованого оцінювання біліарних змін.

Один із перспективних інструментів – система гістологічного оцінювання Наканума, що передбачає градацію біліарного ураження з урахуванням вираженості дуктулярної реакції, ступеня активності холангіту, наявності дуктопенії та біліарної метаплазії. Ця класифікація також передбачає оцінювання ступеня фіброзу та визначення стадії захворювання за сумою балів, що дає змогу оцінити прогресування патологічного процесу [23,24,25,26]. Такий підхід сприяє не лише об'єктивізації морфологічних змін, але й створенню уніфікованої системи стратифікації тяжкості біліарного ураження. Це особливо важливо, коли є припущення про АСХ або ПСХ малих проток у дітей, немає патогномонічних ознак, а рішення щодо діагнозу та наступної терапії потребує комплексного морфологічного оцінювання. Крім того, врахування таких морфологічних змін дає змогу не лише підвищити діагностичну точність, але й забезпечити ранню ідентифікацію дітей із потенційно агресивним перебігом. Це обґрунтовує доцільність модифікації терапевтичного підходу [18].

Мета роботи

Оцінити спектр і частоту біліарних уражень у дітей з АІГ, АСХ і ПСХ із застосуванням модифікованої шкали Наканума та додаткових морфологічних критеріїв холестази.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективне дослідження медичної документації дітей, які перебували на обстеженні та лікуванні в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» в 2018–2025 роках. У 2024 році установу перейменовано на ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України». Дослідження відповідало принципам Гельсінської декларації та схвалене етичним комітетом установи (протокол від 11.07.2025 р. № 4).

До аналізу залучено пацієнтів із діагнозами АІГ, АСХ (або overlap-синдром АІГ / ПСХ) та ПСХ. Загалом проаналізовано 112 історій хвороби дітей, яким виконали біопсію печінки.

Застосування оновленої педіатричної класифікації аутоімунних захворювань печінки (ESPGHAN) дало змогу стратифікувати пацієнтів на три клініко-морфологічні групи: АІГ, АСХ та ПСХ [1]. У 8 випадках первинний діагноз АІГ переглянуто – за результатами МРХПГ і повторного гістологічного аналізу діагностовано АСХ.

Із дослідження виключили 43 пацієнтів, оскільки в їхніх історіях хвороби не було імуногістохімії (СК7), результатів МРХПГ, а також через недостатню кількість портальних трактів у біоптаті (<10).

Врешті до аналізу залучено 69 дітей. Для всіх пацієнтів зібрано демографічні та клініко-лабораторні дані: вік, стать, показники функціональних тестів печінки (аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза (АСТ), γ -глутамілтрансфераза (ГГТ), лужна фосфатаза (ЛФ), загальний і прямий білірубін, міжнародне нормалізоване відношення, рівень IgG, враховуючи вікові норми) і серологічний профіль (ANA, SMA, LKM-1, LC1, рANCA, SLA). Додатково обрахували співвідношення ГГТ / АСТ і ЛФ / АСТ як непрямі маркери біліарного ураження.

Біопсійний матеріал отримано з архіву лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», методом сліпого перегляду його повторно оцінили два незалежні патоморфологи. Біоптати обробили за стандартними методиками: парафінові блоки, забарвлення гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном і трихромом Массона.

Стадію фіброзу печінки визначено за шкалою Metavir, що є загальноприйнятою методикою, та додатково оцінювали за класифікацією Nakanuma. Для оцінювання жовчних протоків, дуктулярного епітелію, дуктулярної реакції та біліарної метаплазії застосовували імуногістохімічний маркер епітелію дуктул СК7 [27,28]. Біліарне ураження оцінювали за класифікацією Nakanuma, що передбачає напівкількісне оцінювання в балах (0–3; для дуктулярної реакції – 0–4), що визначає наявність морфологічних змін. Надалі термін ступінь використано як відповідник бальної оцінки.

Дуктопенію оцінювали за шкалою: 0 балів – немає, 1 бал – втрата проток в <1/3 портальних трактів, 2 бали – у 1/3–2/3 трактів, 3 бали – у >2/3 трактів. Активність холангіту: 0 – немає / мінімальна; 1 – $\leq$ 1/3 трактів (1 дуктула); 2 – >2 дуктул в 1/3–2/3 трактів; 3 – >2/3 трактів із деструктивними змінами. Біліарна метаплазія (СК7): 0 – немає; 1 – СК7+ >10 гепатоцитів

в одній перипортальній зоні; 2 – позитивність у 1/3–2/3 трактів; 3 – у $\geq$ 2/3 трактів. Дуктулярна реакція (СК7): 0 – немає; 1 – проліферація дуктул (>4) у трактах; 2 – дуктулярна реакція + СК7+ перипортальні гепатоцити; 3 – проміжні гепатоцити; 4 – більшість гепатоцитів СК7+. Гістологічна активність гепатиту (за Nakanuma): 0 – немає; 1 – мінімальна ($\geq$ 10 лімфоцитів в $\geq$ 1 тракті або мінімальний лобулярний гепатит); 2 – помірна ($\geq$ 10 лімфоцитів у $\geq$ 2 трактах або виражений лобулярний гепатит); 3 – висока (інтерфейс-гепатит >20 лімфоцитів у >50 % трактів, мостоподібний / зональний некроз). Фіброз: 0 – немає; 1 – портальний / перипортальний фіброз або незавершений септальний; 2 – мостоподібний фіброз; 3 – цироз із вузлами регенерації.

Стадію захворювання визначено за сумарним балом фіброзу та дуктопенії: 1 – немає прогресування (0 балів), 2 – мінімальне (1–2 бали), 3 – помірне (3–4 бали), 4 – значне (5–6 балів).

Для оцінювання біліарного ураження додатково враховували перидуктальний фіброз, який визначали напівкількісно за чотирибальною шкалою: 0 балів – немає, 1 бал – перидуктальний фіброз в 1 дуктулі, 2 бали – у 2 дуктулах, 3 бали – у $\geq$ 3 дуктулах біоптату.

Окремо оцінювали концентричний перидуктальний фіброз («onion-skin»), що характеризується шаруватим відкладенням фіброзної тканини навколо міжчасточкових жовчних проток, і фіброзно-облітеруючий рубець – як повну або майже повну втрату просвіту протоки з її заміщенням концентричними або нерівномірними фіброзними структурами. Додатково оцінювали морфологічні маркери біліарного ураження: біліарні розетки, біліарний інтерфейс-гепатит, балонну та пір'ясту дегенерацію гепатоцитів, мукобілію, портальний і перипортальний набряк, – що визначено як непрямі ознаки холестатичного ушкодження паренхіми [29,30,31].

Балонну та пір'ясту дегенерацію гепатоцитів аналізували разом, оскільки їх диференціація на практиці може бути утрудненою, особливо на фоні високої запальної активності, характерної для АІГ та АСХ. Ці типи змін мають подібні морфологічні ознаки (збільшені клітини з розрідженою або зернистою цитоплазмою), що ускладнює точну ідентифікацію за стандартним забарвленням гематоксиліном та еозином. Наявність супутніх ознак активного запалення при АСХ ще більше ускладнює інтерпретацію, тому об'єднання цих двох типів дегенерації в один показник є обґрунтованим.

Крім того, оцінювали накопичення муциноподібного матеріалу у жовчних протоках за допомогою PAS-реакції, що дає змогу візуалізувати нейтральні мукополісахариди та глікопротеїни (мукобілію).

Оскільки більшість морфологічних ознак біліарного ураження (крім концентричного перидуктального фіброзу та фіброзно-облітеруючого рубця) не є чітко специфічними, і їх можуть виявляти навіть при АІГ, застосовано інтегральний підхід до їх оцінювання. Аналізували сукупність таких ознак: дуктопенія (0–3 бали), дуктулярна реакція (0–4 бали), біліарна метаплазія (0–3 бали), перидуктальний фіброз (0–3 бали), біліарний інтерфейс (0–1 бал), біліарні розетки (0–1 бал), балонна / пір'яста дегенерація

гепатоцитів (0–1 бал), портальний і перипортальний набряк (0–1 бал). Після напівкількісного оцінювання кожної ознаки обчислювали сумарний бал, який характеризував загальний рівень біліарного ураження та холестазу.

Перевірку гіпотези щодо нормальності розподілу здійснили за критерієм Колмогорова–Смирнова. Більшість даних не відповідали закону нормального розподілу, тому для статистичного аналізу використано непараметричні методи. Кількісні змінні наведено як середнє значення $\pm$ стандартне відхилення (SD) або як медіану (Me) та міжквартильний інтервал (Q25–Q75). Для аналізу міжгрупових відмінностей застосували критерій Краскела–Волліса. Якщо встановлено статистично значущі відмінності, виконано постхок аналіз за методом Данна. Частотні характеристики якісних змінних порівнювали за допомогою точного критерію Фішера, включаючи попарні постхок порівняння з поправкою на множинність. Статистичні методи дослідження реалізовано з використанням програми GraphPad Prism 10 (GraphPad Software Inc., США, GraphPad Prism 10.4.1.627, GPS-2722055-T).

Результати

До дослідження залучено дітей віком від 2 до 18 років. Медіана віку обстежених пацієнтів на час встановлення діагнозу становила 11 років (IQR: 8–14). Розподіл пацієнтів за віком у групах АІГ, АСХ та ПСХ не мав статистично значущих відмінностей ($p > 0,05$). АІГ діагностовано у 26 дітей, із них 18 (72,0 %) дівчат; АСХ виявлено у 29 пацієнтів, із них 13 (48,5 %) дівчат; ПСХ – у 14 осіб, із них 6 (43,0 %) дівчат. Клініко-лабораторна характеристика дітей з АІГ, ПСХ та АСХ наведено в таблиці 1.

Частина пацієнтів отримувала імуносупресивну терапію до біопсії печінки: у групі АІГ – 30,7 %, АСХ – 31,0 %, ПСХ – 21,4 %. У групі ПСХ двоє дітей отримували буденофальк, одна – преднізолон через супутнє запальне захворювання кишківника.

Групи дослідження не відрізнялися за тривалістю лікування до біопсії ($p = 0,33$). Рівні трансаміназ (аланінамінотрансфераза, АСТ) найвищі при АІГ та АСХ, але статистично значущих відмінностей не виявлено. Натомість співвідношення ЛФ / АСТ і ГГТ / АСТ як непрямі показники біліарного ушкодження достовірно відрізнялися у групах ($p = 0,01$). Медіана ЛФ / АСТ найвища при ПСХ – 2,11 (Q25–Q75: 1,24–4,92) порівняно з АСХ – 1,44 (0,68–3,10) та АІГ – 0,67 (0,34–1,30). За результатами парного аналізу, різниці між ПСХ і АІГ залишилася достовірною ($p = 0,01$).

Підібну динаміку виявлено для ГГТ / АСТ: ПСХ – 0,80 (0,29–1,59), АСХ – 0,52 (0,22–2,00), АІГ – 0,23 (0,10–0,41). Загальна різниця між групами вірогідна ($p = 0,01$), з достовірними відмінностями між ПСХ і АІГ ($p = 0,03$), АСХ і АІГ ($p = 0,03$). Ці дані свідчать про більш виражений біліарний компонент ураження при ПСХ та АСХ порівняно з АІГ. Співвідношення ЛФ / АСТ і ГГТ / АСТ можуть бути додатковими неінвазивними маркерами біліарного ушкодження у дітей з АЗП.

Більшість дітей, залучених до дослідження, мали виражений ступінь фіброзу печінки F3–F4 за Metavir.

Таблиця 1. Клініко-лабораторна характеристика дітей із АІГ, ПСХ та АСХ

Показник	АІГ, n = 26	АСХ, n = 29	ПСХ, n = 14	p-значення
Дівчата, n (%)	18 (69,2)	13 (44,8)	6 (42,9)	0,13**
Вік, роки	10,5 (8,0; 15,0)	13,0 (8,0; 14,0)	10,5 (7,5; 13,5)	0,61*
1–6 років, n (%)	1 (3,8)	1 (3,4)	2 (14,3)	0,3**
7–12 років, n (%)	12 (46,2)	13 (44,8)	5 (35,7)	0,8**
13–18 років, n (%)	13 (50)	15 (51,7)	7 (50)	1,0**
Біопсія на фоні глюкокортико-стероїдів, n (%)	8 (30,8)	9 (31,0)	3 (21,4)	0,8
Тривалість лікування до біопсії, дні	200 (20; 2555)	80 (25; 135)	365 (6; 1000)	0,33**
Тромбоцити, Ме (Q25; Q75)	206,5 (178,0; 291,0)	238,0 (179,0; 308,0)	292,0 (211,0; 436,0)	0,14*
Тромбоцитопенія (<150), n (%)	2 (7,7)	5 (17,2)	–	0,43**
Аланінамінотрансфераза, Ме (Q25; Q75)	376 (145; 922)	173 (79; 642)	175 (60; 254)	0,06*
АСТ, Ме (Q25; Q75)	256 (98; 811)	156 (66; 550)	119 (49; 207)	0,09*
ГГТ, Ме (Q25; Q75)	70 (31; 141)	105 (59; 226)	103 (32; 275)	0,26*
ГГТ <50 Од/л, n (%)	6 (23,1)	6 (20,7)	3 (21,4)	1,0**
ЛФ, Ме (Q25; Q75)	227 (152; 279)	228 (160; 421)	329 (214; 438)	0,22*
Білірубін, Ме (Q25; Q75)	28 (14; 47)	21 (14; 34)	15 (8; 18)	0,04*
Білірубін >BMH, n (%)	9 (34,6)	11 (37,9)	1 (7,1)	0,1**
ЛФ / АСТ, Ме (Q25; Q75)	0,7 (0,3; 1,3)	1,4 (0,7; 3,1)	2,1 (1,2; 4,9)	0,01*
ГГТ / АСТ, Ме (Q25; Q75)	0,2 (0,1; 0,4)	0,5 (0,2; 2,0)	0,8 (0,3; 1,6)	0,01*
IgG, г/л, Ме (Q25; Q75)	16,5 (13,8; 23,8)	19,7 (13,5; 25,3)	9,4 (8,8; 14,8)	<0,01*
IgG >16, n (%)	12 (46,2)	15 (51,7)	1 (7,1)	0,01**
Міжнародне нормалізоване відношення, Ме (Q25; Q75)	1,2 (1,1; 1,3)	1,2 (1,1; 1,3)	1,2 (1,1; 1,3)	0,74*
Кальпротектин	31,4 (21; 93)	176 (42,2; 309)	44,7(20,6;338,8)	0,33
Фіброз F1–2 ст. за Metavir, n (%)	12 (46,2)	6 (20,7)	8 (57,1)	0,03**
Фіброз F3–4 ст. за Metavir, n (%)	14 (53,8)	23 (79,3)	6 (42,9)	0,04**
Цироз печінки, n (%)	5 (19,2)	7 (24,1)	1 (7,1)	0,01**
Портальна гіпертензія, n (%)	3 (11,5)	6 (20,7)	0	0,16**
Спленомегалія, n (%)	12 (46,1)	19 (65,5)	7 (50)	0,32**
ВРВС n (%)	1 (3,8)	3 (10,3)	0	0,34**
ПСХ великої протоки	–	21 (72,4)	10 (71,4)	1,0 **
ПСХ з ураженням тільки малої протоки	–	8 (27,6)	4 (28,6)	1,0 **
Запальне захворювання кишківника	1 (3,8)	21 (72,4)	10 (71,4)	<0,001

*: непараметричний тест Краскела–Волліса; **: точний критерій Фішера.

Частота тяжкого фіброзу (F3–F4) достовірно відрізнялася у групах ($\chi^2 = 6,62$, $p = 0,04$). У пацієнтів з АСХ цей показник значно вищий, ніж при ПСХ (79,3 % проти 42,9 %, $p = 0,04$). Порівнявши АСХ та АІГ, визначили тенденцію до більшої частоти F3–F4 при АСХ (79,3 % проти 53,8 %, $p = 0,09$). Стадії фіброзу F1–F2 частіше зафіксовані при ПСХ (57,1 %) та АІГ (46,2 %) порівняно з АСХ (20,7 %), з достовірною різницею між АСХ і ПСХ ($p = 0,03$). Цироз печінки діагностовано у 24 % дітей з АСХ, 19 % – з АІГ, 7 % – із ПСХ ($p = 0,01$ між АСХ і ПСХ). Ознаки портальної гіпертензії (спленомегалія,

Таблиця 2. Гістологічна характеристика біліарного ураження у дітей з аутоімунними захворюваннями печінки (за класифікацією Nakamura)

Показник	АІГ, n = 26	АСХ, n = 29	ПСХ, n = 14	p-значення
Активність гепатиту, середній бал (±SD)	2,4 ± 0,6	2,4 ± 0,6	1,71 ± 0,61	0,004
Активність холангіту				
0 ступеня	5 (19,2)	0	1 (7,1)	<0,001*
1 ступеня	18 (69,2)	8 (27,6)	4 (28,6)	
2 ступеня	1 (3,8)	8 (27,6)	6 (42,9)	
3 ступеня	2 (7,7)	13 (44,8)	3 (21,4)	
Активність холангіту, середній бал (±SD)	1,0 ± 0,7	2,2 ± 0,9	1,9 ± 0,9	<0,001**
Дуктопенія				
0 ступеня	7 (26,9)	2 (6,9)	1 (7,1)	0,02*
1 ступеня	14 (53,8)	12 (41,4)	8 (57,1)	
2 ступеня	3 (11,5)	15 (51,7)	5 (35,7)	
3 ступеня	0	0	0	
Дуктопенія, середній бал (±SD)	0,8 ± 0,6	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,6	0,003**
Перидуктальний фіброз				
0 ступеня	10 (38,5)	0	0	<0,001
1 ступеня	3 (11,5)	1 (3,4)	0	
2 ступеня	11 (42,3)	10 (34,5)	4 (28,6)	
3 ступеня	2 (7,7)	18 (62,1)	10 (71,4)	
Перидуктальний фіброз, середній бал (±SD)	1,2 ± 1,1	2,5 ± 0,7	2,7 ± 0,50	<0,001
Концентричний перидуктальний фіброз типу «onion-skin»	0	21 (63,6)	13 (92,9)	<0,001**
Фіброзно-облітеруючий рубець	0	22 (66,7)	11 (78,6)	<0,001**
Дуктулярна реакція				
1 ступеня	9 (34,6)	7 (24,1)	5 (35,7)	0,7*
2 ступеня	11 (42,3)	11 (37,9)	6 (42,9)	
3 ступеня	6 (23,1)	9 (31,0)	3 (21,4)	
4 ступеня	0	2 (6,9)	0	
Дуктулярна реакція, середній бал (±SD)	2,0 ± 0,8	2,2 ± 0,9	1,9 ± 0,8	0,4**
Біліарна метаплазія				
0 ступеня	14 (53,8)	9 (31,0)	5 (35,7)	0,48*
1 ступеня	6 (23,1)	9 (31,0)	4 (28,6)	
2 ступеня	6 (23,1)	9 (31,0)	5 (35,7)	
3 ступеня	0	2 (6,9)	0	
Біліарна метаплазія, середній бал (±SD)	0,7 ± 0,8	1,1 ± 0,9	0,9 ± 0,9	0,3**
Стадія фіброзу				
1 стадія	12 (46,2)	4 (13,8)	7 (50)	0,05*
2 стадія	8 (30,8)	13 (44,8)	5 (35,7)	
3 стадія	6 (23,1)	12 (41,4)	2 (14,3)	
Стадія фіброзу, середній бал (±SD)	2,0 ± 1,0	2,3 ± 0,8	1,6 ± 0,7	0,07
Стадія за Nakamura				
Стадія 1 (0 балів)	0	0	0	0,04
Стадія 2 (1–2 бали)	12 (46,2)	3 (12,0)	6 (42,9)	
Стадія 3 (3–4 бали)	12 (46,2)	20 (69,0)	6 (42,9)	
Стадія 4 (5–6 балів)	2 (7,7)	6 (20,7)	2 (14,3)	
Стадія за Nakamura, середній бал (±SD)	2,6 ± 0,6	3,1 ± 0,5	2,7 ± 0,7	<0,001
Додаткові ознаки холестазу				
Біліарний інтерфейс	5 (19,2)	14 (48,3)	8 (57,1)	0,04**
Балонна / пір'яста дистрофія гепатоцитів	12 (46,2)	24 (82,8)	8 (57,1)	0,02**
Портальний і перипортальний набряк	8 (30,8)	20 (69,0)	12 (85,7)	0,001**
Біліарні розетки	6 (23,1)	20 (69,0)	10 (71,4)	<0,001**
Мукобілія	1 (3,8)	19 (65,5)	5 (35,7)	<0,001**
Загальна сума балів***	3,4 ± 1,4	6,4 ± 1,6	6,7 ± 1,9	<0,001

*: непараметричний тест Краскела–Волліса; **: точний критерій Фішера; ***: загальна сума балів включала такі показники, як дуктопенія, дуктулярна реакція, біліарна метаплазія, перидуктальний фіброз, біліарний інтерфейс, біліарні розетки, балонна / пір'яста дистрофія гепатоцитів, портальний і перипортальний набряк.

варикоз стравоходу) частіше виявлені при АСХ, але без достовірних міжгрупових відмінностей ($p > 0,05$).

Ці дані підтверджують агресивніший перебіг АСХ із тенденцією до швидшого розвитку фіброзу й цирозу печінки. Натомість менш виражені стадії фіброзу при ПСХ можуть свідчити про повільніший або субклінічний перебіг хвороби на час встановлення діагнозу. Запальні захворювання кишечника виявлені переважно у дітей із біліарним фенотипом АЗП: 72,4 % – при АСХ, 71,4 % – при ПСХ, а при АІГ – лише у 3,8 % пацієнтів ($p < 0,001$).

У більшості пацієнтів із ПСХ (71 %) та АСХ (72 %), за даними МРХПГ, виявлено ураження жовчних проток великого калібру. Ізольоване ураження малих вну-

трішньопечінкових проток визначено у 29 % хворих на ПСХ і 28 % пацієнтів з АСХ. Частота виявлення фенотипів з ураженням великих чи малих проток достовірно не відрізнялася між АСХ і ПСХ ($p > 0,05$), що підтверджує схожий спектр біліарного ураження при обох нозологіях.

Гістологічний аналіз біоптатів печінки дав змогу встановити характерні ознаки ураження жовчних проток у пацієнтів з АЗП. Медіана кількості портальних трактів, на основі яких здійснено оцінювання, становила 12 (11; 13). Ці дані відповідають критеріям адекватності біопсійного матеріалу. У таблиці 2 наведено порівняльну характеристику біліарних змін, за даними гістології, відповідно до класифікації Nakamura.

Гістологічна активність гепатиту за класифікацією Nakamura достовірно відрізнялася між групами ($H = 11,04$, $p = 0,004$). Пост-хок аналіз показав, що активність гепатиту істотно нижча при ПСХ порівняно з АСХ ($p = 0,005$) та АІГ ($p = 0,012$), а між АІГ та АСХ відмінностей не виявлено ($p > 0,99$).

Активність холангіту, що характеризує інтенсивність запалення жовчних проток і є важливим морфологічним критерієм біліарних уражень, достовірно відрізнялась у трьох групах ($H = 22,1$, $p < 0,001$). Середні бали активності холангіту вірогідно нижчі в групі АІГ порівняно з АСХ ($p < 0,001$) і ПСХ ($p = 0,011$), а між АСХ і ПСХ відмінностей не виявлено ($p > 0,99$). Групи також відрізнялися за ступенями активності (0–3 ст.) – $\chi^2 = 26,8$, $p < 0,001$. У 69,2 % пацієнтів з АІГ визначено мінімальну активність, а холангіт ≥ 2 ст. діагностовано лише у 11,5 %. У групах АСХ і ПСХ холангіт ≥ 2 ст. встановлено у 72,4 % і 64,3 % дітей відповідно. Тяжкий холангіт (3 ст.) найчастіше мали діти з АСХ (44,8 %), рідше – при ПСХ (21,4 %) та АІГ (7,7 %, $p = 0,006$). Його частота достовірно вища в пацієнтів з АСХ порівняно з АІГ ($p = 0,003$).

Дуктопенія, що характеризує втрату міжчасточкових жовчних проток (рис. 1), достовірно відрізнялася у групах і за середнім балом ($p = 0,003$), і за розподілом ступенів ($\chi^2 = 11,9$, $p = 0,02$).

Дуктопенію 0–1 ст. виявлено у 81 % пацієнтів з АІГ, а у групах АСХ і ПСХ – у 48 % і 36 % відповідно ($\chi^2 = 9,51$, $p = 0,009$). Частота дуктопенії 2 ст. також вища при АСХ і ПСХ, ніж при АІГ ($\chi^2 = 6,3$, $p = 0,04$). У пост-хок аналізі (тест Фішера) вірогідну різницю встановлено між АІГ та АСХ ($p = 0,002$), а відмінності між АІГ і ПСХ ($p = 0,102$) не достовірні. Це, імовірно, пов'язано з невеликим розміром вибірки.

Класифікація Nakamura є зручним і відтворюваним методом оцінювання фіброзу, що зіставний зі шкалою Metavir. У більшості пацієнтів трьох груп визначено фіброз ≥ 2 стадії: АІГ – 54 %, АСХ – 86 %, ПСХ – 50 % ($\chi^2 = 8,7$, $p = 0,01$). Пост-хок аналіз показав, що частота фіброзу 2–3 ст. достовірно вища при АСХ порівняно з АІГ ($p = 0,02$) і ПСХ ($p = 0,02$), а між АІГ і ПСХ відмінностей не виявлено ($p = 1,0$). Це підтверджує виразніше фіброзне ремоделювання й агресивніший перебіг АСХ у дітей.

Класифікація Nakamura також дає змогу оцінювати стадію прогресування захворювання, беручи до уваги дуктопенію та фіброз. Аналіз розподілу стадій (2–6 балів) між трьома групами дав змогу визначити достовірні відмінності ($\chi^2 = 10,0$, $p = 0,04$), а за середнім балом – суттєву різницю ($p < 0,001$). Найвищі значення зафіксовано при АСХ. Стадію 3–4 мали 54 % пацієнтів з АІГ, 90 % – з АСХ, 57 % – з ПСХ ($\chi^2 = 9,6$, $p = 0,008$). У попарному аналізі відмінності зафіксовано між АІГ та АСХ ($p = 0,02$), а між АІГ і ПСХ різниці не виявлено ($p = 1,0$). Порівняння АСХ і ПСХ дало змогу визначити тенденцію до частішого виявлення пізніх стадій при АСХ ($p = 0,05$).

Перидуктальний фіброз як маркер хронічного ушкодження жовчних проток виявлено в усіх пацієнтів з АСХ і ПСХ, у 61,5 % дітей з АІГ ($\chi^2 = 32,1$, $p < 0,001$). Перидуктальний фіброз 3 ст. (ураження ≥ 3 дуктул у біопатії) виявлено у 62,1 % пацієнтів з АСХ і 71,4 % осіб

із ПСХ, а серед АІГ – лише у 7,7 %. Попарний аналіз дав змогу зафіксувати достовірні відмінності між АІГ та АСХ ($p < 0,001$), АІГ і ПСХ ($p < 0,001$), відмінностей між АСХ і ПСХ не виявлено ($p = 0,73$). Концентричний перидуктальний фіброз типу «onion-skin» (рис. 2A) виявлено у 63,6 % дітей з АСХ і 92,9 % з ПСХ ($p = 0,23$).

Фіброзно-облітеруючі рубці (рис. 2B), що характеризують повну втрату просвіту дуктул із заміщенням фіброзною тканиною, виявлено у 66,7 % дітей з АСХ та 78,6 % осіб із ПСХ ($p = 0,5$). Обидві ознаки є важливими маркерами хронічного біліарного ушкодження та сприяють диференціації класичного АІГ від біліарних форм аутоімунного ураження печінки.

Дуктулярну реакцію визначено в усіх пацієнтів, які залучені до дослідження, але достовірних відмінностей не виявлено ні за середнім балом ($H = 1,3$, $p = 0,53$), ні за розподілом ступенів ($\chi^2 = 0,7$). Біліарна метаплазія гепатоцитів (рис. 3) також не мала статистично значущих відмінностей у групах ($H = 2,3$, $p = 0,32$; $\chi^2 = 5,51$, $p = 0,48$), хоча тяжчі ступені (2–3 ст.) частіше визначено при АСХ. Біліарний інтерфейс (рис. 3) визначено у 19,2 % пацієнтів з АІГ, у 44,8 % дітей з АСХ та 57,1 % випадків ПСХ ($\chi^2 = 6,7$, $p = 0,04$).

Під час попарного аналізу встановлено достовірну різницю між АІГ і ПСХ ($p = 0,031$) та тенденцію між АІГ і АСХ ($p = 0,050$), відмінностей між АСХ і ПСХ не виявлено ($p = 0,53$). Балонну / пір'ясту дистрофію гепатоцитів у перипортальній зоні (рис. 3) виявлено у 46,2 % дітей з АІГ, 82,8 % – з АСХ, 57,1 % – з ПСХ ($\chi^2 = 8,3$, $p = 0,02$). Достовірна різниця визначена між АІГ та АСХ ($p = 0,005$), а інші порівняння статистично невірогідні ($p > 0,05$). Портальний і перипортальний набряк частіше визначено при АСХ (69,0 %) і ПСХ (85,7 %), ніж при АІГ (30,8 %) – $\chi^2 = 13,76$, $p = 0,001$). Достовірність підтверджено за результатами попарного аналізу для АІГ проти АСХ ($p = 0,007$) і ПСХ ($p = 0,002$), а між АСХ і ПСХ відмінностей не зафіксовано ($p = 0,29$).

Біліарні розетки частіше виявляли в пацієнтів з АСХ (69,0 %) і ПСХ (71,4 %) порівняно з АІГ (23,1 %; $\chi^2 = 14,2$, $p < 0,001$). Попарний аналіз підтвердив достовірні відмінності між АІГ та АСХ ($p = 0,001$), між АІГ і ПСХ ($p = 0,006$), а між АСХ і ПСХ різниця статистично незначуща ($p = 1,0$). Мукобілія (рис. 4), оцінена за PAS-реакцією, також мала суттєві міжгрупові відмінності ($\chi^2 = 22,6$, $p < 0,001$).

У результаті попарного аналізу достовірну різницю виявлено між АІГ та АСХ ($p < 0,001$), а також між АІГ та ПСХ ($p = 0,014$). Відмінності між АСХ та ПСХ не встановлено ($p = 0,10$). Мукобілію діагностовано у 65,5 % дітей з АСХ, 35,7 % осіб із ПСХ і лише у 3,8 % хворих на АІГ.

Більшість морфологічних ознак біліарного ураження, крім концентричного перидуктального фіброзу типу «onion-skin» і фіброзно-облітеруючого рубця, не є чітко специфічними та можуть бути виявлені при різних АЗП. Для цього здійснили оцінювання сукупності ознак біліарного ураження та холестазу (дуктопенія, дуктулярна реакція, біліарна метаплазія, перидуктальний фіброз, біліарний інтерфейс, біліарні розетки, балонна / пір'яста дистрофія гепатоцитів, портальний і перипортальний набряк). Сума балів за цими критеріями достовірно відрізнялася у групах ($p < 0,001$). Завдяки

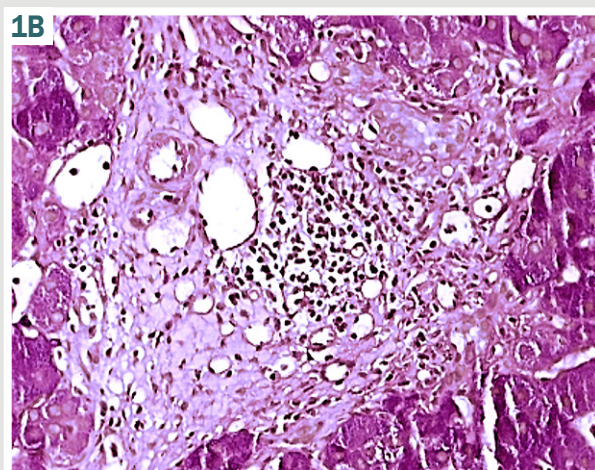
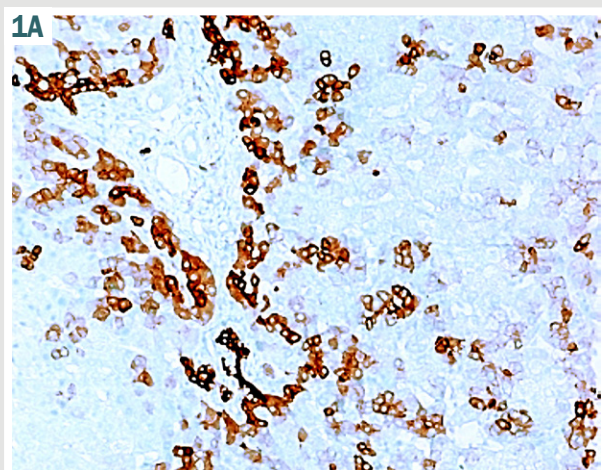


Рис. 1. Дуктопенія у дитини з АСХ з ураженням великих і дрібних жовчних проток. Стадія фіброзу печінки – F2–3 за Metavir. **A:** Виразна дуктулярна реакція навколо портального тракту. Визначено експресію СК7 у гепатоцитах і формування холестатичних гепатоцитарних розеток. Жовчної протоки в портальному тракті немає. Імуногістохімічне забарвлення на СК7, зб. $\times 200$. **B:** Жовчної протоки в портальному тракті немає. Осередкова лімфоцитарна інфільтрація. Гістохімічне забарвлення PAS, зб. $\times 200$.

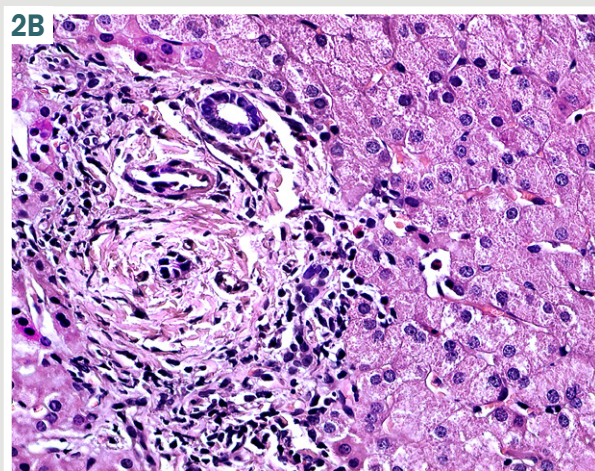
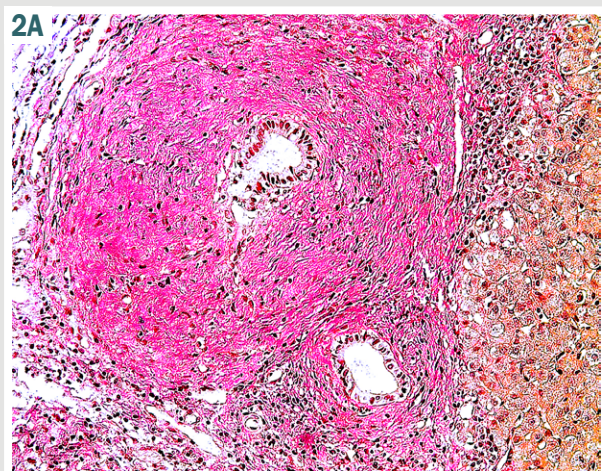


Рис. 2. А: Перидуктальний фіброз жовчної протоки за типом «цибулинної шкірки» (onion-skin) у дитини віком 10 років з АСХ і ураженням малих жовчних проток. Стадія фіброзу F2 за Metavir. Забарвлення пікрофуксином, зб. $\times 200$. **B:** Фіброзно-облітеруючий рубець жовчної протоки у дитини віком 5 років із PCX. Стадія фіброзу F1–2 за Metavir. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. $\times 200$.

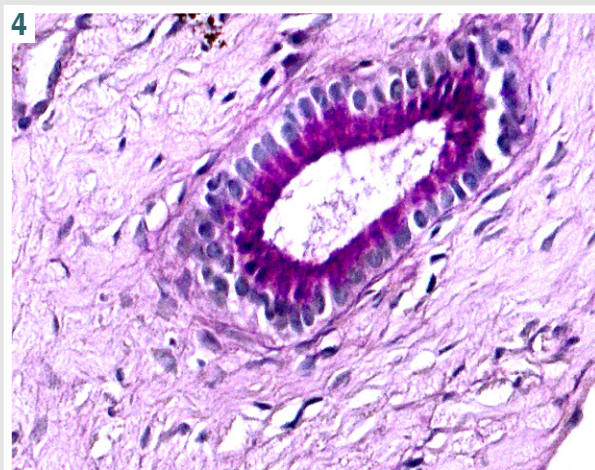
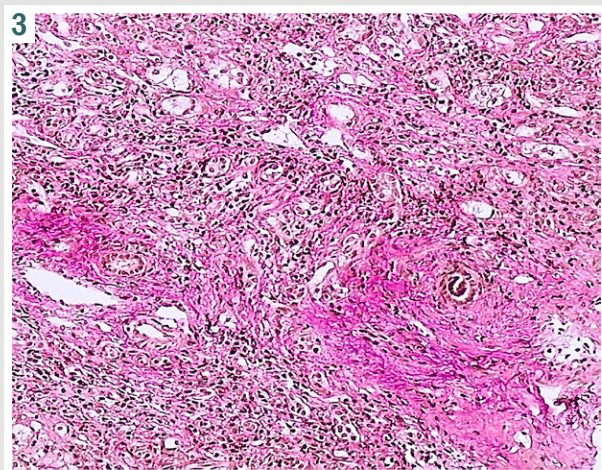


Рис. 3. Біліарний інтерфейс у дитини віком 14 років з АСХ та ураженням малих жовчних проток, стадія фіброзу печінки F4–F4 Metavir. Гепатоцити поблизу портального тракту набряклі, блідо забарвлені, місцями з поодинокими тільцями Mallory. Портальний тракт розширений, зі щільним лімфоплазматичним інфільтратом; визначено виражений інтерфейс-гепатит. Епітелій жовчної протоки ушкоджений: зафіксовано набряк, десквамацію, нерівномірність вистилання. Забарвлення пікрофуксином, зб. $\times 200$.

Рис. 4. Мукобілія у пацієнта віком 17 років з АСХ, стадія фіброзу F3–F4 за Metavir. Забарвлення PAS, зб. $\times 400$.

цьому чітко диференціювали пацієнтів з АІГ ($3,4 \pm 1,4$), АСХ ($6,4 \pm 1,6$) і ПСХ ($6,7 \pm 1,9$). Відмінності між АСХ і ПСХ ($p > 0,99$) не визначено, що підтверджує спільні механізми патогенезу та морфологічні особливості цих захворювань.

Обговорення

Під час дослідження порівняли морфологічні особливості ураження печінки у трьох групах дітей з АЗП: аутоімунним гепатитом, аутоімунним склерозуючим холангітом і первинним склерозуючим холангітом. Згідно з результатами порівняння, ці нозології мають і спільні риси, і специфічні морфологічні відмінності, важливі для диференційної діагностики.

Здебільшого для АІГ у дітей характерна висока активність гепатиту з біліарним компонентом. Це значно ускладнює диференціацію з АСХ, оскільки можна і перебільшити роль біліарного ушкодження і помилково діагностувати АСХ, і недооцінити залучення жовчних проток. У дітей з АСХ також визначено високу активність гепатиту, але, на відміну від АІГ, вона поєднувалася з виразними ознаками біліарного ушкодження, що свідчить про комбіноване ураження гепатоцитів і жовчних проток. Щодо ПСХ зафіксовано відносно нижчу активність гепатиту з домінуванням ознак біліарного ураження.

Для оцінювання ураження жовчних проток використано класифікацію Nakamura, яку традиційно застосовують у дорослих, зокрема при первинному біліарному та первинному склерозуючому холангітах [23,24]. У разі АІГ цю систему не використовують, оскільки увага зазвичай зосереджена на портальному та перипортальному запаленні. Втім, саме вона дала змогу стандартизовано оцінити біліарний компонент при АЗП.

Результати дослідження, що здійснили, підтверджують: активність холангіту є провідною морфологічною ознакою при АСХ і ПСХ. Так, запалення ≥ 2 ступеня виявлено у 72 % дітей з АСХ і 64 % пацієнтів з ПСХ, а при АІГ – лише 11,5 % випадків. Тяжкий (3 ступінь) холангіту переважав саме при АСХ (45 %). Ці дані збігаються з даними A. Di Giorgio et al. [18], які описали мультифокальний холангіт у 89 % дітей з АСХ порівняно з 45 % при АІГ. Подібність частоти виразного холангіту у нашій когорті (72 % з ≥ 2 ступенем) та результатів, що зафіксовані під час дослідження [18], підтверджує, що запальний процес у жовчних протоках є ключовою морфологічною ознакою АСХ у дітей.

Разом із тим, мінімальний холангіт діагностовано у 69 % дітей з АІГ. Це свідчить про обмежене, але все ж залучення жовчних проток. Відомості фахової літератури також підтверджують, що в майже 12 % біопсій при АІГ виявляють фокальну деструкцію холангіол або інфільтрацію епітелію лімфоцитами без втрати проток [32]. Отже, активність холангіту є важливим морфологічним маркером для стратифікації пацієнтів з АЗП, проте вона не завжди чітко корелює з нозологічною належністю. Це обґрунтовує необхідність поєднання морфологічного оцінювання з клінічними, біохімічними та візуалізаційними даними.

Дуктопенія є важливою морфологічною ознакою біліарного ураження [33,34,35]. У нашому досліджен-

ні використано чотирибальну шкалу класифікації Nakamura для оцінювання вираженості дуктопенії [23]. Хоча її традиційно визначають як маркер холангіопатій, у нашій когорті легкий ступінь (0–1 бал) визначено і в дітей з АІГ (81 %). Це може свідчити про мінімальне залучення жовчних проток навіть при переважно паренхіматозному фенотипі захворювання. Помірна дуктопенія (2 бали) значно поширеніша при АСХ (52 %) і ПСХ (36 %), її рідше виявляли при АІГ (11 %). Це підтверджує її діагностичну цінність як індикатора залучення міжчасточкових жовчних проток при холангіопатіях.

Зазначимо, що у трьох дітей з АІГ виявлено дуктопенію 2 ступеня. Це може свідчити про ранні прояви біліарного компонента або потенційні зміни фенотипу з часом. Крім того, у значної частини пацієнтів з АІГ визначено 3–4 стадії фіброзу за класифікацією Nakamura. Це дає підстави припустити, що в таких випадках незначна дуктопенія могла мати вторинний характер, зумовлений компресією або ішемією проток на тлі вираженого фіброзу й перебудови тканини [36]. За даними наукової літератури, втрата жовчних проток не завжди пов'язана з первинними холангіопатіями [37,38,39,40]. Вона може виникати і при ішемічному, токсичному, імунному або інфекційному ушкодженні.

У таких випадках можливий розвиток синдрому зникнення жовчних проток (vanishing bile duct syndrome, VBDS), який іноді виявляють як транзиторну дуктопенію з мінімальним фіброзом і слабо вираженою дуктулярною реакцією. Такі зміни особливо характерні для ранніх стадій ушкодження при вірусних гепатитах, медикаментозному холестазі чи після трансплантації. Отже, інтерпретація дуктопенії у дітей з АЗП потребує комплексного підходу, враховуючи ступінь фіброзу та супутні морфологічні зміни. Це сприяє точнішому визначенню характеру ураження та потенційних прогностичних наслідків.

За результатами нашого дослідження, дуктулярну реакцію (ДР) виявлено в усіх біопсіях незалежно від нозологічної групи. Це підтверджує її високу частоту при різних формах АЗП у дітей. Проте ані середній бал, ані розподіл ступенів вираженості ДР не показали достовірних відмінностей між групами ($N = 1,3$, $p = 0,53$, $\chi^2 = 0,7$). Це свідчить про відсутність специфічного зв'язку між інтенсивністю ДР і типом захворювання. Зауважимо, що ДР виявлено в усіх дітей з АІГ, і ці дані відповідають результатам попередніх досліджень [41]. Разом із тим чимало цих пацієнтів мали тяжку стадію фіброзу, майже 20 % – цироз, що могло вплинути на вираженість ДР. Як відомо, ступінь ДР тісно пов'язаний зі стадією фіброзу та посилюється з прогресуванням захворювання [42,43,44].

Зазначимо, що навіть у групі пацієнтів з ПСХ, де цироз виявляли рідко (7 %), ДР 2–3 ступенів зафіксовано у 64 % випадків. Це може вказувати на те, що активація біліарного регенераторного каскаду відбувається не лише як вторинне явище на фоні фіброзу, але й як самостійна реакція на ушкодження жовчних проток, типова для холангіопатій. Отже, хоча ДР виявляють при всіх типах АЗП, її не можна використовувати як самостійний критерій для диференціації АІГ, АСХ і ПСХ. Водночас її морфологічні особливості в поєднанні з

іншими ознаками: дуктопенією, деструкцією холангіол, перидуктальним фіброзом і маркерами холестази, – що можуть мати додаткове діагностичне значення в комплексному оцінюванні біопсійного матеріалу [45].

Перидуктальний фіброз є характерною ознакою хронічного ушкодження міжчасточкових жовчних проток і традиційно асоціюється з холангіопатіями, як-от АСХ і ПСХ [17,18,19]. У нашому дослідженні його виявили в усіх пацієнтів цих груп, що узгоджується з відомими патогенетичними механізмами цих захворювань. Водночас 61 % дітей з АІГ також мали перидуктальний фіброз, що свідчить про його потенційну неспецифічність і, ймовірно, реактивний характер на фоні хронічного портального запалення або фіброзу. Втім, важливою є не лише власне наявність, але й поширеність у біоптаті. Так, перидуктальний фіброз у ≥ 3 дуктулах типовий для АСХ (62 %) і ПСХ (71 %), а у групі АІГ таку ознаку мали лише 8 % пацієнтів. Ці відмінності статистично достовірні ($p < 0,001$). Спільний біліарний патогенез цих форм підтверджений тим, що не зафіксовано вірогідної різниці між АСХ і ПСХ ($p = 0,73$). Отже, перидуктальний фіброз у ≥ 3 дуктулах можна визначити як додатковий морфологічний маркер холангіопатії. Разом із тим, поодинокі випадки, коли виявляли цю ознаку при АІГ, потребують обережної інтерпретації, що враховує стадію фіброзу, вираженість портального запалення та клінічні дані.

Класичною морфологічною ознакою ПСХ є фіброзно-облітеруючий холангіт, що на ранніх стадіях виявляють як перидуктальний фіброз типу «onion-skin» навколо середніх і великих жовчних проток із наступною деструкцією та атрофією епітелію [10,20,46,47]. У нашій когорті концентричний «onion-skin» фіброз виявлено у 64 % дітей з АСХ та 93 % із ПСХ ($p = 0,23$). Ще одна характерна ознака холангіопатій – формування фіброзно-облітеруючих рубців у зоні ушкоджених дуктул. Ця ознака характеризує повну або майже повну втрату просвіту жовчної дуктули із заміщенням щільною фіброзною тканиною, її виявлено у 67 % пацієнтів з АСХ та 79 % осіб із ПСХ ($p = 0,5$). Подібно до «onion-skin» фіброзу, фіброзно-облітеруючі рубці є важливими маркерами хронічного біліарного ушкодження та мають діагностичне значення для диференціації класичного АІГ і біліарних форм аутоімунного ураження печінки.

Біліарні розетки є морфологічним проявом реакції гепатоцитів на ушкодження жовчних проток, зокрема при їх фіброзі або облітерації [31,32]. Їх формування пов'язане з холестатичним стресом, за якого гепатоцити набувають біліарних рис, групуються навколо дилатованих жовчних каналців, утворюючи псевдотубулярні структури, та експресують біліарні кератини (зокрема СК7). Це свідчить про фенотипічну трансформацію гепатоцитів у напрямі біліарного диференціювання. Такий феномен визначають як адаптивну відповідь на хронічне ураження жовчовидної системи, що супроводжується ремоделюванням паренхіми [31]. Вважають, що біліарні розетки можуть утворюватися у зонах проліферації дрібних жовчних проток, сприяючи підтримці дренажу жовчі. Отже, вони є проявом неспецифічної реакції печінкової тканини

на тривалий холестаз. У пацієнтів, яких залучили до нашого дослідження, біліарні розетки значно частіше виявляли при АСХ (69 %) і ПСХ (71 %) порівняно з АІГ (23 %) – $\chi^2 = 14,2$, $p < 0,001$. Ці дані підтверджують, що їх наявність може бути додатковим морфологічним критерієм біліарного фенотипу захворювання, особливо коли клінічний перебіг сумнівний або немає інформативних показників холангіографії.

Біліарний інтерфейс-гепатит (раніше відомий як біліарний мостоподібний некроз) – важлива морфологічна ознака холестатичних захворювань печінки. Він поєднує холатний стаз, дуктулярну реакцію та фіброз у різних комбінаціях [32]. Активний пошук цього феномена має діагностичне значення, особливо якщо немає холестазу або типових ушкоджень жовчних проток. Термін холатний стаз описує зміни гепатоцитів під дією жовчних кислот: перипортальні клітини збільшуються, набувають округлої форми з прозорою сітчастою цитоплазмою, часто з накопиченням міді. У випадках, що прогресують, виникає пір'яста дегенерація гепатоцитів [32,48]. У нашому дослідженні біліарний інтерфейс виявляли частіше при АСХ (45 %) і ПСХ (57 %) порівняно з АІГ (19 %) ($\chi^2 = 6,7$, $p = 0,04$). Ці дані підтверджують переважне ураження жовчних проток при холангіопатіях. Разом із тим, наявність біліарного інтерфейсу в частини пацієнтів з АІГ свідчить про можливе залучення біліарного компонента та потребує динамічного моніторингу, оскільки у таких дітей з часом може сформуватися біліарний фенотип АЗП. Балонну / пір'ясту дегенерацію гепатоцитів також частіше виявляли в дітей із АСХ (83 %) і ПСХ (57 %) порівняно з АІГ (46 %) – $\chi^2 = 8,3$, $p = 0,02$. Попарний аналіз показав достовірні відмінності між АІГ та АСХ ($p = 0,005$), а порівняння АІГ із ПСХ ($p = 0,7$) та АСХ із ПСХ ($p = 0,13$) статистично значущих відмінностей не виявило. Отже, ураження гепатоцитів за типом балонної / пір'ястої дегенерації є маркером холестатичного та запального впливу при біліарному ушкодженні.

Мукобілія – морфологічний феномен накопичення слизу (муцину) у просвіті міжчасточкових жовчних проток. Хоча він описаний при муцинпродукуючих пухлинах, мукобілію виявляють і при низці непухлинних холангіопатій, зокрема ПСХ, іноді вона виникає як реакція на ендоскопічні чи хірургічні втручання [32]. За результатами нашого дослідження, PAS-позитивну гістохімічну реакцію на апікальній поверхні епітелію дуктул значно частіше визначали в пацієнтів з АСХ (65,5 %) і ПСХ (36,0 %) порівняно з АІГ (4,0 %) ($p < 0,001$). Звернемо увагу на її виявлення в одного пацієнта з АІГ, що могло бути наслідком реактивної зміни, але й не виключає формування біліарного фенотипу. Це зумовлює доцільність уточнення діагнозу під час динамічного спостереження.

Висока частота мукобілії при АСХ та ПСХ свідчить про її зв'язок з імунними холангіопатіями. У контексті хронічного біліарного запалення цей феномен визначають як наслідок ушкодження епітелію, секреторної метаплазії та активації регенераторних процесів [32]. Хоча мукобілія не є специфічною ознакою певної нозології, її виявлення може мати діагностичне значення, особливо коли холангіографічні методи недоступні або неінформативні.

Більшість морфологічних ознак біліарного ураження, крім концентричного перидуктального фіброзу типу «onion-skin» та фіброзно-облітеруючого рубця, не є чітко специфічними, їх виявляють при АІГ, АСХ та ПСХ. Це потребує обережної інтерпретації й комплексного підходу, враховуючи клініко-лабораторні дані та весь спектр гістологічних змін. Такий підхід допомагає уникнути гіпердіагностики біліарного фенотипу та помилкової стратифікації захворювань. Інтегральне оцінювання морфологічних ознак (дуктопенія, дуктулярна реакція, біліарна метаплазія, перидуктальний фіброз, біліарний інтерфейс, біліарні розетки, баллонна / пір'яста дистрофія гепатоцитів, портальний і перипортальний набряк) дало змогу виявити вірогідні відмінності між групами ($p < 0,001$). За сумою балів чітко розрізняли АІГ ($3,4 \pm 1,4$), АСХ ($6,4 \pm 1,6$) та ПСХ ($6,7 \pm 1,9$). Найбільшу складність становить диференціація між АІГ та імунних холангіопатій. У таких діагностично невизначених випадках запропонований підхід має особливу практичну цінність.

Висновки

1. Використання модифікованої класифікації Nakamura у поєднанні з оцінюванням додаткових морфологічних ознак холестазу дає змогу об'єктивно оцінити та стратифікувати біліарне ураження у дітей з аутоімунними захворюваннями печінки.

2. Для біліарного фенотипу аутоімунних захворювань печінки (аутоімунний склерозуючий холангіт і первинний склерозуючий холангіт) характерне частіше виявлення холангіту ≥ 2 ступеня (72 % при АСХ, 64 % при ПСХ), дуктопенії ≥ 2 ступеня (52 % і 36 % відповідно) та перидуктального фіброзу 3 ступеня (62 % і 71 % відповідно) порівняно з аутоімунним гепатитом (11,5 %, 11,5 % і 8,0 % відповідно).

3. Інтегральне оцінювання морфологічних ознак біліарного ураження, що включає дуктопенію, дуктулярну реакцію, перидуктальний фіброз, а також додаткові критерії холестазу (біліарні розетки, біліарна метаплазія гепатоцитів, біліарний інтерфейс, мукобілія, портальний і перипортальний набряк), дають змогу стратифікувати пацієнтів за фенотипом захворювання. Сума балів ≤ 4 характеризує паренхіматозний фенотип (аутоімунний гепатит), а ≥ 6 – біліарний фенотип (аутоімунний склерозуючий холангіт або первинний склерозуючий холангіт). Особливого значення ці дані набувають, коли немає типових для ПСХ ознак.

Перспективи подальших досліджень сприяють детальнішому розумінню морфологічних маркерів біліарного ураження та їхнього зв'язку з клінічним перебігом АЗП у дітей. Ці дані дадуть змогу оптимізувати діагностичні підходи, сприятимуть ранньому виявленню біліарного фенотипу та формуванню індивідуалізованих стратегій лікування. У наступних публікаціях буде представлено аналіз додаткових морфологічних та імуногістохімічних маркерів ураження жовчних проток. На нашу думку, це дасть змогу поліпшити розуміння патогенезу захворювання та покращити ефективність діагностики у складних клінічних випадках.

Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

Конфлікт інтересів:

відсутній. Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 02.05.2025

Після доопрацювання / Revised: 09.07.2025

Схвалено до друку / Accepted: 14.07.2025

Відомості про авторів:

Дйба М. Б., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення дитячої гепатології та коморбідних захворювань у дітей, ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-9463-7867

Задорожна Т. Д., д-р мед. наук, професор, зав. лабораторії патоморфології, ДУ «Всеукраїнський центр материнства та дитинства НАМН України», м. Київ; чл.-кор. НАМН України.

ORCID ID: 0000-0003-2787-603X

Березенко В. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; зав. відділення дитячої гепатології та коморбідної патології у дітей, ДУ «Український центр материнства і дитинства НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-3777-5251

Information about the authors:

Dyba M. B., MD, PhD, Senior Researcher, Department of Pediatric Hepatology and Comorbidities in Children, State institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Zadorozhna T. D., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Pathomorphology, State institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv; Corresponding Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

Berezenko V. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Pediatrics, Bogomolets National Medical University, Kyiv; Head of Department of Pediatric Hepatology and Comorbidities in Children, State institution "Ukrainian Center of Maternity and Childhood of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.



Марина Дйба (Maryna Dyba)
marina_dyba@ukr.net

References

- Mieli-Vergani G, Vergani D, Baumann U, Czubkowski P, Debray D, Dezsofi A, et al. Diagnosis and Management of Pediatric Autoimmune Liver Disease: ESPGHAN Hepatology Committee Position Statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018;66(2):345-60. doi: [10.1097/MPG.0000000000001801](https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001801)
- Gregorio GV, Portmann B, Karani J, Harrison P, Donaldson PT, Vergani D, et al. Autoimmune hepatitis/sclerosing cholangitis overlap syndrome in childhood: a 16-year prospective study. *Hepatology.* 2001;33(3):544-53. doi: [10.1053/jhep.2001.22131](https://doi.org/10.1053/jhep.2001.22131)
- Ramonet M, Ramirez-Rodriguez N, Álvarez Chávez F, Arregui MC, Boldrini G, Botero Osorio V, et al. Autoimmune hepatitis in pediatrics, a review by the Working Group of the Latin American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *Arch Argent Pediatr.* 2022;120(4):281-7. English, Spanish. doi: [10.5546/aap.2022.eng.281](https://doi.org/10.5546/aap.2022.eng.281)
- Anderson CM, Welle CL, Ludwig DR, Anderson MA, Khot R, Itani M, et al. Autoimmune Disorders of the Liver and Biliary Tract. *Radiographics.* 2025;45(4):e240126. doi: [10.1148/rg.240126](https://doi.org/10.1148/rg.240126). Erratum in: *Radiographics.* 2025;45(4):e259005. doi: [10.1148/rg.259005](https://doi.org/10.1148/rg.259005)
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on the management of autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 2025;83(2):453-501. doi: [10.1016/j.jhep.2025.03.017](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2025.03.017)
- Kemme S, Mack CL. Pediatric Autoimmune Liver Diseases: Autoimmune Hepatitis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Pediatr Clin North Am.* 2021;68(6):1293-307. doi: [10.1016/j.pcl.2021.07.006](https://doi.org/10.1016/j.pcl.2021.07.006)

7. Ricciuto A, Kamath BM, Hirschfield GM, Trivedi PJ. Primary sclerosing cholangitis and overlap features of autoimmune hepatitis: A coming of age or an age-ist problem? *J Hepatol.* 2023;79(2):567-75. doi: [10.1016/j.jhep.2023.02.030](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.02.030)
8. Mack CL, Adams D, Assis DN, Kerker N, Manns MP, Mayo MJ, et al. Diagnosis and Management of Autoimmune Hepatitis in Adults and Children: 2019 Practice Guidance and Guidelines From the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2020;72(2):671-722. doi: [10.1002/hep.31065](https://doi.org/10.1002/hep.31065)
9. Nastasio S, Mosca A, Alterio T, Sciveres M, Maggiore G. Juvenile Autoimmune Hepatitis: Recent Advances in Diagnosis, Management and Long-Term Outcome. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(17):2753. doi: [10.3390/diagnostics13172753](https://doi.org/10.3390/diagnostics13172753)
10. Nguyen CM, Kline KT, Stevenson HL, Khan K, Parupudi S. Small duct primary sclerosing cholangitis: A discrete variant or a bridge to large duct disease, a practical review. *World J Hepatol.* 2022;14(3):495-503. doi: [10.4254/wjvh.v14.i3.495](https://doi.org/10.4254/wjvh.v14.i3.495)
11. Kozaka K, Sheedy SP, Eaton JE, Venkatesh SK, Heiken JP. Magnetic resonance imaging features of small-duct primary sclerosing cholangitis. *Abdom Radiol (NY).* 2020;45(8):2388-99. doi: [10.1007/s00261-020-02572-w](https://doi.org/10.1007/s00261-020-02572-w)
12. Ringe KI, Bergquist A, Lenzen H, Kartalis N, Manns MP, Wacker F, et al. Clinical features and MRI progression of small duct primary sclerosing cholangitis (PSC). *Eur J Radiol.* 2020;129:109101. doi: [10.1016/j.ejrad.2020.109101](https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2020.109101)
13. Bowlus CL, Arrivé L, Bergquist A, Deneau M, Forman L, Ilyas SI, et al. AASLD practice guidance on primary sclerosing cholangitis and cholangiocarcinoma. *Hepatology.* 2023;77(2):659-702. doi: [10.1002/hep.32771](https://doi.org/10.1002/hep.32771)
14. Balitzer D, Shafizadeh N, Peters MG, Ferrell LD, Alshak N, Kakar S. Autoimmune hepatitis: review of histologic features included in the simplified criteria proposed by the international autoimmune hepatitis group and proposal for new histologic criteria. *Mod Pathol.* 2017;30(5):773-83. doi: [10.1038/modpathol.2016.267](https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.267)
15. Beer A, Dienes HP. Autoimmune hepatitis-is histology conclusive? *Ann Transl Med.* 2021;9(8):733. doi: [10.21037/atm-20-5084](https://doi.org/10.21037/atm-20-5084)
16. Sakulsaengprapha V, Wasuwanich P, Naraparaju G, Korotkaya Y, Thawillarp S, Oshima K, et al. Applicability of International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) Scoring System for Autoimmune Hepatitis in Pediatrics. *Biology (Basel).* 2023;12(3):479. doi: [10.3390/biology12030479](https://doi.org/10.3390/biology12030479). Erratum in: *Biology (Basel).* 2023;12(5):727. doi: [10.3390/biology12050727](https://doi.org/10.3390/biology12050727)
17. Stevens JP, Gupta NA. Recent Insights into Pediatric Primary Sclerosing Cholangitis. *Clin Liver Dis.* 2022 Aug;26(3):489-519. doi: [10.1016/j.cld.2022.03.009](https://doi.org/10.1016/j.cld.2022.03.009)
18. Di Giorgio A, D'Adda A, Marseglia A, Sonzogni A, Licini L, Nicastro E, et al. Biliary features in liver histology of children with autoimmune liver disease. *Hepatol Int.* 2019;13(4):510-8. doi: [10.1007/s12072-019-09948-1](https://doi.org/10.1007/s12072-019-09948-1)
19. Warner S, Rajanayagam J, Russell E, Lloyd C, Ferguson J, Kelly DA, et al. Biliary disease progression in childhood onset autoimmune liver disease: A 30-year follow-up into adulthood. *JHEP Rep.* 2023;6(2):100901. doi: [10.1016/j.jhepr.2023.100901](https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2023.100901)
20. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on sclerosing cholangitis. *J Hepatol.* 2022;77(3):761-806. doi: [10.1016/j.jhep.2022.05.011](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.05.011). Erratum in: *J Hepatol.* 2023;79(5):1339. doi: [10.1016/j.jhep.2023.09.005](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.09.005)
21. Cazzagon N, Sarcognato S, Catanzaro E, Bonaiuto E, Peviani M, Pezzato F, et al. Primary Sclerosing Cholangitis: Diagnostic Criteria. *Tomography.* 2024;10(1):47-65. doi: [10.3390/tomography10010005](https://doi.org/10.3390/tomography10010005)
22. Czaja AJ, Muratori P, Muratori L, Carpenter HA, Bianchi FB. Diagnostic and therapeutic implications of bile duct injury in autoimmune hepatitis. *Liver Int.* 2004;24(4):322-9. doi: [10.1111/j.1478-3231.2004.0924.x](https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2004.0924.x)
23. Di Giorgio A, Vergani D, Mieli-Vergani G. Cutting edge issues in juvenile sclerosing cholangitis. *Dig Liver Dis.* 2022;54(4):417-27. doi: [10.1016/j.dld.2021.06.028](https://doi.org/10.1016/j.dld.2021.06.028)
24. Nakanuma Y, Zen Y, Harada K, Sasaki M, Nonomura A, Uehara T, et al. Application of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis to liver biopsy specimens: Interobserver agreement. *Pathol Int.* 2010;60(3):167-74. doi: [10.1111/j.1440-1827.2009.02500.x](https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2009.02500.x)
25. Harada K, Hsu M, Ikeda H, Zeniya M, Nakanuma Y. Application and validation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis. *J Clin Gastroenterol.* 2013;47(2):174-81. doi: [10.1097/MCG.0b013e31827234e4](https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31827234e4)
26. de Vries EM, Verheij J, Hübscher SG, Leeflang MM, Boonstra K, Beuers U, et al. Applicability and prognostic value of histologic scoring systems in primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol.* 2015;63(5):1212-9. doi: [10.1016/j.jhep.2015.06.008](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.008)
27. Yamashiki N, Haga H, Ueda Y, Ito T, Yagi S, Kamo N, et al. Use of Nakanuma staging and cytokeratin 7 staining for diagnosing recurrent primary biliary cholangitis after living-donor liver transplantation. *Hepatol Res.* 2020;50(4):478-87. doi: [10.1111/hepr.13476](https://doi.org/10.1111/hepr.13476)
28. Bateman AC, Hübscher SG. Cytokeratin expression as an aid to diagnosis in medical liver biopsies. *Histopathology.* 2010;56(4):415-25. doi: [10.1111/j.1365-2559.2009.03391.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2009.03391.x)
29. Sakellariou S, Michaelides C, Voulgaris T, Vlachogiannakos J, Manesis E, Tiniakos DG, et al. Keratin 7 expression in hepatic cholestatic diseases. *Virchows Arch.* 2021;479(4):815-24. doi: [10.1007/s00428-021-03152-z](https://doi.org/10.1007/s00428-021-03152-z). Erratum in: *Virchows Arch.* 2021;479(4):825-6. doi: [10.1007/s00428-021-03181-8](https://doi.org/10.1007/s00428-021-03181-8)
30. Nakanuma Y, Tsuneyama K, Harada K. Pathology and pathogenesis of intrahepatic bile duct loss. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2001;8(4):303-15. doi: [10.1007/s005340170002](https://doi.org/10.1007/s005340170002)
31. Nagore N, Howe S, Boxer L, Scheuer PJ. Liver cell rosettes: structural differences in cholestasis and hepatitis. *Liver.* 1989;9(1):43-51. doi: [10.1111/j.1600-0676.1989.tb00377.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1989.tb00377.x)
32. Burt AD, Ferrell LD, Hübscher SG. MacSween's pathology of the liver. 8th ed. London, England: Elsevier Health Sciences; 2023.
33. Czaja AJ, Carpenter HA. Autoimmune hepatitis with incidental histologic features of bile duct injury. *Hepatology.* 2001;34(4 Pt 1):659-65. doi: [10.1053/jhep.2001.27562](https://doi.org/10.1053/jhep.2001.27562)
34. Khot R, Shelman NR, Ludwig DR, Nair RT, Anderson MA, Venkatesh SK, et al. Acquired ductopenia: an insight into imaging findings. *Abdom Radiol (NY).* 2025;50(1):152-68. doi: [10.1007/s00261-024-04462-x](https://doi.org/10.1007/s00261-024-04462-x)
35. Bessone F, Hernández N, Tanno M, Roma MG. Drug-Induced Vanishing Bile Duct Syndrome: From Pathogenesis to Diagnosis and Therapeutics. *Semin Liver Dis.* 2021;41(3):331-48. doi: [10.1055/s-0041-1729972](https://doi.org/10.1055/s-0041-1729972). Erratum in: *Semin Liver Dis.* 2021;41(3):e1. doi: [10.1055/s-0041-1732497](https://doi.org/10.1055/s-0041-1732497)
36. Hercun J, Noureddin M, Noureddin N, Eccleston J, Woolridge D, Liang TJ, et al. Longitudinal Assessment of Bile Duct Loss in Primary Biliary Cholangitis. *Am J Gastroenterol.* 2022;117(12):2075-8. doi: [10.14309/ajg.0000000000001985](https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001985)
37. Nakanuma Y, Tsuneyama K, Sasaki M, Harada K. Destruction of bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2000;14(4):549-70. doi: [10.1053/bega.2000.0103](https://doi.org/10.1053/bega.2000.0103)
38. Wasuwanich P, Choudry H, So JM, Lowry S, Karnsakul W. Vanishing bile duct syndrome after drug-induced liver injury. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2022;46(9):102015. doi: [10.1016/j.clinre.2022.102015](https://doi.org/10.1016/j.clinre.2022.102015)
39. Wang NL, Chen L, Lin J, Lu Y, Fang WY, Xie XB, et al. Non-invasive biomarkers for identification of vanishing bile duct syndrome among children with acute cholestatic hepatitis. *Transl Pediatr.* 2023;12(10):1782-90. doi: [10.21037/tp-23-305](https://doi.org/10.21037/tp-23-305)
40. Sabu S, Chakraborty G, Shahid F. Vanishing Bile Duct Syndrome: A Differential Diagnosis for Painless Jaundice. *Cureus.* 2024;16(9):e68724. doi: [10.7759/cureus.68724](https://doi.org/10.7759/cureus.68724)
41. Russe-Russe JR, Liu L, Thuluvath PJ. COVID-related Vanishing Bile Duct Syndrome (VBDS). *J Clin Exp Hepatol.* 2024;14(2):101302. doi: [10.1016/j.jceh.2023.11.002](https://doi.org/10.1016/j.jceh.2023.11.002)
42. Sato K, Marziani M, Meng F, Francis H, Glaser S, Alpini G. Ductular Reaction in Liver Diseases: Pathological Mechanisms and Translational Significances. *Hepatology.* 2019;69(1):420-30. doi: [10.1002/hep.30150](https://doi.org/10.1002/hep.30150). Erratum in: *Hepatology.* 2019;70(3):1089. doi: [10.1002/hep.30878](https://doi.org/10.1002/hep.30878)
43. Ariño S, Aguilar-Bravo B, Coll M, Lee WY, Peiseler M, Cantallops-Vilà P, et al. Ductular reaction-associated neutrophils promote biliary epithelium proliferation in chronic liver disease. *J Hepatol.* 2023;79(4):1025-36. doi: [10.1016/j.jhep.2023.05.045](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.05.045)
44. Sorrentino G. Microenvironmental control of the ductular reaction: balancing repair and disease progression. *Cell Death Dis.* 2025;16(1):246. doi: [10.1038/s41419-025-07590-4](https://doi.org/10.1038/s41419-025-07590-4)
45. Mavila N, Siraganahalli Eshwaraiah M, Kennedy J. Ductular Reactions in Liver Injury, Regeneration, and Disease Progression-An Overview. *Cells.* 2024;13(7):579. doi: [10.3390/cells13070579](https://doi.org/10.3390/cells13070579)
46. Sticova E, Fabian O. Morphological aspects of small-duct cholangiopathies: A minireview. *World J Hepatol.* 2023;15(4):538-53. doi: [10.4254/wjvh.v15.i4.538](https://doi.org/10.4254/wjvh.v15.i4.538)
47. Lawson KL, Wang HL. Primary Sclerosing Cholangitis, Small Duct Primary Sclerosing Cholangitis, IgG4-Related Sclerosing Cholangitis, and Ischemic Cholangiopathy: Diagnostic Challenges on Biopsy. *Surg Pathol Clin.* 2023;16(3):533-48. doi: [10.1016/j.path.2023.04.008](https://doi.org/10.1016/j.path.2023.04.008)
48. Pollheimer MJ, Fickert P, Steiger B. Chronic cholestatic liver diseases: clues from histopathology for pathogenesis. *Mol Aspects Med.* 2014;37:35-56. doi: [10.1016/j.mam.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.mam.2013.10.001)

Dynamics of TGF-1 β and MMP-9 content in the serum of patients with chronic hepatitis C infected with HCV GT1 on the background of antiviral treatment depending on the severity of liver fibrosis

O. V. Riabokon^{A,F}, H. V. Venytska^{B,C,D}, Yu. Yu. Riabokon^{C,E}

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

The aim: to analyse the dynamics of TGF-1 β and MMP-9 in the blood serum of patients with chronic hepatitis C (HCV) infected with HCV GT1 on the background of antiviral treatment depending on the severity of liver fibrosis.

Materials and methods. The study included 92 patients with GT1 HCV infection treated with antiviral therapy (AVT) – OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV. The severity of liver fibrosis was determined by elastometry. The content of TGF-1 β (Elabscience, USA) and MMP-9 (Elabscience, USA) in the blood serum was determined by ELISA.

Results. In patients with CHC GT1 before the start of AVT, profibrogenic potential prevailed: increased TGF-1 β ($p < 0.05$), decreased MMP-9 ($p < 0.05$) and a higher TGF-1 β / MMP-9 ratio ($p < 0.05$). AVT (OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV) slows down fibrogenesis and activates antifibrotic processes, which is confirmed by an increase in MMP-9 ($p < 0.05$) and a decrease in TGF-1 β / MMP-9 ($p < 0.05$) compared to the pre-treatment values. Prior to AVT, patients with GT1 HCV with liver fibrosis F 0–2 had lower MMP-9 levels ($p < 0.05$) than healthy subjects, with no changes in TGF-1 β and TGF-1 β / MMP-9 ratio ($p > 0.05$). In patients with F 3–4 liver fibrosis, serum TGF-1 β and the TGF-1 β / MMP-9 ratio were higher, and MMP-9 was lower, both compared with healthy subjects ($p < 0.05$) and compared with patients with F 0–2 ($p < 0.05$). In patients with F 0–2, at the time of completion of AVT, the studied parameters do not differ from healthy individuals ($p > 0.05$). In patients with F 3–4 at the time of completion of AVT, the TGF-1 β / MMP-9 ratio remains higher both in comparison with healthy individuals ($p < 0.05$) and in comparison with patients with CHC GT1 with liver fibrosis F 0–2 ($p < 0.05$).

Conclusions. We demonstrated more significant dynamics of antifibrotic changes during direct-acting antiviral agents based AVT in patients with GT1 CHC in the presence of F 0–2 liver fibrosis compared to patients with F 3–4.

Keywords:

chronic hepatitis C, viral infection, diagnosis, liver fibrosis, cytokines, antiviral therapy, treatment.

Pathologia.

2025;22(2):111-118

Динаміка вмісту TGF-1 β і MMP-9 у сироватці крові пацієнтів із хронічним гепатитом С, інфікованих HCV GT1, на фоні протівірусного лікування залежно від ступеня вираженості фіброзу печінки

О. В. Рябоконт, Г. В. Веницька, Ю. Ю. Рябоконт

Мета роботи – проаналізувати динаміку вмісту TGF-1 β і MMP-9 у сироватці крові пацієнтів із хронічним гепатитом С (ХГС), інфікованих HCV GT1, на фоні протівірусного лікування залежно від ступеня вираженості фіброзу печінки.

Матеріали і методи. Обстежили 92 хворих на ХГС GT1, які отримували протівірусну терапію (ПВТ) – OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV). Ступінь вираженості фіброзу печінки визначено методом еластометрії. Методом ІФА визначено вміст TGF-1 β (Elabscience, США) та MMP-9 (Elabscience, США) у сироватці крові.

Результати. У хворих на ХГС GT1 до початку ПВТ визначено превалювання профіброгенного потенціалу: підвищення TGF-1 β ($p < 0,05$), зниження MMP-9 ($p < 0,05$) і вищий коефіцієнт TGF-1 β / MMP-9 ($p < 0,05$). ПВТ (OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV) сприяє уповільненню процесів фіброгенезу й активації антифібротичних процесів, що підтверджує підвищення вмісту MMP-9 ($p < 0,05$) та зниження TGF-1 β / MMP-9 ($p < 0,05$) порівняно з показниками до початку лікування. До початку ПВТ у хворих на ХГС GT1 із фіброзом печінки F 0–2 вміст MMP-9 нижчий ($p < 0,05$), ніж у здорових осіб, без змін вмісту TGF-1 β і коефіцієнта TGF-1 β / MMP-9 ($p > 0,05$). У хворих із фіброзом печінки F 3–4 вміст TGF-1 β у сироватці крові та коефіцієнт TGF-1 β / MMP-9 вищий, а вміст MMP-9 нижчий порівняно і зі здоровими ($p < 0,05$), і з хворими з F 0–2 ($p < 0,05$). У хворих із F 0–2 на час завершення ПВТ досліджені показники не відрізнялися від даних здорових осіб ($p > 0,05$). У хворих із F 3–4 на час завершення ПВТ коефіцієнт TGF-1 β / MMP-9 залишається вищим порівняно і зі здоровими ($p < 0,05$), і з хворими на ХГС GT1 з фіброзом печінки F 0–2 ($p < 0,05$).

Висновки. Виявлено більш виражену динаміку антифібротичних змін внаслідок застосування ПВТ, що включала протівірусні препарати прямої дії, у хворих на ХГС GT1, які мали фіброз печінки F 0–2, порівняно з пацієнтами з F 3–4.

Ключові слова:

хронічний гепатит С, вірусна інфекція, діагностика, фіброз печінки, цитокіни, протівірусна терапія, лікування.

Патологія. 2025.

Т. 22, № 2(64).
С. 111-118

Chronic hepatitis C (CHC) remains a significant healthcare burden in many countries around the world [1]. Prolonged exposure to hepatitis C virus (HCV) provokes the development and progression of liver fibrosis, which leads to the formation of liver cirrhosis and/or hepatocellular carcinoma, which are the main causes of death in these patients [2,3,4]. The highest priority for the treatment of patients with HCV is etiotropic treatment with direct-acting antiviral agents (DAAs), which allows achieving a sustained virological response (SVR) in the majority of treated patients [3]. The possibility of HCV eradication reduces the likelihood of developing severe disease complications [3,5,6].

Currently, there are many antiviral therapy (AVT) regimens using DAAs that have proven to be highly effective in eradicating HCV [3,4,6,7,8]. While the high efficacy of DAAs in eradicating HCV has been proven [3,4,5,6,9], the question of whether fibrotic changes in the liver can regress after DAAs remains open. It is known that AVT with interferon-containing regimens had, in addition to antiviral effect, a certain impact on the regression of liver fibrosis due to immunomodulatory effect [10,11].

For example, study [10] compared histological changes in the liver before and after combined treatment with peg-interferon and ribavirin in patients with CHC. It has been shown that patients with liver fibrosis severity F ≥ 2 who achieved SVR had a reduced risk of progression of fibrotic changes in the liver, but did not experience a complete regression of existing changes in liver structure [10]. It is assumed that since the formation of liver fibrosis involves both extracellular matrix deposition and its degradation, it may be subject to some regression [11,12]. However, the issue of the antifibrotic effect of AVT is quite controversial and there are currently no convincing data on the regression of liver fibrosis after AVT with DAAs. In the current literature, there are few reports on the assessment of liver fibrosis regression both in experimental models and among patients with liver disease [11,13,14]. At the same time, the accumulation of clinical data on this issue is still ongoing.

It is known that fibrosis is a dynamic process, which, on the one hand, is regulated by the effects of profibrogenic and proinflammatory cytokines, the main of which is transforming growth factor 1 β (TGF-1 β) [11,12,15,16], and on the other hand, by the effects of antifibrotic cytokines, due to various subpopulations of macrophages that induce the expression of matrix metalloproteinases (MMPs), which ensures the breakdown of the formed collagen [16]. Pro-fibrogenic mediators are produced in response to prolonged damage to epithelial and endothelial cells, inflammatory reactions, and signs of oxidative stress [15].

In the case of prolonged inflammatory factors, as is the case in patients with CHC, activated myofibroblasts deposit an abnormally high amount of proteins in the extracellular space, which leads to fibrotic changes in the liver [15,16,17]. TGF-1 β is a regulator of cell differentiation, migration, and proliferation, i. e., it is involved in both the reparative response and fibrosis formation [18]. Overexpression of this cytokine contributes to the formation of fibrotic changes, and prolonged induction of TGF-1 β is usually associated with the severity of fibrotic changes, which may predict the degree of fibrosis pro-

gression [17,18,19]. At the same time, TGF-1 β is released not only through the synthesis of new molecules, but also by activating existing latent forms of the cytokine [18].

Therefore, understanding the balance between the leading mediators of profibrogenic and antifibrotic mechanisms is especially important for assessing the intensity of fibrosis, which is of significant prognostic importance for assessing not only the natural course of CHC, but also for assessing the possible regression of fibrotic changes in the liver after virus eradication.

Aim

To analyse the dynamics of TGF-1 β and MMP-9 in the blood serum of patients with chronic hepatitis C infected with HCV GT1 on the background of antiviral treatment depending on the severity of liver fibrosis.

Materials and methods

The study included 92 patients with CHC infected with HCV GT1, all of whom had subtype b. Gender composition: men – 40, women – 52. The patients' age ranged from 27 to 72 years, with a median age of 54.5 [44.5; 61.5] years.

Patients were examined at the Municipal Non-Profit Enterprise "Regional Infectious Disease Clinical Hospital" of the Zaporizhzhia Regional Council. All patients received DAAs under the State Programme in accordance with the Unified Clinical Protocol for Primary, Secondary (Specialised) and Tertiary (Highly Specialised) Medical Care "Viral Hepatitis C in Adults" (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 729 of 18.07.2016). The diagnosis of hepatitis C was etiologically confirmed by the detection of anti-HCV in the blood by enzyme-linked immunosorbent assay and RNA-HCV with virus genotyping by polymerase chain reaction. Patients enrolled in the study received a 12-week 3D regimen (OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV) consisting of ombitasvir (OBV), an NS5A protein inhibitor; paritaprevir (PTV), an NS3/4A protease inhibitor; ritonavir (r), which enhances the effects of ATV and dasabuvir (DSV), which is a non-nucleoside inhibitor of HCV RNA-dependent RNA polymerase; and in the presence of severe liver fibrosis, ribavirin (RBV) was added to the regimen [4,6]. According to the Protocol, the response to AVT was assessed by biochemical (ALT activity) and virological (detection of RNA-HCV in the blood) parameters at the time of AVT completion and 12 weeks after AVT.

The severity of liver fibrosis was determined in all patients with CHC GT1 by shear wave elastometry. Depending on the severity of liver fibrosis, patients were divided into groups: 48 patients with liver fibrosis F 0–2 and 44 patients with F 3–4. All patients were examined in the dynamics before the start of AVT, after completion of AVT and 12 weeks after completion of AVT to assess SVR.

On the basis of the Training Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University the content of transforming growth factor 1 β (TGF-1 β) (Elabscience, USA) and metalloproteinase 9 (MMP-9) (Elabscience, USA) in the serum of patients with GT1 CHC and 20 healthy control subjects was studied by enzyme-linked immunosorbent assay. The

Table 1. Dynamics of TGF-1 β and MMP-9 content in blood serum and TGF-1 β / MMP-9 ratio in patients with CHC GT1 in the dynamics of AVT, Me [Q25; Q75]

Indicator, units of measurement	Healthy people, n = 30	Patients with CHC, n = 92	
		before AVT	at the time of AVT completing
TGF-1 β , pg/ml	6.20 [4.90; 7.00]	12.30 [7.03; 15.16] ¹	8.16 [5.16; 12.81] ¹
MMP-9, pg/ml	1269.43 [1088.70; 1331.50]	923.69 [627.13; 1117.96] ¹	1259.9 [909.72; 1520.90] ²
TGF-1 β / MMP-9	0.005 [0.004; 0.006]	0.013 [0.006; 0.023] ¹	0.008 [0.005; 0.013] ^{1,2}

1: difference is significant compared to healthy subjects ($p < 0.05$); 2: compared to the pre-AVT levels ($p < 0.05$).

TGF-1 β / MMP-9 ratio was calculated for each patient with GT1 CHC and healthy subjects.

Statistical processing was performed using Statistica 13 (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J). The results of quantitative parameters are presented as median and interquartile ranges Me [Q25; Q75]. To assess the reliability of differences in quantitative indicators, the Mann-Whitney test was used between independent samples and the Wilcoxon test between dependent samples. The χ^2 test was used to assess differences between qualitative parameters. Correlation analysis (Spearman, gamma) was conducted. Differences at $p < 0.05$ were considered significant.

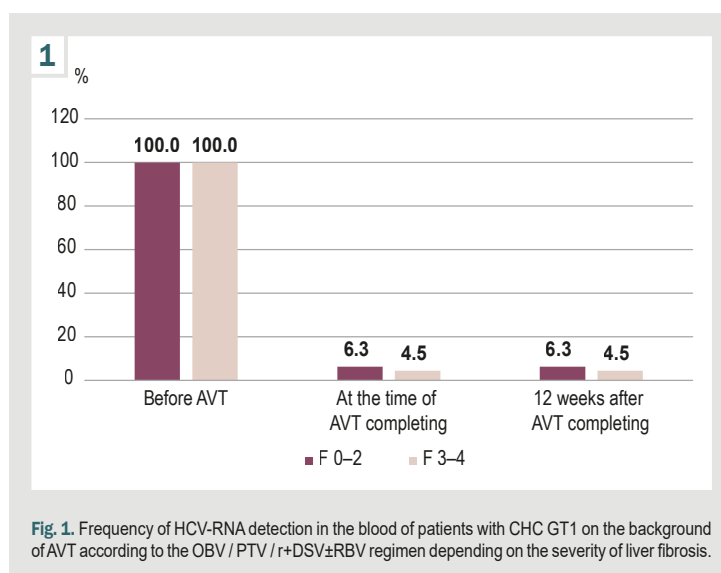
Results

According to the results of our study, it was found that in patients with CHC GT1 before the start of AVT with the OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV regimen, the median content of the profibrogenic cytokine TGF-1 β in the patients' serum was higher (2-fold, $p < 0.05$), and the content of the fibrinolytic cytokine MMP-9 in the serum was lower (1.4-fold, $p < 0.05$) compared with healthy subjects.

Before the start of the AVT, the median TGF-1 β / MMP-9 ratio, which reflects the processes of fibrogenesis / fibrinolysis, was statistically significantly higher (2.6 times, $p < 0.05$) than in healthy subjects, which confirmed the prevalence of profibrogenic potential. Assessment of the serum levels of these cytokines at the end of AVT showed that TGF-1 β had only a downward trend ($p > 0.05$), and MMP-9 levels statistically significantly increased ($p < 0.05$) compared with the corresponding values before the start of therapy. It should be noted that at this stage of observation, a decrease in the median TGF-1 β /MMP-9 ratio (1.6 times, $p < 0.05$) was recorded compared with the corresponding value before treatment, but it remained higher ($p < 0.05$) than in healthy subjects.

The positive dynamics in the recovery of indicators reflecting the processes of fibrogenesis / fibrinolysis suggests a slowdown in fibrogenesis and activation of antifibrotic processes (Table 1).

When evaluating the efficacy of AVT in patients with GT1 CHC infection using the OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV regimen, it was found that the frequency of achieving SVR12 did not depend ($p > 0.05$) on the severity of liver fibrosis and was high in both study groups. SVR12 was achieved in 45 (93.8 %) patients with liver fibrosis F 0–2 and in 42 (95.5 %) patients with liver fibrosis F 3–4. Accordingly, the absence of virological response to treatment was recorded in 3 (6.3 %) patients with F 0–2 liver fibrosis and 2 (5.4 %) patients with severe F 3–4 liver fibrosis, as



evidenced by the detection of HCV-RNA in the blood after completion of the AVT (Fig. 1).

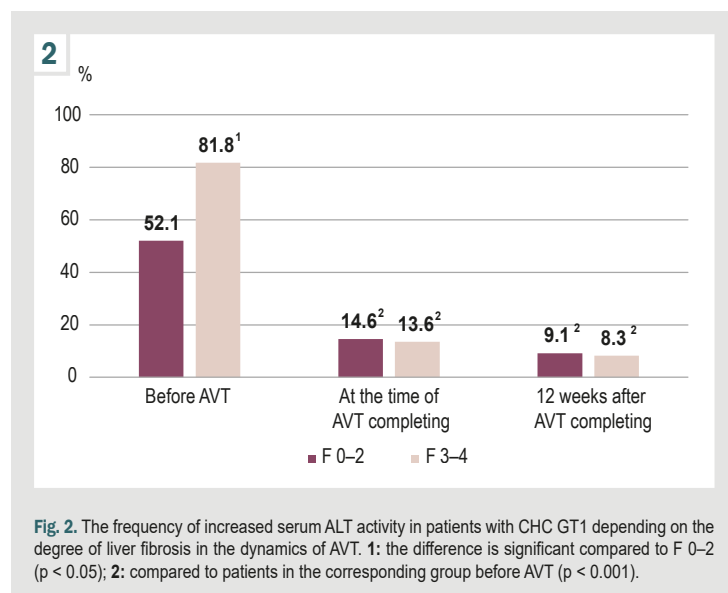
Evaluation of the biochemical response by alanine aminotransferase (ALT) activity in the blood serum in patients with GT1 HCV during AVT with the OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV regimen showed that before the start of AVT, most patients had cytolytic syndrome, but the frequency of detection of elevated serum ALT levels was higher in the group of patients with liver fibrosis F 3–4 compared with patients with F 0–2: 36 (81.8 %) vs. 25 (52.1 %) patients ($\chi^2 = 9.08$, $p < 0.01$). In the dynamics after AVT in patients with CHC GT1, a significant decrease in the proportion of patients with elevated serum ALT activity was noted in both study groups compared with the baseline.

Thus, among patients with F 0–2 liver fibrosis at the time of AVT completion, the number of patients with elevated ALT decreased from 25 (52.1 %) to 7 (14.6 %) patients ($\chi^2 = 15.9$, $p < 0.0001$) at the time of completion of AVT therapy and to 4 (9.1 %) at the time of SVR12 assessment ($\chi^2 = 21.79$, $p < 0.0001$) compared with the pre-AVT. And in the group of patients with F 3–4 liver fibrosis, the number of patients with elevated ALT decreased from 36 (81.8 %) to 6 (13.6 %) patients ($\chi^2 = 40.99$, $p < 0.0001$) at the time of AVT completion and to 4 (8.3 %) at the time of SVR12 assessment ($\chi^2 = 46.93$, $p < 0.0001$) compared with the pre-AVT. At the same time, a comparison of the frequency of elevated serum ALT activity in patients with F 0–2 and F 3–4 liver fibrosis did not reveal a statistically significant difference ($p > 0.05$) both at the time of AVT completion and 12 weeks after completion of AVT (Fig. 2).

Table 2. Dynamics of TGF-1 β , MMP-9 content in blood serum and TGF-1 β / MMP-9 ratio in CHC patients with GT1 in the dynamics of AVT depending on the stage of liver fibrosis, Me [Q25; Q75]

Indicator, units of measurement	Healthy people, n = 30	CHC patients, n = 92			
		F 0–2, n = 48		F 3–4, n = 44	
		before AVT	at the time of AVT completing	before AVT	at the time of AVT completing
TGF-1 β , pg/ml	6.2 [4.9; 7.0]	7.0 [4.5; 8.5]	6.9 [4.1; 10.5]	15.2 [13.4; 18.4] ^{1,3}	9.8 [7.0; 14.8] ^{1,2}
MMP-9, pg/ml	1269.43 [1088.70; 1331.50]	994.03 [753.41; 1151.13] ¹	1348.10 [1041.80; 1654.90] ²	725.12 [488.74; 994.71] ^{1,3}	1070.00 [638.89; 1313.80] ^{2,3}
TGF-1 β / MMP-9	0.005 [0.004; 0.006]	0.006 [0.004; 0.010]	0.006 [0.004; 0.009]	0.020 [0.013; 0.035] ^{1,3}	0.012 [0.007; 0.023] ^{1,3}

1: the difference is significant compared to healthy people ($p < 0.05$); 2: compared to patients in the corresponding group before the start of AVT ($p < 0.05$); 3: compared to patients with liver fibrosis F 0–2 during the corresponding observation period ($p < 0.05$).



Comparison of the severity of cytolytic syndrome in CHC patients with GT1 with different severity of liver fibrosis during AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen showed that before AVT, the median serum ALT activity in patients with liver fibrosis F 3–4 was higher compared with patients with liver fibrosis F 0–2 and was 1.47 [1.01; 2.37] mmol/hour.l versus 0.86 [0.48; 1.33] mmol/hour.l ($p < 0.05$). Subsequently, after AVT, both at the time of AVT completion and 12 weeks after AVT completion, serum ALT activity in patients, regardless of the severity of liver fibrosis, was lower ($p < 0.05$) than before AVT. It should be noted that after AVT, the median serum ALT activity in patients of both study groups remained within the reference values.

According to the results of our study, it was found that before the start of AVT in CHC patients with GT1 with liver fibrosis F 0–2, the median TGF-1 β content was not statistically different from that of healthy individuals ($p > 0.05$). However, the content of MMP-9 in the blood serum was lower (1.3 times, $p < 0.05$) than in healthy subjects. At the same time, the median TGF-1 β / MMP-9 ratio before AVT was not statistically different from the corresponding ratio in healthy subjects ($p > 0.05$).

In the group of patients with liver fibrosis severity F 3–4, the content of TGF-1 β in the blood serum was higher both in comparison with healthy individuals (2.5 times, $p < 0.05$) and in comparison with patients with liver fibrosis F 0–2 (2.2 times, $p < 0.05$). The median content of MMP-9

in the blood serum of patients with liver fibrosis F 3–4 was significantly lower both in comparison with healthy individuals (1.8 times, $p < 0.05$) and in comparison with patients with liver fibrosis F 0–2 (1.4 times, $p < 0.05$). At the same time, the TGF-1 β / MMP-9 ratio in patients with CHC with severe stages of liver fibrosis F 3–4 was 4 times higher ($p < 0.05$) compared with healthy subjects, and 3.3 times higher ($p < 0.05$) than in patients with stages of liver fibrosis F 0–2, which confirms the greater prevalence of fibrogenesis over fibrinolysis (Table 2).

At the time of AVT completion with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen, a statistically significant increase in serum MMP-9 levels was observed in CHC patients with GT1 with F 0–2 liver fibrosis compared with the corresponding indicator before AVT ($p > 0.05$). In patients with liver fibrosis F 0–2, at the time of AVT completion, the serum levels of TGF-1 β and MMP-9, as well as the TGF-1 β / MMP-9 ratio, did not statistically differ from the corresponding values in healthy subjects ($p > 0.05$). In patients with F 3–4 liver fibrosis, at the time of AVT completion, a statistically significant decrease in the content of TGF-1 β in the blood serum was noted compared with the corresponding indicator before AVT (1.6 times, $p < 0.05$), but remained statistically significantly higher compared with healthy subjects (2.5 times, $p < 0.05$).

When assessing the content of MMP-9 in the blood serum at the time of AVT completion, an increase (1.5 times, $p < 0.05$) was noted compared with the corresponding indicator before the start of AVT. However, the serum levels of MMP-9 in patients with F 3–4 liver fibrosis during this observation period remained lower than in patients with F 0–2 liver fibrosis (1.3 times, $p < 0.05$). However, despite the above-mentioned dynamics of TGF-1 β and MMP-9 in the serum of CHC patients with GT1 with liver fibrosis F 3–4, the TGF-1 β / MMP-9 ratio at the time of AVT completion remained higher both in comparison with healthy individuals (2.4-fold, $p < 0.05$) and in comparison with CHC patients with GT1 with liver fibrosis F 0–2 (2-fold, $p < 0.05$). The indicated dynamics of the studied parameters suggests a slowdown in fibrosis formation and activation of fibrinolysis after AVT completion (Table 2).

The Spearman correlation analysis allowed to demonstrate the interconnections of the studied cytokine levels with the liver stiffness index according to shear wave elastometry and laboratory parameters reflecting the functional state of the liver and hepatitis progression. Thus, direct correlations were established between the content of TGF-1 β in the blood serum and the index of liver stiffness expressed in kPa ($r = +0.85$, $p = 0.0001$)

and with the activity of γ -glutamyl transpeptidase in the blood serum ($r = +0.70$, $p = 0.035$). There was also an inverse correlation between serum MMP-9 and liver stiffness according to elastography ($r = -0.36$, $p = 0.005$) and a direct correlation between MMP-9 and platelet count ($r = +0.27$, $p = 0.02$).

Clinical and pathogenetic significance of the studied cytokines in the progression of liver fibrosis and possible regression of fibrotic changes was confirmed by significant gamma correlations between the presence of severe liver fibrosis F 3–4 and the level of TGF- 1β in the blood serum (gamma $+0.96$, $p = 0.0001$) and the level of MMP-9 in the blood serum (gamma -0.28 , $p = 0.01$).

Discussion

In the current literature, many studies from around the world have confirmed the high efficacy of DAAs in eradicating HCV, in particular, the OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV regimen [7,8,9,20].

For example, study [9] showed that the presence or absence of previous experience of AVT in patients with compensated cirrhosis with CHC does not affect the effectiveness of 3D mode therapy and allows achieving SVR in 100 % of patients. High efficacy of 3D regimen, namely achievement of SVR in 92.6 %, was also demonstrated in special groups of patients with CHC GT1 and CHC GT4, in particular those who required programmed haemodialysis and had CHC / HIV co-infection [8].

The results of our study showed a high efficacy of AVT according to the OBV / PTV / r+DSV $\pm$ RBV regimen, regardless of the stage of liver fibrosis. Namely, the frequency of achieving SVR was recorded: in 93.8 % of patients with liver fibrosis F 0–2 and in 95.5 % of patients with liver fibrosis F 3–4 ($p < 0.05$). In addition, the results of our study demonstrated that the frequency of achieving a biochemical response after AVT also did not depend on the severity of liver fibrosis.

The evolution of DAAs and the emergence of new regimens with DAAs have significantly increased the frequency of virological response, but the issue of the antifibrotic effect of AVT is currently being actively studied. It is known that fibrosis formation in the liver is constantly progressing without effective HCV eradication [11]. Therefore, the study of possible regression of liver fibrotic changes is carried out after successful AVT with both interferon-containing [10,11,21,22] and interferon-free [15,20,23,24] treatment regimens.

Literature data [10,11,15,20,21,22] support a possible regression of fibrotic changes in liver tissue after AVT completion and the formation of SVR in some patients. At the same time, patients with cirrhotic changes in the liver show significantly less regression than patients with mild or moderate fibrotic changes according to the METAVIR scale [10,11,15,20,21,22].

However, the issue of the antifibrotic effect in the setting of different AVT regimens is still under discussion [11]. A review article [11] analysed studies that investigated the possible regression of fibrotic changes in different degrees of liver fibrosis and liver cirrhosis in patients with CHC on different AVT regimens. This review demonstrates that the data from different studies have conflicting findings,

which can be partly explained by the use of different methods for verifying liver fibrosis (morphological, serum markers, different calculation tests, etc.) at different stages of follow-up [11]. The results of non-invasive methods for assessing the progression of liver fibrosis are closely related to the presence of necroinflammatory activity in the liver, so the difference may be more significant when assessing the possible regression of liver fibrosis, as necroinflammatory activity decreases after AVT [11].

The vast majority of literature data on the AVT antifibrotic effect relates to observations of patients treated with interferon-containing regimens [10,11,21,22]. For example, study [21] demonstrated a tendency to regression of fibrotic changes in the liver in CHC patients after interferon treatment, which was confirmed by an 89 % reduction in collagen content based on the results of paired biopsies before and after AVT 61 months after reaching SVR. Another study [22] demonstrated that 10 years after interferon-containing AVT in CHC patients with F 4 liver fibrosis, regression of fibrotic changes was observed in 24 of 43 patients who achieved SVR, as confirmed by the FibroTest or transient elastometry [22]. However, study [10], based on the study of the dynamics of histological changes in paired liver biopsy results after peg-interferon therapy in combination with ribavirin in CHC patients, demonstrated that for patients with F 0–3 liver fibrosis who achieved SVR, the risk of progression of fibrotic changes in the liver is reduced, but there is no complete regression of existing changes.

Recently, in connection with the use of DAAs alone in clinical practice in AVT, an urgent issue has arisen to determine the possible regression of liver fibrosis with interferon-free regimens. A few studies [15,23,24,25] have demonstrated a decrease in fibrotic changes in the liver after AVT completion with DAAs and the achievement of SVR based on non-invasive methods for determining the severity of liver fibrosis (elastometry, calculated FIB-4 and APRI indices). Thus, according to the results of a study [23], in CHC patients after interferon-free AVT and the formation of SVR, a decrease in liver stiffness was found according to shear wave elastometry, but the coefficient of controlled attenuation increased, indicating the progression of liver steatosis. A study [24] demonstrated a decrease in FIB-4 and APRI in CHC patients and established liver cirrhosis after DAAs treatment in 6 months – in 21 %, and in one year – in 40 % of treated patients ($p < 0.005$).

At the same time, in the presence of signs of decompensation of liver cirrhosis among patients who initially had compensated liver cirrhosis, alcohol abuse during the observation period was significantly less likely to improve FIB-4 and APRI based on the statistical odds ratio [24]. The study of liver stiffness in the dynamics was the basis of a study conducted in South Korea, which compared the degree of regression of liver fibrosis among patients treated with peg-interferon and DAAs. It was proven that liver stiffness was significantly lower in the group of patients treated with DAAs compared to patients treated with peg-interferon both after 48 weeks (29 % vs. 9 %) and 96 weeks (39 % vs. 17 %). The results of this study concluded that HCV eradication with DAAs treatment may lead to an improvement in liver stiffness over time [25].

However, the results achieved in terms of HCV eradication and reduction in liver stiffness by elastography did not affect the subsequent risk of developing hepatocellular carcinoma at 144 weeks of follow-up [25].

In our study, we evaluated the possible antifibrotic effect of AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen based on the dynamics of serum markers that reflect the activity and ratio of fibrotic and fibrinolytic processes. According to the results of our study, it was found that AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen slows down fibrogenesis and activates antifibrotic processes, which is confirmed by the dynamics of the relevant parameters: an increase in the content of MMP-9 in the blood serum ($p < 0.05$) and a decrease in the TGF-1 β / MMP-9 ratio (1.6 times, $p < 0.05$), compared with the corresponding indicators before treatment. Our results are in line with the current literature on the antifibrotic effect after successful antiviral therapy with DAAs [23,24,25].

In addition, in our study, we analysed the peculiarities of the dynamics of serum markers of fibrosis / fibrinolysis depending on the severity of liver fibrosis in the setting of AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen. The results of our study have shown that in the presence of severe liver fibrosis F 3–4, AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen, which is highly effective in eradicating HCV, decreases TGF-1 β ($p < 0.05$), but remains higher than in healthy individuals at the end of AVT ($p < 0.05$). The serum level of MMP-9 increases with AVT ($p < 0.05$), but remains lower than in patients with F 0–2 liver fibrosis ($p < 0.05$). In patients with F 3–4 liver fibrosis, at the time of AVT completion, the TGF-1 β / MMP-9 ratio remains higher both in comparison with healthy individuals ($p < 0.05$) and in comparison with CHC patients GT1 with F 0–2 liver fibrosis ($p < 0.05$). At the same time, in patients with liver fibrosis F 0–2, the content of MMP-9 in the blood serum increases ($p < 0.05$) and at the time of AVT completion, all the studied parameters do not differ from those of healthy individuals ($p > 0.05$).

To date, the current literature already contains a few publications that demonstrate the results of the assessment of antifibrotic changes in the liver in the context of the 3D treatment regimen. For example, study [20], which is a phase 3b clinical trial of TOPAZ-I and TOPAZ-II, evaluated the efficacy, safety, and clinical outcomes achieved within 3 years after the use of AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen in CHC patients GT1. It was demonstrated that the FIB-4 score improved during treatment, and patients with liver cirrhosis also had an improvement in the Child–Pugh score. Within 3 years after AVT completion, less than 1 % of patients developed decompensation of liver cirrhosis, and only 1.4 % of patients were diagnosed with hepatocellular carcinoma in the setting of existing liver cirrhosis [20].

In our opinion, studies of the possible antifibrotic effect after AVT using various non-invasive tests, including understanding the informative value of serum markers, deserve special attention. For example, study [15] investigated the relationship between the content of angiopoietin 2 (Ang-2) in the serum of CHC patients after successful eradication of HCV after AVT using DAAs as a possible marker of fibrotic and antifibrotic processes. It was found that the initial levels of Ang-2 correlated with the liver

stiffness index determined by elastometry, splenic index and the stage of liver fibrosis. At the same time, 75 % of patients showed regression of liver fibrosis stage after DAAs. At the same time, a significant association of Ang-2 content and fibrosis stage progression with the ability to regress the fibrosis stage after treatment was found. Thus, in the ROC analysis, the level of Ang-2 ≥ 354 pg/ml (sensitivity – 88 %, specificity – 73 %, AUC-0.855) was determined, at which the absence of regression of liver fibrosis after treatment with DAAs is predicted [15].

In our study, using correlation analysis, we demonstrated the relationship between the levels of the profibrogenic cytokine TGF-1 β and antifibrogenic MMP-9 in the blood serum and the liver stiffness index according to elastography. Namely, a direct correlation of TGF-1 β in the blood serum with the index of liver stiffness expressed in kPa ($r = +0.85$, $p = 0.0001$) and an inverse correlation of MMP-9 in the blood serum with the index of liver stiffness ($r = -0.36$, $p = 0.005$) was proved. Therefore, the obtained results of changes in the content of these cytokines in the blood serum during AVT with the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen suggest a slowdown in fibrogenesis and activation of antifibrotic processes, which is confirmed by the dynamics of the relevant parameters: an increase in the content of MMP-9 in the blood serum ($p < 0.05$) and a decrease in the TGF-1 β / MMP-9 ratio (1.6 times, $p < 0.05$), compared with the corresponding values before treatment. In our previous study, we proved the relationship of the studied cytokines in the progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C GT1 [26].

Conclusions

1. In CHC patients GT1 before AVT, the prevalence of profibrogenic potential is confirmed by an increase in TGF-1 β (2-fold, $p < 0.05$), a decrease in MMP-9 (1.4-fold, $p < 0.05$) and a higher TGF-1 β / MMP-9 ratio (2.6-fold, $p < 0.05$) than in healthy subjects. AVT according to the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen slows down fibrogenesis and activates antifibrotic processes, which is confirmed by an increase in MMP-9 content ($p < 0.05$) and a decrease in the TGF-1 β / MMP-9 ratio (1.6 times, $p < 0.05$) compared to the corresponding values before treatment.

2. The effectiveness of AVT in CHC patients GT1 according to the OBV / PTV / r+DSV±RBV regimen in terms of virological and biochemical responses is high and independent ($p > 0.05$) of the severity of liver fibrosis, which is confirmed by the achievement of SVR12 in 93.8 % of patients with liver fibrosis F 0–2 and 95.5 % of patients with F 3–4, as well as the biochemical response regardless of the severity of liver fibrosis ($p > 0.05$).

3. Before AVT starting, in CHC patients GT1 with liver fibrosis F 0–2, the serum MMP-9 content is lower ($p < 0.05$) than in healthy subjects, with no changes in TGF-1 β and the TGF-1 β / MMP-9 ratio ($p > 0.05$). In patients with F 3–4 liver fibrosis, serum TGF-1 β and TGF-1 β / MMP-9 ratio were higher, and MMP-9 was lower both in comparison with healthy subjects ($p < 0.05$) and in comparison with patients with F 0–2 liver fibrosis ($p < 0.05$).

4. On the background of AVT (OBV / PTV / r+DSV±RBV) in CHC patients GT1 with liver fibrosis F 0–2, the content

of MMP-9 in the blood serum increases ($p < 0.05$) and at the time of AVT completion all the studied parameters do not differ from healthy subjects ($p > 0.05$). In patients with F 3–4, the content of TGF- β decreases ($p < 0.05$), but at the time of AVT completion remains higher than in healthy individuals ($p < 0.05$). The content of MMP-9 increases with AVT ($p < 0.05$), but remains lower than in patients with F 0–2 ($p < 0.05$). In patients with F 3–4, at the time of AVT completion, the TGF- β / MMP-9 ratio remains higher both in comparison with healthy individuals ($p < 0.05$) and with CHC patients GT1 with F 0–2 ($p < 0.05$).

Prospects for further research in this area, in our opinion, are to evaluate the antifibrotic effect of pathogenetic treatment of CHC patients after HCV eradication.

Ethical approval

The Bioethics Committee of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University has reviewed the materials presented in the article and found no violations of ethical standards as outlined in applicable regulatory documents, including the Declaration of Helsinki, the Council of Europe's Convention on Human Rights and Biomedicine (Oviedo Convention), and other relevant legal instruments. The study complies with the current legislation of Ukraine. The Committee's conclusion is documented in the minutes of the meeting (Extract from Protocol No. 7 dated May 22, 2025).

Funding

The study was performed without financial support.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 21.04.2025
Після доопрацювання / Revised: 18.06.2025
Схвалено до друку / Accepted: 04.07.2025

Information about authors:

Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-7394-4649

Venytska H. V. MD, assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3642-0117

Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-2273-8511

Відомості про авторів:

Рябоконт О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Веницька Г. В., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, професор каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Hepatitis C [Internet]. Who.int. [cited 2025 Jun 25]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
- Polaris Observatory HCV Collaborators. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(5):396-415. doi: 10.1016/s2468-1253(21)00472-6
- Pawlitsky JM, Negro F, Aghemo A, Berenguer M, Dalgard O, Dusheiko G, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol*. 2020;73(5):1170-218. doi: 10.1016/j.jhep.2020.08.018. Erratum in: *J Hepatol*. 2023;78(2):452. doi: 10.1016/j.jhep.2022.10.006
- Ministry of Health of Ukraine. Pro zatverdzhennia standartiv medychnoi dopomohy pry virusnomu hepatyti C u doroslykh [On approval of standards of medical care for viral hepatitis C in adults]. Order dated 2021 Jan 15 No. 51. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/en/v0051282-21#Text>
- Wedemeyer H, Forns X, Hézode C, Lee SS, Scalori A, Voulgaris A, et al. Mericitabine and Either Boceprevir or Telaprevir in Combination with Peginterferon Alfa-2a plus Ribavirin for Patients with Chronic Hepatitis C Genotype 1 Infection and Prior Null Response: The Randomized DYNAMO 1 and DYNAMO 2 Studies. *PLoS One*. 2016;11(1):e0145409. doi: 10.1371/journal.pone.0145409
- Irekeola AA, Ear EN, Mohd Amin NA, Mustaffa N, Shueb RH. Antivirals against HCV infection: the story thus far. *J Infect Dev Ctries*. 2022;16(2):231-43. doi: 10.3855/jidc.14485
- Gschwanter M, Bamberger T, Graziadei I, Maieron A, Katalinic N, Stauber R. Burden of disease in patients with chronic hepatitis C in the Austrian REAL study. *Wien Klin Wochenschr*. 2019;131(1-2):8-16. doi: 10.1007/s00508-018-1404-2
- Londoño MC, Riveiro-Barciela M, Ahumada A, Muñoz-Gómez R, Rogot M, Devesa-Medina MJ, Serra MÁ, et al. Effectiveness, safety/tolerability of OBV/PTV/r ± DSV in patients with HCV genotype 1 or 4 with/without HIV-1 co-infection, chronic kidney disease (CKD) stage IIIb-V and dialysis in Spanish clinical practice – Vie-KinD study. *PLoS One*. 2019;14(9):e0221567. doi: 10.1371/journal.pone.0221567
- Fofiu C, Boeriu A, Coman F, Fofiu A, Panic N, Bulajic M, et al. Interferon-Free Regimen: Equally Effective in Treatment Naive and Experienced HCV Patients. *Ann Hepatol*. 2019;18(1):137-43. doi: 10.5604/01.3001.0012.7905
- Hsieh MH, Kao TY, Hsieh TH, Kao CC, Peng CY, Lai HC, et al. Long-term surveillance of liver histological changes in chronic hepatitis C patients completing pegylated interferon- α plus ribavirin therapy: an observational cohort study. *Ther Adv Chronic Dis*. 2022;13:20406223211067631. doi: 10.1177/20406223211067631
- Rockey DC, Friedman SL. Fibrosis Regression After Eradication of Hepatitis C Virus: From Bench to Bedside. *Gastroenterology*. 2021;160(5):1502-1520.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2020.09.065
- Rockey DC. Translating an understanding of the pathogenesis of hepatic fibrosis to novel therapies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(3):224-31.e1-5. doi: 10.1016/j.cgh.2013.01.005
- Liu X, Xu J, Rosenthal S, Zhang LJ, McCubbin R, Meshgin N, et al. Identification of Lineage-Specific Transcription Factors That Prevent Activation of Hepatic Stellate Cells and Promote Fibrosis Resolution. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1728-1744.e14. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.027
- Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2021;18(3):151-66. doi: 10.1038/s41575-020-00372-7
- Kawagishi N, Suda G, Kimura M, Maehara O, Shimazaki T, Yamada R, et al. High serum angiopoietin-2 level predicts non-regression of liver stiffness measurement-based liver fibrosis stage after direct-acting antiviral therapy for hepatitis C. *Hepatol Res*. 2020;50(6):671-81. doi: 10.1111/hepr.13490
- Li W, Duan X, Zhu C, Liu X, Jeyarajan AJ, Xu M, et al. Hepatitis B and Hepatitis C Virus Infection Promote Liver Fibrogenesis through a TGF- β 1-Induced OCT4/Nanog Pathway. *J Immunol*. 2022;208(3):672-84. doi: 10.4049/jimmunol.2001453
- Radmanic L, Bodulic K, Šimić P, Vince A, Lepej SŽ. The Effect of Treatment-Induced Viral Eradication on Cytokine and Growth Factor Expression in Chronic Hepatitis C. *Viruses*. 2022;14(8):1613. doi: 10.3390/v14081613
- Frangogiannis N. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *J Exp Med*. 2020;217(3):e20190103. doi: 10.1084/jem.20190103
- Soliman H, Ziada D, Salama M, Hamisa M, Badawi R, Hawash N, et al. Predictors for fibrosis regression in chronic HCV patients after the treatment with DAAs: Results of a real-world cohort study. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020;20(1):104-11. doi: 10.2174/1871530319666190826150344
- Poordad F, Castro RE, Asatryan A, Aguilar H, Cacoub P, Dieterich D, et al. Long-term safety and efficacy results in hepatitis C virus genotype

 Olena Riabokon (Олена Рябоконт)
ryabokonksmu@ukr.net

- 1-infected patients receiving ombitasvir/paritaprevir/ritonavir + dasabuvir ± ribavirin in the TOPAZ-I and TOPAZ-II trials. *J Viral Hepat.* 2020;27(5):497-504. doi: [10.1111/jvh.13261](https://doi.org/10.1111/jvh.13261)
21. D'Ambrosio R, Aghemo A, Rumi MG, Ronchi G, Donato MF, Paradis V, et al. A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2012;56(2):532-43. doi: [10.1002/hep.25606](https://doi.org/10.1002/hep.25606)
22. Poynard T, Moussalli J, Munteanu M, Thabut D, Lebray P, Rudler M, et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2013;59(4):675-83. doi: [10.1016/j.jhep.2013.05.015](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.05.015)
23. Rout G, Nayak B, Patel AH, Gunjan D, Singh V, Kedia S, et al. Therapy with Oral Directly Acting Agents in Hepatitis C Infection Is Associated with Reduction in Fibrosis and Increase in Hepatic Steatosis on Transient Elastography. *J Clin Exp Hepatol.* 2019;9(2):207-14. doi: [10.1016/j.jceh.2018.06.009](https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.06.009)
24. Prakash S, Rockey DC. 1006 predictors of poor fibrosis regression after direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis c and cirrhosis. *Gastroenterology.* 2020;158(6):1302-3. doi: [10.1016/s0016-5085\(20\)33918-4](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(20)33918-4)
25. Yoo HW, Park JY, Kim SG, Jung YK, Lee SH, Kim MY, et al. Regression of liver fibrosis and hepatocellular carcinoma development after HCV eradication with oral antiviral agents. *Sci Rep.* 2022;12(1):193. doi: [10.1038/s41598-021-03272-1](https://doi.org/10.1038/s41598-021-03272-1)
26. Venytska HV, Riabokon OV, Riabokon YY, Shcherbyna RO. Diagnostic values of MMP-9 and TGF-1 β in assessing the severity of liver fibrosis and the rate of its progression in patients with chronic hepatitis C GT 1 infection. *Zaporozhye medical journal.* 2023;25(4):326-32. doi: [10.14739/2310-1210.2023.4.276462](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2023.4.276462)

Патоморфологічні зміни головного мозку при коронавірусній хворобі 2019 (COVID-19)

Л. І. Волос^{1, A, C, D, E, F}, Г. Л. Столяр^{2, B, C, D}

¹Державне некомерційне підприємство «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна,

²Комунальне некомерційне підприємство Львівської обласної ради «Львівська обласна клінічна лікарня», Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – дослідити патоморфологічні зміни головного мозку померлих від ускладнень коронавірусної хвороби 2019 (COVID-19) та встановити нейропатологічні особливості COVID-19.

Матеріали і методи. Здійснили морфологічне дослідження аутопсійного матеріалу 78 померлих від ускладнень COVID-19 у період від березня 2020 року до квітня 2021 року. Гістологічні препарати головного мозку у різних ділянках (кора, біла речовина, базальні ганглії, гіпокамп, стовбур і мозочок) дослідили морфологічно та імуногістохімічно, використавши моноклональні антитіла до астроцитів (GFAP, Thermo Scientific), мікроглії (CD68, Clone Ab-4, Thermo Scientific) і Т-лімфоцитів (CD3, Clone SP7, Thermo Scientific). Гістологічне оцінювання і мікрофотографування виконано із застосуванням універсального оптичного мікроскопа Leica DM750 (Leica Microsystems GmbH).

Результати. Встановлено, що ураження головного мозку у госпіталізованих пацієнтів з інфекцією SARS-CoV-2 асоціювалися зі старшим віком, тяжкістю захворювання і супутньою патологією. У разі тяжкого перебігу коронавірусної хвороби з неврологічним дефіцитом нейроваскулярні події супроводжувалися ішемічним інфарктом, тромбозом венозного синуса та внутрішньомозковими крововиливами. Гіпоксично-ішемічна енцефалопатія гістологічно характеризувалася дегенерацією і частковою втратою нейронів, активацією мікроглії з формуванням численних мікрогліальних вузликів у корі навколо гіпоксично змінених нейронів, у білій речовині, периваскулярно і в периваскулярних просторах у різних відділах головного мозку, реактивним астрогліозом із позитивним імуногістохімічним маркером GFAP, периваскулярною інфільтрацією Т-лімфоцитами.

Висновки. Оскільки SARS-CoV-2 має широкий тканинний тропізм, можуть виникати і респіраторні, й позалегеневі ускладнення. Нейропатологічними особливостями й ознаками коронавірусної хвороби тяжкого перебігу в спостереженнях, які описали, були дегенерація нейронів, активація мікроглії, інфільтрація CD3-позитивними Т-лімфоцитами, реактивний астрогліоз, в окремих випадках – макроскопічні аномалії, як-от свіжі та давні ішемічні інфаркти й геморагії.

Ключові слова:

COVID-19, вірус SARS-CoV-2, головний мозок, неврологічні ускладнення, інсульт, енцефалопатія, астроцити, GFAP, CD68, мікроглія, CD3, Т-лімфоцити, патоморфологія, імуногістохімія.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 2(64).
С. 119-126

Pathomorphological brain changes due to coronavirus disease 2019 (COVID-19)

L. I. Volos, H. L. Stoliar

Aim: To investigate the pathomorphological changes in the brains of individuals who died from complications of coronavirus disease (COVID-19) and to identify the neuropathological features associated with COVID-19.

Materials and methods. A morphological study was conducted on autopsy material from 78 individuals who died due to complications of COVID-19 between March 2020 and April 2021. Histological examinations of various brain regions – including the cortex, white matter, basal ganglia, hippocampus, brainstem, and cerebellum – were performed using both morphological and immunohistochemical methods. Monoclonal antibodies were used to detect astrocytes (GFAP, Thermo Scientific), microglia (CD68, Clone Ab-4, Thermo Scientific), and T-lymphocytes (CD3, Clone SP7, Thermo Scientific). Histological evaluation and microphotography were carried out using a Leica DM750 universal optical microscope (Leica Microsystems GmbH).

Results. It was found that brain damage in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection was associated with older age, disease severity, and comorbidities. In cases of severe COVID-19 with neurological deficits, neurovascular incidents were accompanied by ischemic infarction, venous sinus thrombosis, and intracerebral hemorrhage. Hypoxic-ischemic encephalopathy was histologically characterized by degeneration and partial loss of neurons, microglial activation with the formation of numerous microglial nodules in the cortex around hypoxically altered neurons, in the white matter, perivascularly, and in perivascular spaces throughout different parts of the brain, reactive astrogliosis with a positive immunohistochemical marker GFAP, and perivascular infiltration by T-lymphocytes.

Conclusions. Since SARS-CoV-2 has a broad tissue tropism, both respiratory and extrapulmonary complications can occur. The neuropathological features and findings in the studied cases with a severe course included neuronal degeneration, microglial activation, infiltration by CD3-positive T-lymphocytes, reactive astrogliosis, and, in some cases, macroscopic abnormalities such as fresh and old ischemic infarctions and hemorrhages.

Keywords:

COVID-19, SARS-CoV-2 virus, brain, neurological complications, stroke, hemorrhage, encephalopathy, astrocytes, GFAP, CD68, microglia, CD3, T-lymphocytes, pathomorphology, immunohistochemistry

Pathologia.
2025;22(2):119-126

Інфекційні ураження центральної нервової системи (ЦНС) є складною проблемою та істотною загрозою для громадського здоров'я, оскільки можуть призводити до інвалідності та смерті, особливо в разі тяжкого перебігу [1]. Інфекційні захворювання ЦНС можуть бути спричинені різними збудниками: бактеріями, грибами, найпростішими, нейротропними вірусами кори, герпесу, ВІЛ, респіраторними вірусами. Різні респіраторні віруси, як-от вірус грипу, синцитіальний вірус, коронавірус є агентами, що можуть уражати ЦНС [2].

SARS-CoV-2 (тяжкий гострий респіраторний синдром коронавірус 2) – новий коронавірус, що поширився в усьому світі в 2019–2020 роках, а також спорадичне виникнення його нових типів, яке зумовлює спалахи до сьогодні, становить складну глобальну загрозу для здоров'я [3].

Нині відомо, що коронавірусна хвороба COVID-19 характеризується різними клінічними варіантами перебігу від легкого, середньотяжкого до гострого респіраторного дистрес-синдрому, тромботичних проявів, поліорганної недостатності і навіть смерті [4]. Значне вивільнення запальних цитокінів у так званому «цитокіновому штормі» посилює клінічну картину [5], що може прогресувати до вірусного сепсису з гіперкоагуляцією і до тяжкого, критичного септичного шоку з дисфункцією органів, що спричиняє високий рівень смертності [6,7,8].

За результатами багатьох досліджень, SARS-CoV-2 також може уражати ЦНС, і понад 30 % пацієнтів із SARS-CoV-2 мали неврологічні симптоми під час COVID-19 [9,10,11]. Спектр неврологічних проявів, спричинених COVID-19, широкий і варіює від легких (ксеростомія, аносмія або дисгевзія [12], головний біль, запаморочення [13,14]) до найтяжчих (інсульт [15,16], менингоенцефаліт [17], гостра некротизуюча енцефалопатія, синдром Гієна–Барре тощо [18]) симптомів.

Пацієнти з COVID-19, особливо з тяжкою формою захворювання, зазвичай в анамнезі мають коморбідну патологію (цукровий діабет, артеріальна гіпертензія, ревматизм, колагенози, тиреотоксикоз, злоякісні пухлини) [19,20]. Коморбідна патологія, власне, і може ускладнити розуміння того, які патологічні артефакти безпосередньо пов'язані з пошкодженням головного мозку вірусом SARS-CoV-2 [21,22].

Беручи до уваги, що вірус SARS-CoV-2 добре відомий за легеневою тропізмом, респіраторними ускладненнями та гістопатологічними знахідками дихальних шляхів, дослідження нейропатологічних особливостей і гістопатологічних проявів при COVID-19 є актуальним завданням теоретичної та практичної медицини.

Мета роботи

Дослідити патоморфологічні зміни головного мозку померлих від ускладнень коронавірусної хвороби і встановити нейропатологічні особливості COVID-19.

Матеріали і методи дослідження

Патоморфологічне дослідження здійснили на базі патологоанатомічного відділення КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» і кафедри патологічної

анатомії та судової медицини ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького». Вивчили аутопсійний матеріал 78 померлих від ускладнень COVID-19 у період від березня 2020 року до квітня 2021 року.

Критерії залучення до дослідження – підтверджений діагноз інфекції SARS-CoV-2 на підставі виявленої РНК SARS-CoV-2 за допомогою кількісного аналізу RT-PCR мазків із носоглотки, а також наявність достатньої кількості високоякісних гістологічних препаратів тканини легень і головного мозку.

Для встановлення причини смерті та детального вивчення структур головного мозку у померлих від ускладнень COVID-19 проаналізували історії хвороби пацієнтів, лабораторні показники, результати застосування візуалізаційних методів і клінічні дані, включаючи попередні захворювання і перебіг хвороби до смерті. Вивчили протоколи розтину, свідоцтва про смерть, здійснили клініко-морфологічне порівняння результатів. Інформація з протоколів розтину включала загальні результати аутопсії та морфологічні зміни в головному мозку на макро- і мікроскопічному рівнях. Не виявили ознак, що вказували б на насильницьку смерть.

Дослідження здійснили, дотримуючись положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», що затверджені Гельсінською декларацією (1964–2013), ICH GCP (1996), Директива Ради 86/609/ЄЕС від 24.11.1986 р., Наказів МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690, від 14.12.2009 р. № 944 та від 03.08.2012 р. № 616. Згідно з висновком Комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», дослідження здійснено без порушень (протокол від 20 лютого 2023 року № 2).

Середній вік пацієнтів становив 66 років (діапазон – від 21 до 97 років); 49 (62,82 %) – чоловіки, 29 (37,18 %) – жінки. Хворі перебували на лікуванні у відділеннях інтенсивної терапії. Тривалість перебування у стаціонарі становила 1–30 днів. Хворі отримували кисневу терапію: 37 (47,44 %) пацієнтів – кисень через носові канюлі, 31 (39,74 %) – неінвазивну вентиляцію з позитивним тиском, 10 (12,82 %) осіб перебували на керованій вентиляції легень.

Усі померлі мали супутню патологію (ізолювану або в поєднанні). Так, у більшості пацієнтів (n = 40, 51,3 %) діагностовано гіпертонічну хворобу, у 26 (33,3 %) – цукровий діабет 2 типу та гіпертензію, у 9 (11,5 %) – цукровий діабет, ожиріння та гіпертензію, у 2 (2,6 %) – гіпотиреоз, в 1 (1,3 %) випадку зафіксовано ліковану хронічну лімфоїдну лейкомію. Причиною смерті були переважно тяжка легенево-серцева недостатність із вірусною пневмонією як основним захворюванням, у 3 осіб – також у поєднанні з ентеротоксичним шоком внаслідок антибіотик-асоційованого коліту, в 1 особи – тромбоемболія легеневої артерії.

Зразки тканин легень і головного мозку (кора в репрезентативних ділянках лобової, скроневої, тім'яної та потиличної часток, базальні ганглії, гіпокамп, стовбур мозку, мозочок) після загального дослідження фіксували в 10 % нейтральному забуференому роз-

чини формаліну з наступним зневодненням у спиртах висхідної концентрації та заливкою в парафіновий блок за стандартною методикою [23]. З парафінових блоків зі зразками тканини на ротаційному мікротомі Leica RM2235 виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм, які наносили на предметні скельця з адгезивним покриттям.

Для загальногістологічних досліджень депарафіновані гістологічні зрізи тканини легень і головного мозку забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою для оцінювання гістопатологічних уражень. Крім того, мікроскопічне дослідження головного мозку здійснили з додатковим забарвленням за методом Ніссля. Для оцінювання фібрину різних ступенів полімеризації в гістологічних зрізах тканини легень застосовано метод MSB у модифікації Зербіно–Лукашевич «оранжевий – червоний – голубий». Так, «вік» фібрину визначали за забарвленням у зрізах: помаранчевий колір властивий молодому фібрину (0–6 годин), різні відтінки яскраво-червоного кольору – зрілому (7–24 годин), сіро-буро-голубий – старому (понад 48 годин) [24].

Імуногістохімічні (ІГХ) дослідження здійснили відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюми [25,26]. Для ІГХ-дослідження використано моноклональні антитіла до активованих астроцитів (GFAP, Thermo Scientific), активованої мікроглії (CD68, Clone Ab-4, Thermo Scientific) і Т-лімфоцитів (CD3, Clone SP7, Thermo Scientific) у корі головного мозку, базальних гангліях, стовбурі мозку та мозочку. ІГХ-реакції візуалізовано з використанням системи детекції DAKO EnVision + System з хромогеном діамінобензидином («DAKO», США).

Наступний етап передбачав дозабарвлення зрізів гематоксиліном Маєра і поміщення препаратів у канадський бальзам. Гістологічне оцінювання здійснили з застосуванням універсального оптичного мікроскопа Leica DM750 (Leica Microsystems GmbH).

Під час виконання роботи використано також бібліосемантичний метод, методи системного аналізу й описової статистики. Під час порівняння показників мінімальний рівень значущості становив $p < 0,05$.

Результати

За даними історій хвороби, інфекцію SARS-CoV-2 визначали за поширеними симптомами: лихоманкою, кашлем, втомою та задишкою. У разі тяжкого перебігу коронавірусної хвороби у пацієнтів виникала пневмонія, гострий респіраторний дистрес-синдром, серцева та поліорганна недостатність. Крім того, клінічні дані свідчили про ураження ЦНС – у понад 60 % пацієнтів виявлено неспецифічні неврологічні симптоми, як-от запаморочення, безперервний, помірно або сильно інтенсивний головний біль, біль у м'язах, нудота, блювота, а також більш специфічні симптоми: гіпогевзію, гіпо- й аносмію. Крім того, зафіксовано порушення свідомості та діагностовано гострі цереброваскулярні захворювання, включаючи інсульт, тромбоз венозного синуса та внутрішньомозкові крововиливи.

Оскільки коронавірусна хвороба відома насамперед як респіраторне захворювання, а легені й

дихальні шляхи уражаються найбільше, доцільно спочатку навести результати патоморфологічного дослідження легень.

Макроскопічна картина уражених легень доволі характерна: легені збільшені, безповітряні, відносно щільної консистенції, на розрізі – дрібнозернисті тьмяно-червоні, й на цьому фоні – тонкі (від ледь помітних до більш виражених) сіруваті парасептальні та субплевральні тяжі, невелика кількість дрібних кист; плевра дрібно горбиста, гладенька або з незначними нашаруваннями фібрину.

Для мікроскопічної картини характерне поєднання ексудативних і проліферативних змін без чіткої залежності від тривалості респіраторної підтримки. Так, у всіх померлих пацієнтів в альвеолах виявлено почасти фрагментовані «гіалінові мембрани» з інфільтрацією лейкоцитами та макрофагами, густу набрякову рідину, десквамовані та метаплазовані гіперхромні альвеолоцити, макрофаги, геморагії; в інтерстиції визначено моноклеарну інфільтрацію, фокуси грануляційної тканини та грубий склероз, у чотирьох випадках – із формуванням «щільників» зі сплосченим епітелієм, виявлено також емфізему, ателектази, фібринові тромби в мікроциркуляторному руслі (рис. 1).

Під час ретельного макроскопічного дослідження головного мозку у 42 (54 %) померлих виявлено ознаки легкого або помірного набряку, що зазвичай визначають як неспецифічні агональні зміни. Артеріосклероз базальних артерій легкого ступеня вираженості діагностовано у 25 (32,05 %) померлих, помірного ступеня – у 27 (34,62 %), тяжкого – в 11 (14,10 %) випадках. У 9 (11,54 %) померлих у головному мозку визначено макроскопічні аномалії – свіжі та давні ішемічні інфаркти, геморагії.

Гістологічне дослідження зрізів головного мозку, забарвлених гематоксиліном та еозином, дало змогу визначити тяжкі гострі гіпоксичні зміни з розсіяними гіпереозинофільними зморщеними нейронами в корі головного мозку, ядрах, стовбурі та клітин Пуркінє в гангліонарному шарі мозочка. Виявлено гострі ішемічні інфаркти, геморагічний інфаркт із ділянками свіжих і давніх крововиливів (рис. 2, 3).

Так, морфологічну картину ішемічного інсульту визначено у 4 із 26 (15,38 %) випадків із супутніми цукровим діабетом і гіпертонічною хворобою, у 2 із 9 (22,22 %) випадків з супутніми цукровим діабетом, ожирінням і гіпертонічною хворобою, достовірні відмінності зафіксовано щодо встановлених випадків ішемічного інсульту – у 3 із 40 (7,50 %) спостережень з ізольованою супутньою гіпертонічною хворобою, ($p < 0,05$). Крім того, за умов поєднаної супутньої патології діагностовано внутрішньомозковий крововилив і тромбоз синусів, тобто зміни у головному мозку більш виражені й тяжчі у разі поєднаної коморбідності.

Крім того, в корі головного мозку часто визначали дегенерацію нейронів, виявляли двоядерні нейрони, особливо у разі тривалого тяжкого перебігу коронавірусної хвороби. Такі нейрони містили два ядра, що мали зіставний розмір та ідентичну структуру ядерного хроматину (рис. 3). Виявлено також двоядерні нейрони з морфологічно різними ядрами. Встановлено вірогідне переважання дегенеративно змінених

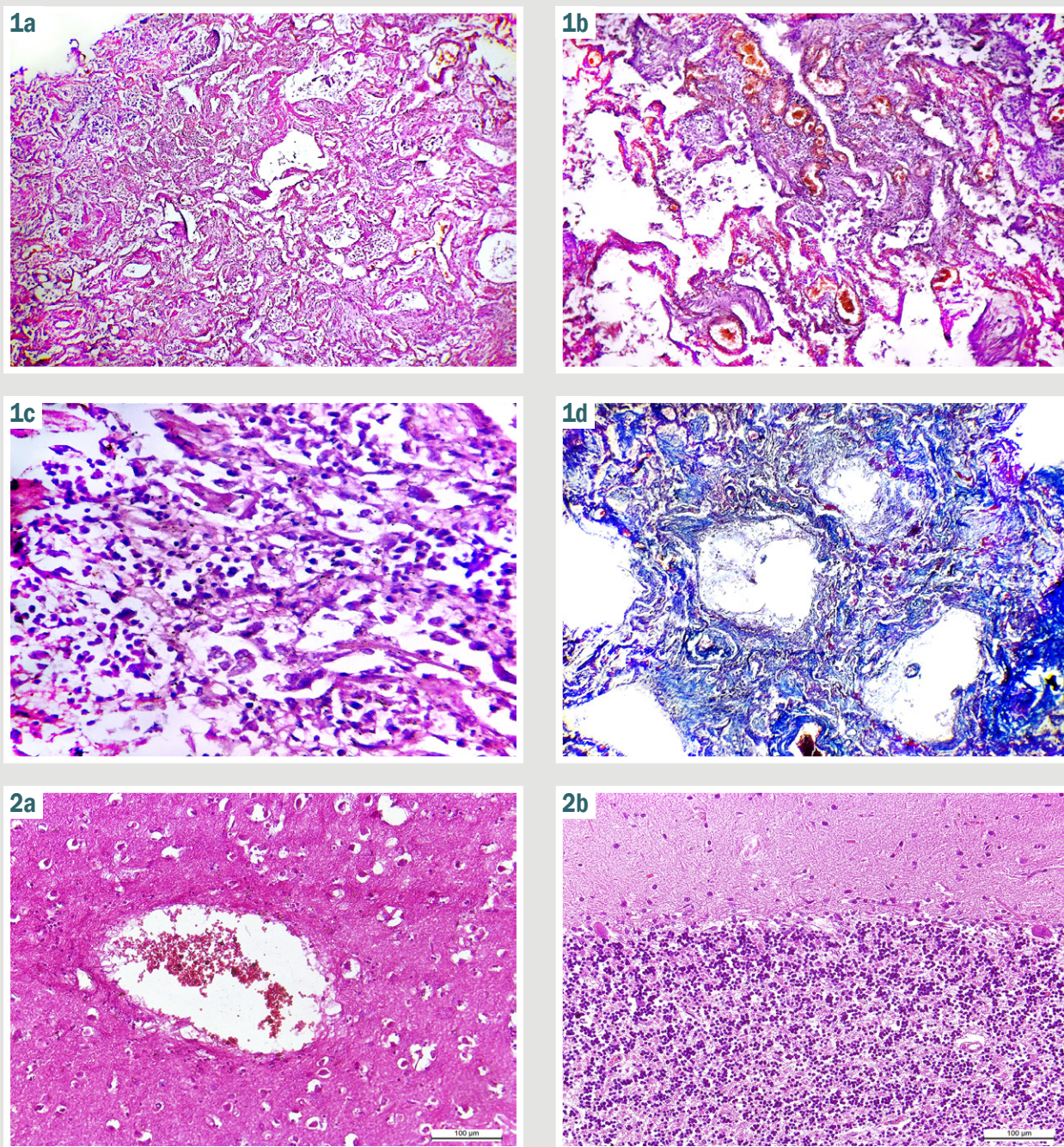


Рис. 1. Легенева тканина при коронавірусній хворобі: поєднання ексудативних та проліферативних змін. Забарвлення гематоксином та еозином (a, b, c), забарвлення фібрину методом MSB у модифікації Зербіно–Лукаевич «оранжевий – червоний – голубий». a: гіалінові мембрани, інфільтровані макрофагами та фіброblastами, $\times 100$; b: грануляційна тканина в інтерстиції, $\times 200$; c: у просвітах альвеол – макрофаги, метаплазовані та десквамовані альвеолоцити, $\times 400$; d: склероз із формуванням «щільників», фрагментовані гіалінові мембрани, $\times 200$.

Рис. 2. Тканина головного мозку при COVID-19, забарвлення гематоксином та еозином. a: периваскулярний і перичелюлярний набряк, еозинофільна дегенерація нейронів (червоні нейрони), $\times 200$; b: гостре гіпоксично-ішемічне пошкодження мозочка з дистрофією та частковою втратою клітин Пуркінє, $\times 200$.

нейронів у пацієнтів із супутніми цукровим діабетом і гіпертонічною хворобою, тривалим перебуванням у відділеннях інтенсивної терапії на керованій вентиляції легень і неінвазивній вентиляції з позитивним тиском порівняно з випадками ізольованої супутньої патології та короткотривалим перебуванням у стаціонарі ($p < 0,05$). Гіпоксично-ішемічне ураження головного мозку стимулює та призводить до збільшення кіль-

кості двоядерних нейронів, і такий підвищений вміст двоядерних нейронів може бути структурною основою нейропротекторних ефектів адаптації до гіпоксії.

Звернули увагу на кластери активованої мікроглії, осередкові численні мікрогліальні вузлики в корі навколо гіпоксично змінених нейронів (рис. 3c), у білій речовині, периваскулярно і в периваскулярних просторах у різних відділах головного мозку, мозочку,

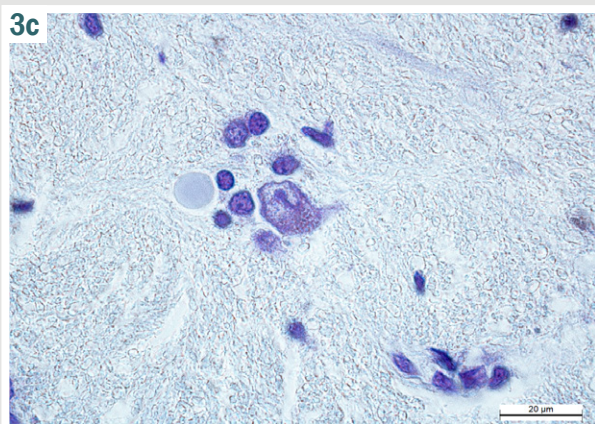
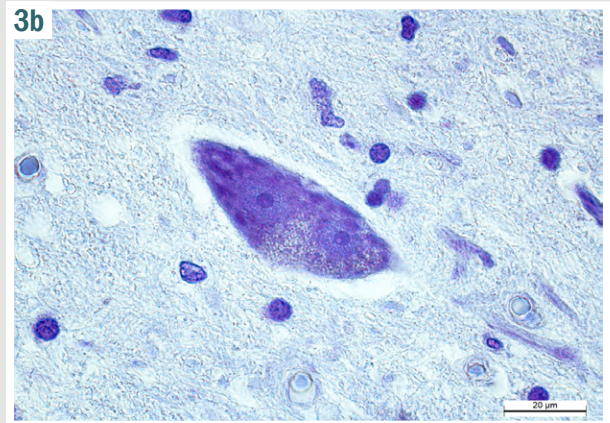
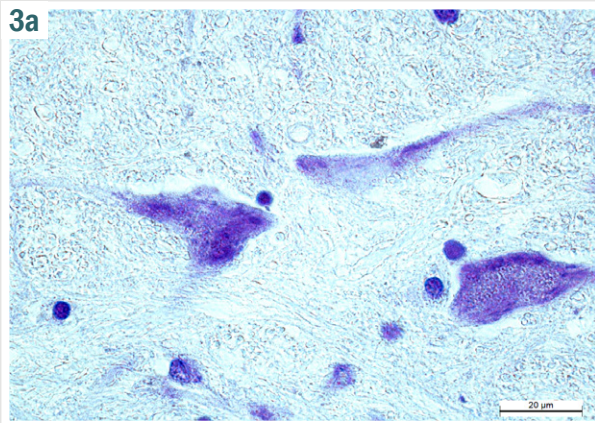
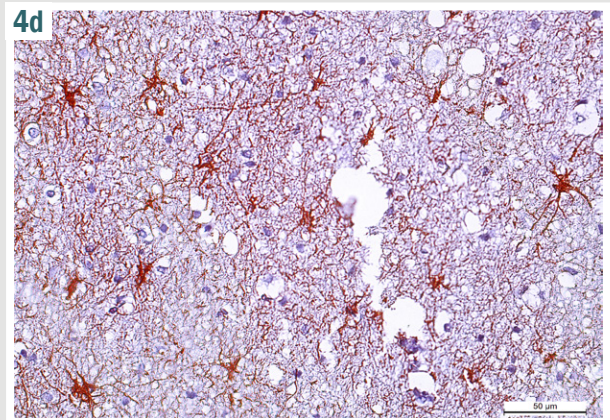
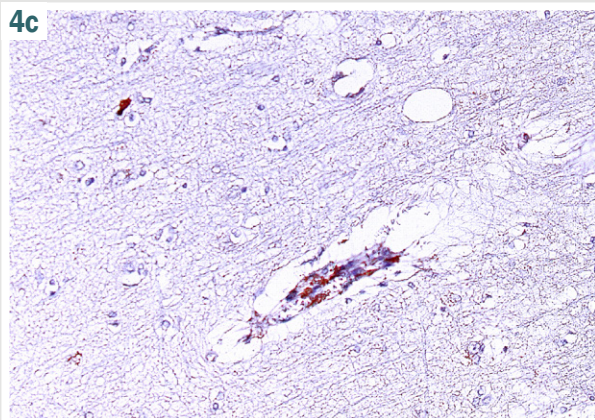
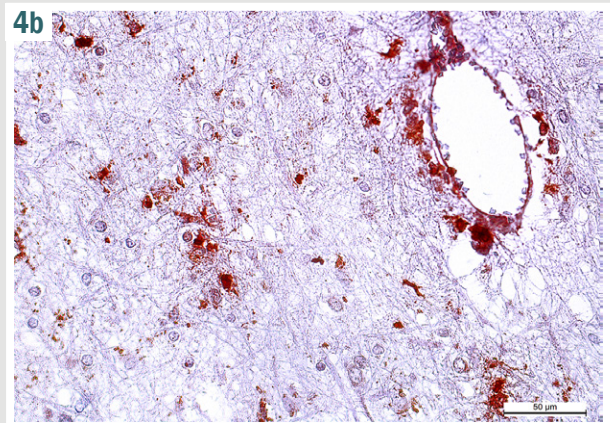
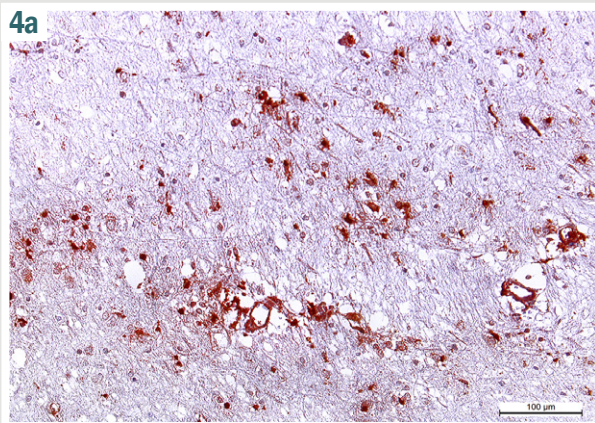


Рис. 3. Тканина головного мозку при COVID-19, забарвлення за Ніслем, $\times 1000$ (імерсія). **а:** дегенерація нейронів із деформацією тіла, вкороченням відростків та осередковим тигролізом; **б:** двоядерний нейрон кори головного мозку з фокальним тигролізом; **с:** активація мікроглії з формуванням вузлика довкола нейрона, що дегенерує.

Рис. 4. Тканина головного мозку. Репрезентативні результати ІГХ для CD68 (**а**, **б**), CD3 (**с**), GFAP (**д**). **а:** активовані мікрогліальні клітини в корі, $\times 200$; **б:** активовані мікрогліальні клітини у білій речовині і периваскулярних просторах (CD68, клон Ab-4, Thermo Scientific), $\times 400$; **с:** інфільтрація Т-лімфоцитами (CD3, клон SP7, Thermo Scientific) периваскулярних просторів, $\times 400$; **д:** реактивний астрогліоз у відповідь на гостру ішемію (астроцитарний маркер GFAP – гліальний фібрилярний кислотний білок, Thermo Scientific), $\times 400$.



особливо у разі тривалого тяжкого перебігу коронавірусної хвороби у пацієнтів із поєднаною коморбідною патологією ($p < 0,05$). Активовані мікрогліальні клітини і вузлики характеризувалися позитивним ІГХ-забарвленням для CD68 (рис. 4а, б).

ІГХ-дослідження на маркер CD3 дало змогу виявити периваскулярну інфільтрацію Т-лімфоцитами навколо венул у корі різних часток головного мозку, базальних гангліях. Невеликі скупчення периваскулярних лімфоцитів зафіксовано навколо медулярних венул. Т-лімфоцити розташовувалися внутрішньосудинно вздовж стінки судини (рис. 4с). Втім, паренхіматозні лімфоцитарні інфільтрати рідкісні, у білій чи у сірій речовині поряд із нейронами визначено поодинокі CD3-позитивні клітини.

Реактивний астрогліоз із позитивним ІГХ-маркером GFAP виявлено в усіх випадках, але мав різні ступені вираженості. Крім гіперплазії астроцитів, виявляли гіпертрофовані астроцити, особливо високий ступінь астрогліозу визначено у фронтальній корі, базальних ядрах, помірний ступінь – у мозочку та верхній, нижній частинах довгастого мозку (рис. 4д).

Крім того, високий ступінь астрогліозу зафіксовано у разі гострого гіпоксично-ішемічного пошкодження головного мозку з дистрофією та частковою втратою нейронів, біля ділянок енцефаломалії, внутрішньомозкового крововиливу, коли в пацієнтів діагностовано коморбідні патології (цукровий діабет, порушення ліпідного обміну, артеріальна гіпертензія), порівняно з випадками з ізольованою супутньою патологією та середньо-тяжким перебігом коронавірусної хвороби ($p < 0,05$).

Обговорення

Пандемія COVID-19, що спричинена новим SARS-CoV-2 коронавірусом, істотно вплинула на здоров'я людей у всьому світі. За даними ВООЗ, станом на 01 червня 2025 року внаслідок швидкого поширення SARS-CoV-2 і розвитку тяжких ускладнень коронавірус призвів до понад 7 млн смертей у всьому світі, у 778 млн осіб захворювання підтверджено лабораторно [27].

До групи ризику найтяжчого перебігу COVID-19 належать пацієнти з цукровим діабетом, серцево-судинними захворюваннями, артеріальною гіпертензією, ожирінням, хронічними захворюваннями легень і нирок, онкопатологіями. Пацієнти з цукровим діабетом і поєднаною артеріальною гіпертензією мають удвічі вищий ризик зараження та тяжкого перебігу COVID-19 [28,29].

У нашому дослідженні померлі хворі мали супутню патологію, у більшості з них діагностовано гіпертонічну хворобу, у третини – цукровий діабет 2 типу та артеріальну гіпертензію. Поєднана коморбідна патологія – цукровий діабет та артеріальна гіпертензія – впливали на ураження ЦНС при інфікуванні SARS-CoV-2. Крім того, за умови поєднаної коморбідності виявлено вираженіші й тяжчі зміни у головному мозку.

За результатами досліджень, тяжкість і наслідок перебігу захворювання на COVID-19 істотно залежать від віку пацієнта. Дорослі віком понад 65 років, які мають супутні захворювання та є інфікованими,

становлять 80 % випадків госпіталізації та мають у 23 рази вищий ризик смерті, ніж пацієнти віком менше ніж 65 років [30,31]. Середній вік пацієнтів, залучених до нашого дослідження, становив 66 років.

COVID-19 – складне респіраторне та системне захворювання з широким діапазоном тяжкості. Оскільки SARS-CoV-2 має значний тканинний тропізм, можуть виникати і респіраторні, й позалегеневі ускладнення, як-от неврологічні [32]. Згідно з результатами досліджень, крім легень і судин, SARS-CoV-2 може прямо уражати ЦНС [33]. Нейроплін-1 (NRP-1) спричиняє його потрапляння в ЦНС через нюховий епітелій носової порожнини [34]. Неврологічний дефіцит є одним із найскладніших для запобігання та лікування ускладнень, зазвичай виникає у разі тяжких форм захворювання [35,36]. Неврологічний дефіцит може варіювати від легких симптомів (аносмія, дисгевзія) до тяжких ускладнень: енцефалопатії, інсульту, тромбозу вен головного мозку, судом, синдрому Гієна-Барре, – що впливають на загальний результат лікування пацієнтів [36,37,38].

За даними історій хвороби, понад 60 % пацієнтів, які залучені до дослідження, мали скарги на аносмію та головний біль на початку захворювання. Втім, у разі тяжкого перебігу коронавірусної хвороби головний біль був менш тривожним симптомом порівняно з задишкою і лихоманкою, й окремі госпіталізовані пацієнти не повідомляли про нього. Ці дані збігаються з результатами, що одержали інші дослідники [13,39].

Гострий ішемічний інсульт – поширена нейроваскулярна подія у хворих на COVID-19 і супутні цукровий діабет, гіпертонічну хворобу. Зіставні дані одержано в попередніх дослідженнях [40,41]. У таких пацієнтів діагностовано гострі ішемічні інфаркти, внутрішньомозкові крововиливи, тромбоз синусів. Морфологічну картину ішемічного інсульту виявлено у 15,38 % випадків із супутніми цукровим діабетом і гіпертонічною хворобою, у 22,22 % – із супутніми цукровим діабетом, ожирінням і гіпертонічною хворобою порівняно з окремими випадками інсульту (7,50 %), коли виявлено тільки супутню гіпертонічну хворобу ($p < 0,05$). Щодо геморагічних інсультів, то під час нашого дослідження такі випадки рідкі, ніж випадки гострого ішемічного інсульту. Ці дані збігаються із відомостями наукової літератури [40].

Прояви з боку ЦНС встановлено у хворих із тяжким перебігом COVID-19, вони оцінені як несприятливий прогностичний показник. Гіперкоагуляція разом з ендотеліальним запаленням є основою артеріального та венозного тромбозу, пов'язаного з COVID-19 [40]. Морфологічні ознаки гіпоксично-ішемічної енцефалопатії (залежно від ступеня та тривалості гіпоксії та ішемії, супутньої патології) включали дегенерацію нейронів, особливо в чутливих до гіпоксії ділянках мозку (кора, гіпокамп і мозочок), збільшення кількості двоядерних нейронів (як нейропротекторний ефект адаптації до гіпоксії), астрогліоз та активацію мікроглії.

Встановлено достовірне переважання дегенеративно змінених нейронів у пацієнтів із супутніми цукровим діабетом і гіпертонічною хворобою, тривалим перебуванням у відділеннях інтенсивної терапії на керованій вентиляції легень і неінвазивній вентиляції з позитивним тиском порівняно з випадками з ізо-

льованою супутньою патологією і короткотривалим перебуванням у стаціонарі ($p < 0,05$).

Високий ступінь астрогліозу зафіксовано у разі гострого гіпоксично-ішемічного пошкодження головного мозку з дистрофією та частковою втратою нейронів, біля ділянок енцефаломалії, внутрішньомозкового крововилив, коли в пацієнтів діагностовано коморбідну патологію (цукровий діабет, порушення ліпідного обміну, артеріальна гіпертензія) порівняно з випадками з ізольованою супутньою патологією ($p < 0,05$).

Отже, за результатами дослідження, ураження ЦНС у госпіталізованих пацієнтів з інфекцією SARS-CoV-2 асоціювалися зі старшим віком, тяжкістю захворювання і супутньою патологією. За даними історій хвороби та гістопатологічних досліджень, енцефалопатія, пов'язана з COVID-19, – поширений прояв з боку ЦНС, проте нейроваскулярні події, як-от інсульт, тромбоз венозного синуса та внутрішньомозкові крововиливи, діагностовано у разі тяжкого перебігу коронавірусної хвороби, вони були незалежними чинниками ризику внутрішньолікарняної смертності. Крім того, власне інфекція SARS-CoV-2 є незалежним фактором ризику ішемічного інсульту, згідно з результатами дослідження P. Belani et al. [42].

Висновки

1. Супутні захворювання у пацієнтів із COVID-19, як-от цукровий діабет, артеріальна гіпертензія, ожиріння, серцево-судинні захворювання, а також похилий вік становлять більший ризик гіршого прогнозу та смертності. Враховуючи високу поширеність цукрового діабету у світі, ці пацієнти належать до групи ризику щодо інфікування SARS-CoV-2.

2. Поширені нейропатологічні артефакти в головному мозку померлих від COVID-19 включали реактивний астрогліоз при імуністохімічному визначенні астроцитарного маркера GFAP, і виражений астрогліоз зафіксовано у фронтальній корі, базальних ядрах, помірний – у мозочку та верхній, нижній частинах довгастого мозку. Реактивну активацію мікроглії з формуванням мікрогліальних вузликів визначено навколо гіпоксично змінених нейронів, у білій речовині, периваскулярно і в периваскулярних просторах у різних відділах головного мозку та мозочку при імуністохімічному визначенні маркера мікроглії CD68. Інфільтрацію CD3-позитивними клітинами загальної популяції Т-лімфоцитів виявлено периваскулярно, а паренхіматозна інфільтрація рідкісна. Збільшення кількості двоядерних нейронів можна вважати структурною основою нейропротекторних ефектів адаптації до гіпоксії.

3. У разі тяжкого перебігу коронавірусної хвороби з неврологічним дефіцитом нейроваскулярні події супроводжувалися ішемічним інфарктом, тромбозом венозного синуса та внутрішньомозковими крововиливками, визначені як незалежні чинники ризику внутрішньолікарняної смертності.

Перспективи подальших досліджень передбачають кількісне оцінювання астрогліозу (GFAP), мікроглії (CD68), лімфоїдної інфільтрації (CD3) з порівняльною характеристикою в різних відділах головного мозку

померлих від коронавірусної хвороби та контрольної групи, що зіставна за віком і статтю.

Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 23.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 18.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 04.07.2025

Відомості про авторів:

Волос Л. І., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1733-589X

Столяр Г. Л., лікар-патологоанатом, Комунальне некомерційне підприємство Львівської обласної ради «Львівська обласна клінічна лікарня», Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9454-8442

Information about the authors:

Volos L. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Stoliar H. L., MD, Pathologist, Municipal Non-Profit Enterprise of the Lviv Regional Council "Lviv Regional Clinical Hospital", Ukraine.



Лілія Волос (Liliya Volos)
Liliya.volos@gmail.com

References

- Zozulya IS, Kareta SO, Volosovets AO, Zozulya AI, Bigun IJ. [Diagnosis and treatment of persistent viral infection and neuroinfections]. *Ukrainian medychnyi chasopys*. 2019;2(6):1-4. Ukrainian. doi: 10.32471/umj.1680-3051.134.169017
- Bohmwald K, Gálvez NMS, Ríos M, Kalergis AM. Neurologic Alterations Due to Respiratory Virus Infections. *Front Cell Neurosci*. 2018;12:386. doi: 10.3389/fncel.2018.00386
- Wilson ME, Chen LH. Travellers give wings to novel coronavirus (2019-nCoV). *J Travel Med*. 2020;27(2):taaa015. doi: 10.1093/jtm/taaa015
- Khan MS, Khasnabish S, Grosack N, Mathew K, Rajasri M, Stern R, et al. Acute Complications of COVID-19 With Lasting Damages: A Case of Severe Long-Term Sequelae in a Middle-Aged Female Post COVID-19. *Cureus*. 2022;14(5):e24694. doi: 10.7759/cureus.24694
- Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *J Med Virol*. 2021;93(1):250-6. doi: 10.1002/jmv.26232
- de Souza Goncalves B, Sangani D, Nayyar A, Puri R, Irtiza M, Nayyar A, et al. COVID-19-Associated Sepsis: Potential Role of Phytochemicals as Functional Foods and Nutraceuticals. *Int J Mol Sci*. 2024;25(15):8481. doi: 10.3390/ijms25158481
- Vincent JL. COVID-19: it's all about sepsis. *Future Microbiol*. 2021;16:131-3. doi: 10.2217/fmb-2020-0312
- Maiese A, Passaro G, Matteis A, Fazio V, Raffaele R, Paolo MD. Thromboinflammatory response in SARS-CoV-2 sepsis. *Med Leg J*. 2020;88(2):78-80. doi: 10.1177/0025817220926915
- Pezzini A, Padovani A. Lifting the mask on neurological manifestations of COVID-19. *Nat Rev Neurol*. 2020;16(11):636-44. doi: 10.1038/s41582-020-0398-3
- Mishchenko TS, Mishchenko VM. [Neurological complications in patients with COVID-19]. *Psychiatriia, nevrolohiia ta medychna psykholohiia*. 2021;16(2):23-33. Ukrainian. doi: 10.26565/2312-5675-2021-16-03
- Lisaniy MI, Pedachenko EG. COVID-19: infection and neurological complications. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2022;28(1):3-9. doi: 10.25305/unj.243599
- Feshchenko DI, Malyk SL, Shevnia MB. [Headache on the background of coronavirus infection: features of the clinical picture]. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Medicine"*. 2022;45:74-81. Ukrainian. doi: 10.26565/2313-6693-2022-45-08

13. Shmatko YV, Bondar OB, Stepanchenko KA. [Cerebrovascular disorders in patients with COVID-19]. *Mizhnarodnyi medychnyi zhurnal*. 2021;(1):67-72. Ukrainian. doi: [10.37436/2308-5274-2021-1-12](https://doi.org/10.37436/2308-5274-2021-1-12)
14. Aliberti A, Gasparro R, Mignogna M, Canfora F, Spagnuolo G, Sammartino G, et al. Unveiling the Oral Lesions, Dysgeusia and Osteonecrosis Related to COVID-19: A Comprehensive Systematic Review. *J Clin Med*. 2025;14(4):1267. doi: [10.3390/jcm14041267](https://doi.org/10.3390/jcm14041267)
15. Favas TT, Dev P, Chaurasia RN, Chakravarty K, Mishra R, Joshi D, et al. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of proportions. *Neurol Sci*. 2020;41(12):3437-70. doi: [10.1007/s10072-020-04801-y](https://doi.org/10.1007/s10072-020-04801-y)
16. Sampaio Rocha-Filho PA. Headache associated with COVID-19: Epidemiology, characteristics, pathophysiology, and management. *Headache*. 2022;62(6):650-6. doi: [10.1111/head.14319](https://doi.org/10.1111/head.14319)
17. Siow I, Lee KS, Zhang JJ, Saffari SE, Ng A. Encephalitis as a neurological complication of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of incidence, outcomes, and predictors. *Eur J Neurol*. 2021;28(10):3491-502. doi: [10.1111/ene.14913](https://doi.org/10.1111/ene.14913)
18. Zamani R, Pourmamali R, Rezaei N. Central neuroinflammation in Covid-19: a systematic review of 182 cases with encephalitis, acute disseminated encephalomyelitis, and necrotizing encephalopathies. *Rev Neurosci*. 2021;33(4):397-412. doi: [10.1515/revneuro-2021-0082](https://doi.org/10.1515/revneuro-2021-0082)
19. Ziablitsev DS, Kozyk M, Strubchevska K, Dyadyk OO, Ziablitsev SV. Lung Expression of Macrophage Markers CD68 and CD163, Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2), and Caspase-3 in COVID-19. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(4):714. doi: [10.3390/medicina59040714](https://doi.org/10.3390/medicina59040714)
20. Kuzky J, Gavriljuk O, Semko M, Ribun B, Arefyeva A. COVID-19 pulmonary pathology: a multi-institutional autopsy cohort from Lviv and Lviv Region. *Proc Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 2022;69(2):29-39. doi: [10.25040/ntsh2022.02.02](https://doi.org/10.25040/ntsh2022.02.02)
21. Wang B, Li R, Lu Z, Huang Y. Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(7):6049-57. doi: [10.18632/aging.103000](https://doi.org/10.18632/aging.103000)
22. Sanyaolu A, Okorie C, Marinkovic A, Patidar R, Younis K, Desai P, et al. Comorbidity and its Impact on Patients with COVID-19. *SN Compr Clin Med*. 2020;2(8):1069-76. doi: [10.1007/s42399-020-00363-4](https://doi.org/10.1007/s42399-020-00363-4)
23. Stirling JW, Woods AE. Resin (plastic) embedding for microscopy and tissue analysis. In: *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. Elsevier; 2019. p. 96-113. doi: [10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6)
24. Liskina IV, Oleksynska OO, Kuzovkova SD, Zagaba LM. [Histological study of the localization, volume and "age" of fibrin masses in the course of pulmonary tuberculosis with different activity of the specific inflammatory process]. *Bulletin of Morphology*. 2015;21(1):91-5. Ukrainian. Available from: <https://morphology-journal.com/index.php/journal/article/download/107/104>
25. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019;1897:289-98. doi: [10.1007/978-1-4939-8935-5_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25)
26. Nguyen T, editor. *Immunohistochemistry: A technical guide to current practices*. Cambridge, England: Cambridge University Press; 2022.
27. COVID-19 cases [Internet]. Datadot. [cited 2025 Sept 6]. Available from: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>
28. Dallavalasa S, Tulimilli SV, Prakash J, Ramachandra R, Madhunapantula SV, Veeranna RP. COVID-19: Diabetes Perspective-Pathophysiology and Management. *Pathogens*. 2023;12(2):184. doi: [10.3390/pathogens12020184](https://doi.org/10.3390/pathogens12020184)
29. Hanganu AR, Niculae CM, Dulămea AO, Moisă E, Constantin R, Neagu G, et al. The outcome and risk factors associated with central and peripheral nervous system involvement in hospitalized COVID-19 patients: a retrospective cohort study. *Front Neurol*. 2024;14:1338593. doi: [10.3389/fneur.2023.1338593](https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1338593)
30. Mueller AL, McNamara MS, Sinclair DA. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? *Aging (Albany NY)*. 2020;12(10):9959-81. doi: [10.18632/aging.103344](https://doi.org/10.18632/aging.103344)
31. Nersesjan V, Amiri M, Lebech AM, Roed C, Mens H, Russell L, et al. Central and peripheral nervous system complications of COVID-19: a prospective tertiary center cohort with 3-month follow-up. *J Neurol*. 2021;268(9):3086-104. doi: [10.1007/s00415-020-10380-x](https://doi.org/10.1007/s00415-020-10380-x)
32. Ousseiran ZH, Fares Y, Chamoun WT. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review and detailed comprehension. *Int J Neurosci*. 2023;133(7):754-69. doi: [10.1080/00207454.2021.1973000](https://doi.org/10.1080/00207454.2021.1973000)
33. Chernii VI, Chernii TV, Fokina DO. *Nevrolohichni proiavy Long-COVID. Pryntsyty likuvannia. Metodychni rekomendatsii* [Neurological manifestations of Long-COVID. Principles of treatment. Methodological recommendations]. Kyiv: DNU "Naukovo-praktychnyi tsentr profilaktychnoi ta klinichnoi medytyny"; 2022. Ukrainian.
34. Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B. The Role of Neuropilin-1 (NRP-1) in SARS-CoV-2 Infection: Review. *J Clin Med*. 2021;10(13):2772. doi: [10.3390/jcm10132772](https://doi.org/10.3390/jcm10132772)
35. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-62. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3). Erratum in: *Lancet*. 2020;395(10229):1038. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30606-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30606-1). Erratum in: *Lancet*. 2020;395(10229):1038. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30638-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30638-3)
36. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*. 2020;77(6):683-90. doi: [10.1001/jamaneurol.2020.1127](https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127)
37. Harapan BN, Yoo HJ. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19). *J Neurol*. 2021;268(9):3059-71. doi: [10.1007/s00415-021-10406-y](https://doi.org/10.1007/s00415-021-10406-y)
38. Dziak L, Tsurkalenko O, Chekha K, Suk V. [Modern Aspects of Neuropathogenesis and Neurological Manifestations of COVID-19]. *International Neurological Journal*. 2021;17(2):6-15. Ukrainian. doi: [10.22141/2224-0713.17.2.2021.229887](https://doi.org/10.22141/2224-0713.17.2.2021.229887)
39. Fernández-de-Las-Peñas C, Navarro-Santana M, Gómez-Mayor-domo V, Cuadrado ML, García-Azorín D, Arendt-Nielsen L, et al. Headache as an acute and post-COVID-19 symptom in COVID-19 survivors: A meta-analysis of the current literature. *Eur J Neurol*. 2021;28(11):3820-5. doi: [10.1111/ene.15040](https://doi.org/10.1111/ene.15040)
40. Nannoni S, de Groot R, Bell S, Markus HS. Stroke in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Int J Stroke*. 2021;16(2):137-49. doi: [10.1177/1747493020972922](https://doi.org/10.1177/1747493020972922)
41. Volos L, Stoliar H, Mykhaylichenko T. Pathomorphological changes of the brain in patients with COVID-19. *J Neurol Sci*. 2021;429:119837. doi: [10.1016/j.jns.2021.119837](https://doi.org/10.1016/j.jns.2021.119837)
42. Belani P, Schefflein J, Kihira S, Rigney B, Delman BN, Mahmoudi K, et al. COVID-19 Is an Independent Risk Factor for Acute Ischemic Stroke. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2020;41(8):1361-4. doi: [10.3174/ajnr.A6650](https://doi.org/10.3174/ajnr.A6650)

Content of micro- and macroelements in patients with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism

V. I. Kravchenko^{id A-F}, T. F. Zakharchenko^{id A,B,C,D}, O. V. Rakov^{id B}, K. Yu. Ivaskiva^{id B}, O. I. Kovzun^{id E,F}

State Institution "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

Aim. To investigate the content of iodine (I), selenium (Se), zinc (Zn), magnesium (Mg), calcium (Ca) and vitamin D, the thyroid volume and thyroid functional state in patients with autoimmune thyroiditis (AIT) and subclinical hypothyroidism (SCH), to assess the elemental supply, possibilities and feasibility of preventive and therapeutic use of micro- and macronutrients in the early stages of the disease.

Materials and methods. 134 people were examined (13 men, 121 women). Within the entire sample, 2 groups were formed depending on the presence of functional and laboratory signs of the disease: 1st – control group consisted of 53 healthy individuals without endocrine pathology, average age – 37.9 ± 11.8 years, of which 8 were men (15.10 %), and 2nd group with AIT and SCH – 81 people, average age – 40.0 ± 11.1 years, of which 5 were men (6.17 %). Anthropometric parameters were determined: age, sex, height, weight, body mass index; thyroid functional state: total thyroid volume, concentration of thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4), free triiodothyronine (fT3), level of antibodies to thyroid peroxidase (TPOAb), level of antibodies to thyroglobulin (TgAb); level of micro- and macroelement: I in urine, Se, Mg, Ca, vitamin D in serum.

Results. In the group with AIT and SCH, a significant ($p < 0.001$) increase in thyroid volume, TSH, TPOAb and TgAb levels and a significant decrease in thyroid hormones fT4 ($p = 0.008$), fT3 ($p < 0.001$) were found compared to the control group. In both groups, a slight iodine deficiency in the urine and a deficiency of vitamin D in the serum compared to reference values were noted. In the group of patients with AIT and SCH, a significant decrease in Se ($p = 0.016$), Mg ($p < 0.001$) and total Ca ($p < 0.001$) was found compared to the control. A pronounced positive correlation of Se / I ($r = 0.691$) was found. The statistically significant Odds ratio of AIT progression and overt hypothyroidism with reduced Mg content is OR = 2.80 (95 % CI 1.29–6.09, $p = 0.0094$), with reduced Ca content – OR = 7.68 (95 % CI 2.77–21.30, $p = 0.0001$).

Conclusions. The group with AIT and SCH and the control group have a weak iodine deficiency in the urine and vitamin D deficiency in the blood serum compared to normal reference values, which indicates a general population deficiency. In the group of patients with AIT and SCH, a significant decrease in serum Se, Mg and total Ca was found compared to the control. A significant positive correlation Se / I ($r = 0.691$) indicates the relationship of these trace elements and confirms their combined effect on the development of autoimmune disorders and thyroid hormonal changes. A high risk of progression of AIT and overt hypothyroidism exists with reduced Mg and Ca content.

Keywords:

autoimmune thyroiditis, subclinical hypothyroidism, microelements, macroelements, ioduria, Se, Mg, Ca, vitamin D.

Pathologia.

2025;22(2):127-133

Вміст мікро- та макроелементів у пацієнтів з автоімунним тиреоїдитом і субклінічним гіпотиреозом

В. І. Кравченко, Т. Ф. Захарченко, О. В. Раков, К. Ю. Іваськіва, О. І. Ковзун

Мета роботи – дослідити вміст йоду (I), селену (Se), цинку (Zn), магнію (Mg), кальцію (Ca) та вітаміну D, об'єм та функціональний стан щитоподібної залози (ЩЗ) у пацієнтів з автоімунним тиреоїдитом (AIT) та субклінічним гіпотиреозом (СКГ), оцінити елементне забезпечення, можливості та доцільність превентивного та лікувального застосування мікро- та макронутрієнтів на ранніх етапах захворювання.

Матеріали і методи. Обстежили 134 осіб: 13 чоловіків і 121 жінку. У межах вибірки сформовано дві групи залежно від наявності функціональних і лабораторних ознак захворювання: до 1 (контрольної) групи залучено 53 здорових осіб без ендокринної патології, середній вік – $37,9 \pm 11,8$ року, із них 8 чоловіків (15,10 %), до 2 групи – 81 хворого на автоімунний тиреоїдит і субклінічний гіпотиреоз, середній вік – $40,0 \pm 11,1$ року, із них 5 чоловіків (6,17 %). Визначено такі антропометричні показники, як вік, стать, зріст, маса тіла, обраховано індекс маси тіла. Оцінили функціональний стан ЩЗ, зокрема визначили її сумарний об'єм, концентрацію тиреотропного гормону (ТТГ), вільного тироксину (вТ4), вільного трийодтироніну (вТ3), рівень антитіл до тиреопероксидази (ТРОАб), рівень антитіл до тиреоглобуліну (ТгАб), а також рівень мікро- та макроелементів (I в сечі, Se, Mg, Ca, вітаміну D у сироватці крові).

Результати. У групі пацієнтів з AIT і СКГ визначено істотне ($p < 0,001$) збільшення об'єму ЩЗ, рівня ТТГ, ТРОАб та ТгАб та істотне зниження тиреоїдних гормонів fT4 ($p = 0,008$), fT3 ($p < 0,001$) порівняно з відповідними показниками контрольної групи. В обстежених з обох груп виявлено слабкий йододефіцит у сечі та недостатність вітаміну D у сироватці крові порівняно з референтними значеннями. У групі пацієнтів з AIT і СКГ встановили значне зниження Se ($p = 0,016$), Mg ($p < 0,001$) та загального Ca ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Виявили виражену позитивну кореляцію

Ключові слова:

автоімунний тиреоїдит, субклінічний гіпотиреоз, мікроелементи, макроелементи, йодурія, Se, Mg, Ca, вітамін D.

Патологія. 2025.

Т. 22, № 2(64).

С. 127-133

Se / I ($r = 0,691$). Статистично вірогідне співвідношення шансів прогресії АІТ та явного гіпотиреозу на фоні зниженої концентрації Mg становить $OR = 2,80$ (95 % CI 1,29–6,09, $p = 0,0094$), на фоні зменшеного вмісту Ca – $OR = 7,68$ (95 % CI 2,77–21,30, $p = 0,0001$).

Висновки. Обстежені з групи АІТ і СКГ, як і з контрольної, мають слабкий йоддефіцит у сечі та недостатність вітаміну D у сироватці крові порівняно з нормальними показниками; це свідчить про загальну популяційну недостатність. У групі пацієнтів з АІТ і СКГ встановлено істотне зниження в сироватці крові Se, Mg і загального Ca порівняно з контролем. Значна позитивна кореляція Se / I ($r = 0,691$) підтверджує взаємозв'язок цих мікроелементів і їхній поєднаний вплив на розвиток аутоімунних порушень і гормональних змін у ЩЗ. Високий ризик прогресії АІТ та явного гіпотиреозу визначено у разі зниженого вмісту Mg і Ca.

Autoimmune thyroiditis / Hashimoto's thyroiditis (AIT / HT) is one of the most common pathologies among endocrine diseases and is the most common cause of hypothyroidism. Autoimmune thyroiditis begins asymptotically, is associated with damage to thyrocytes, and the synthesis of autoantibodies is the final stage of the immune response to the autoantigens TPO (thyroid peroxidase) and Tg (thyroglobulin). The prevalence of thyroid antibodies – TPOAb (11.3 %) and TgAb (2.0 %) in euthyroid subjects was observed in 15.3 % of individuals [1]. Over time, latent AIT progresses to subclinical and manifest thyroiditis with hypothyroidism. Subclinical hypothyroidism (SCH) is a persistent increase in the level of thyroid-stimulating hormone (TSH) with normal values of thyroid hormones (TG). Subclinical hypothyroidism is relatively common disorder, and most population studies have demonstrated a prevalence of approximately 5–10 % of the population [2]. In Ukraine, the incidence of AIT in the population is 43.1 cases per 100 thousand population, the prevalence is almost 10 times higher (421.2 cases per 100 thousand population) [3].

The implementation of genetic factors of autoimmune thyroid diseases (AITD) depends on various environmental influences, such as stress, smoking, bacterial and viral infections, chemical pollutants, and dietary iodine [4]. The autoimmune process in the thyroid is closely associated with oxidative stress (OS), a process that damages cellular structures, including lipids and membranes, proteins, and DNA [5]. Excessive formation reactive oxygen species (ROS) are involved in various stages of the pathogenesis of thyroid diseases and even endemic goiter [6].

As external factors, trace elements in appropriate concentrations are necessary for the proper functioning of the thyroid gland. Iodine (I), selenium (Se), zinc (Zn), iron (Fe), copper (Cu), manganese (Mn) are part of enzymes involved in the reduction of OS [7,8].

Iodine deficiency in nutrition is a global problem that affects all segments of the population and exists in many countries around the world [9]. Iodine is needed for the synthesis of TG, and I deficiency leads to insufficient production of thyroxine and related thyroid diseases [10]. Iodine deficiency in the thyroid causes an increase in the content of ROS, which is formed from hydrogen peroxide, which is involved in the synthesis TG [11]. Insufficient I intake ($<100 \mu\text{g/L}$) is associated with an increased incidence of thyroid nodules [12]. Both deficiency and excess I intake can serve as risk factors for thyroid diseases. Excessive I intake in the population due to poorly controlled iodine prophylaxis programs can cause euthyroid or subclinical hypothyroid AIT [13]. In regions with excess I intake, an increased incidence

of AIT is observed, characterized by high TPOAb and TgAb titers [14].

Iodine and Se play a key role in the development of AITD. Selenium is a component of deiodinases, enzymes responsible for homeostasis and control of TG activity. Se deficiency reduces the expression and activity of antioxidant enzymes [7]. Selenoproteins prevent excessive ROS formation, which can lead to thyroiditis or chronic inflammation. Epidemiological data indicate the prevalence of thyroiditis in Se deficiency [15]. Although some authors did not note the relationship between the prevalence of HT and Se content [16].

Zinc is involved in TG metabolism by regulating the activity of deiodinases, TRH (thyrotropin releasing hormone) and TSH, and by modulating the structures of key transcription factors involved in TG synthesis [17]. There is a relationship between Zn deficiency and TG levels [18]. Zn acts as an antioxidant by inhibiting DNA / RNA and protein oxidation, as well as the inflammatory response, which leads to a decrease in ROS production [19].

Altered Ca^{2+} regulation in lymphocytes, which disrupts the control of metabolism, proliferation, differentiation, antibody secretion, cytokines and cell cytotoxicity, leads to autoimmune and inflammatory diseases [20]. Intracellular mitochondrial Ca^{2+} is a key regulator of cell apoptosis. Ca^{2+} uptake and mitochondrial metabolism underlie the survival of Treg cells under OS conditions [21]. Ca^{2+} signaling activates the proliferation and survival of B lymphocytes that produce autoantibodies [22]. The main mechanism of increased intracellular Ca^{2+} is the deficiency of intracellular Mg^{2+} , which can cause immunodeficiency, increased acute inflammatory response, decreased antioxidant response and OS. Magnesium regulates the balance of Ca and phosphorus (P) through its effect on vitamin D [23].

The active metabolite of vitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), in addition to its main function in the body – maintaining Ca and P homeostasis, performs a number of non-classical effects, including reducing OS, antimicrobial protection, anti-inflammatory effect [24]. Vitamin D affects innate and adaptive immunity and may have an immunomodulatory effect on AIT [25].

Treatment of patients with AIT associated with SCH remains controversial today, most patients are under observation without treatment [26]. Treatment is recommended to start with levothyroxine (L-T4) with a serum TSH level $\geq 10 \text{ mIU/L}$, as this TSH level is associated with an increased incidence of cardiovascular events and cardiovascular mortality [27]. Therefore, it is important to understand the factors that influence the immune system in patients with AIT associated with SCH.

Aim

To investigate the content of iodine, selenium, zinc, magnesium, calcium and vitamin D, the thyroid volume and thyroid functional state in patients with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism, to assess the elemental supply, the possibilities and feasibility of preventive and therapeutic use of micro- and macronutrients in the early stages of the disease.

Materials and methods

An open randomized controlled study was conducted to assess the content of micro- and macronutrients, the thyroid volume and thyroid functional indicators in a group of patients with AIT and SCH. The study protocol was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Committee of the State Institution "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" (Protocol No 43/1-KE dated 06/06/2022). All subjects provided informed consent.

134 subjects (13 men, 121 women) were examined. Within the entire sample, 2 groups were formed depending on the presence of functional and laboratory signs of the disease: the 1st – control group consisted of 53 healthy individuals without endocrine pathology, average age – 37.9 ± 11.8 years, of which 8 were men (15.10 %), and the 2nd group with AIT and SCH – 81 people, average age – 40.0 ± 11.1 years, of which 5 were men (6.17 %). Anthropometric indicators were determined: age, sex, height, weight, and body mass index (BMI) was calculated.

Thyroid functional state: concentration of thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4), free triiodothyronine (fT3); immunological indicators: level of antibodies to thyroid peroxidase (TPOAb), level of antibodies to thyroglobulin (TgAb), level of vitamin D in blood serum – were determined on the Cobas e 411 analyzer ("Roche Diagnostics", Germany). The total thyroid volume was determined by the Brunn method (Terason 2000 scanner with a linear sensor with a frequency of 10 MHz ("Terason Ultrasound", USA).

The concentration of I in the urine was determined by the cerium-arsenite Sandell–Kolthoff method modified by J. T. Dunn et al. on a UV-1280 spectrophotometer ("Shimadzu", Japan). The method for determining ioduria undergoes external quality control at the Center for Disease Control and Prevention (CDC) in Atlanta (USA). The Se content in serum was determined by the fluorometric method ("Hitachi MPF-4" spectrofluorometer) after acid mineralization, conjugation with 2,3-diaminonaphthene and extraction from acidic aqueous solutions with cyclohexane. The content of Mg, Ca in blood serum was determined photometrically using the Cobas 6000 C501 analyzer ("Roche Diagnostics", Switzerland). The content Zn in blood serum was determined by atomic absorption spectrometry (spectrometer "Labor Berlin", Germany). In regions with sufficient I content, the maximum range of reference values for thyroid volume by sex and body area is $4.25\text{--}20.98\text{ cm}^3$ for men and $3.44\text{--}18.31\text{ cm}^3$ for women. Reference values for serum TSH are 0.27–4.20 mIU/L, fT4 – 0.93–1.71 ng/dl, fT3 – 2.02–4.43 pg/ml, TPOAb

– up to 34 IU/ml, TgAb – up to 115 IU/ml. Reference values for I in urine – 100.0–200.0 µg/L, Se in serum – 60–120 µg/L, vitamin D (25(OH)D) in serum in adults 30.0–50.0 ng/ml, Zn in serum – 70.0–150 µg/dl, total Mg in serum – 0.66–1.07 mmol/L at the age of 18–60, total Ca in serum – 2.15–2.5 mmol/L at the age of 18–60.

Statistical analysis was performed using the statistical software MedStat and MedCalc Software Ltd. To check the law of distribution of quantitative data, the Shapiro–Wilk test was used. For data with a normal distribution, the arithmetic mean with standard deviation was calculated. In the case of a non-normal distribution, the median (Me) and interquartile range (QI; QIII) were used. Comparisons were performed using the Student's test or the Wilcoxon W-test, respectively. In all tests, the value $p < 0.05$ was considered significant. To assess the relationships between the indicators, Pearson's correlation coefficient was applied for normally distributed variables, while Spearman's rank correlation was used for non-normally distributed ones. The calculation of the risk of AIT and SCH in the groups was carried out with the determination of the Odds ratio, confidence interval, significance level (OR, 95 % CI, p).

Results

A comparative study of anthropometric indicators and thyroid function in the group of patients with AIT and SCH revealed a significant ($p < 0.001$) increase in thyroid volume, TSH level and a significant decrease in thyroid hormones fT4 ($p = 0.008$), fT3 ($p < 0.001$) compared to the control group. Although the medians of thyroid hormones in the study group were at the lower limit of the reference norm. In the group of patients with AIT and SCH, a significant ($p < 0.001$) increase in TPOAb and TgAb titers was recorded compared to the control. In terms of age and BMI, both groups did not differ statistically (Table 1).

The study of thyroid dimensions showed that in the control group as a whole, the mean value ($M \pm SD$) of the thyroid volume was $10.9 \pm 3.2\text{ cm}^3$. In the majority of the examined women in this group ($n = 45$), the thyroid volume was $10.95 \pm 3.2\text{ cm}^3$. In men ($n = 8$), the thyroid volume was $10.87 \pm 3.5\text{ cm}^3$. That is, the thyroid volume in women and men of the control group did not differ ($p = 0.952$). In the research group (AIT with SCH), the mean value ($M \pm SD$) of the thyroid volume was larger ($p < 0.001$) and was $24.7 \pm 11.3\text{ cm}^3$. This group also had a predominance of women ($n = 76$) and the thyroid volume was $24.8 \pm 11.4\text{ cm}^3$. In men ($n = 5$), the thyroid volume was $23.8 \pm 10.8\text{ cm}^3$, indicating no ($p = 0.850$) difference depending on sex, despite some differences in the reference values of thyroid volume ($4.25\text{--}20.98\text{ cm}^3$ for men and $3.44\text{--}18.31\text{ cm}^3$ for women).

It should be noted that the study group (AIT and SCH) consisted of patients who had positive TPOAb (100 %) and TgAb (60 %). Among them, 59 patients (72.8 %) had signs of SCH – elevated TSH and normal TG levels, the remaining 22 patients (27.2 %) had elevated TSH and TG levels at the lower limit of reference values or decreased. In most patients in research group (76.5 %), the thyroid volume exceeded the upper limits of the reference value for men and women.

Table 1. Anthropometric and thyroid parameters in patients in the control group and in the group with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism

Indicator, units of measurement	Control group (1st), n = 53	Research group (2nd), n = 81	p
Age, years	37.9 ± 11.8	40.0 ± 11.1	0.282
BMI, kg/m ²	25.5 ± 4.0	25.5 ± 3.8	0.992
Thyroid volume, cm ³	10.9 ± 3.2	24.7 ± 11.3	<0.001
TSH, mIU/L	1.38 (0.9; 2.1)	6.54 (5.2; 8.1)	<0.001
fT4, ng/dl	1.22 (1.01; 1.46)	1.08 (0.99; 1.24)	0.008
fT3, pg/ml	3.24 (2.98; 3.60)	2.99 (2.14; 3.19)	<0.001
TPOAb, IU/ml	7.1 (1.9; 11.7)	270.0 (164.0; 410.0)	<0.001
TgAb, IU/ml	14.0 (0.0; 57.5)	155.0 (89.0; 250.0)	<0.001

Mean values with standard deviation and medians with interquartile ranges (Q1; Q3) are presented. Comparisons were made using Student's t-test or Wilcoxon's W-test.

Table 2. Content of micro- and macroelements in the blood serum of patients in the control group and the group with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism

Indicator, units of measurement	Control group (1st), n = 53	Research group (2nd), n = 81	p
Urine iodine, µg/L	84.0 (69.0; 120.5)	82.0 (69.8; 112.0)	0.667
Selenium, µg/L	75.0 (62.0; 85.1)	67.0 (53.0; 78.0)	0.016
Zinc, µg/dl	82.6 (72.0; 90.1)	79.0 (75.0; 86.0)	0.288
Magnesium, mmol/L	0.76 (0.14)	0.66 (0.01)	<0.001
Calcium, mmol/L	2.30 (2.21; 2.38)	2.18 (2.01; 2.33)	<0.001
25(OH)D, ng/ml	28.4 (9.8)	26.0 (7.2)	0.150

Mean values with standard deviation and medians with interquartile ranges (Q1; Q3) are presented. Comparisons were made using the Student's test or Wilcoxon's W-test.

The study of micro- and macronutrient content revealed mild iodine deficiency compared to the normal reference value (100–200 µg/L) and vitamin D (25(OH)D) deficiency in serum compared to the normal reference value (30.0–50.0 ng/ml) in both the control and experimental groups. The level of other elements was also at the lower limit of the reference values in both groups. In the group of patients with AIT and SCH, a significant decrease in serum Se ($p = 0.016$), Mg ($p < 0.001$) and total Ca ($p < 0.001$) was found compared to the control (Table 2).

To determine diagnostic markers of the disease, correlation studies of micro- and macronutrients, thyroid status indicators in the groups of subjects were conducted. In the control group, Pearson's linear correlation studies revealed a strong positive relationship between thyroid volume and TSH level ($r = 0.979$) and a negative relationship between Se and TgAb ($r = -0.429$), as well as between I and TgAb ($r = -0.410$). Correlation analysis (Spearman's rank correlation) of the parameters in the group of patients with AIT and SCH revealed the expected significant positive correlation between thyroid parameters – thyroid volume / TPOAb ($r = 0.675$), thyroid volume / TgAb ($r = 0.525$), TPOAb / TgAb ($r = 0.551$) and a negative correlation between TSH and thyroid hormones – TSH / fT4 ($r = -0.472$), TSH / fT3 ($r = -0.491$). Regarding micro- and macroelements in the studied group, a pronounced positive correlation Se / I ($r = 0.691$) and moderate positive and negative correlations between different elements were established (Table 3).

To assess the risk of onset and progression of AIT with SCH and AIT with overt hypothyroidism with reduced micro- and macronutrient content, the Odds ratio (OR) and

confidence intervals (95 % CI) of the study groups were calculated. It was found that the risk of progression of AIT and overt hypothyroidism is significant ($p = 0.0094$) with reduced (<0.66 – 1.07 mmol/L) Mg content (OR = 2.80; 95 % CI 1.29–6.09), and also significant ($p = 0.0001$) with reduced (<2.15 – 2.50 mmol/L) Ca content (OR = 7.68; 95 % CI 2.77–21.30) in serum (Table 4).

Discussion

The results of the study of the group of patients with AIT and SCH revealed a significant increase in the mean value of the thyroid volume, TSH level, TPOAb and TgAb titer and a significant decrease in the median of the thyroid hormones fT4, fT3 (within the lower reference range) compared to the control, which indicates the presence of SCH, activation of the autoimmune process in the thyroid gland. Both in the control and in the AIT and SCH groups, a mild degree of iodine deficiency was found compared to the normal reference value (100–200 µg/L), which indicates a general population iodine deficiency.

Our results on the increase in thyroid volume, TSH level with a decrease in the concentration of I in urine and Se in serum in patients with AIT and SCH are consistent with studies that have shown that insufficient I intake (<100 µg/L) is associated with an increased frequency of thyroid nodules and autoimmune pathology [12]. Iodine deficiency is considered to be much more harmful than excess I, as it affects entire populations, while excess I affects only a small percentage of individuals susceptible to AITD, as it can impair thyroid function through OS [28]. The possible early increase in thyroid antibodies after I consumption is mostly transient, varies between populations under the influence of genetic and environmental factors, and does not always coincide with the presence or subsequent development of AITD. The use of I supplements in the general population should not be limited by the possible increase in the prevalence of AITD. I consumption at a concentration not exceeding 300 µg/L is safe and outweighs the risk of autoimmune disorders [29].

The study of correlations between the content of micro- and macroelements, thyroid status indicators revealed in the group of patients with AIT and SCH the expected significant positive correlation between thyroid indicators – thyroid volume / TPOAb, thyroid volume / TgAb, TPOAb / TgAb and a negative correlation between TSH and thyroid hormones – TSH / fT4, TSH / fT3. The results of the study established a negative relationship between Se / TgAb and I / TgAb in both studied groups, which indicates the significance of the deficiency of these essential microelements in the occurrence and development of AIT with SCH.

In the group of patients with AIT and SCH, a significant decrease in serum Se, Mg and total Ca was found compared to the control. The level of other elements is at the lower limit of reference values in both groups. In the study group, a strong positive correlation of Se / I and moderate positive and negative correlations between different elements were noted, in particular – a positive relationship of Zn with I, Se, Mg, Ca. The positive correlation of Se / I in the AIT and SCH group indicates the relationship of these trace elements and confirms their combined effect on the

development of autoimmune disorders and hormonal changes in the thyroid. The ratio of trace elements, in particular Se / I, can be considered a diagnostic marker of AIT with SCH and AIT with hypothyroidism.

Other researchers have also reported on the reduced content of micro- and macroelements in SCH, hypothyroidism and AIT, as well as ways to compensate for their deficiency and influence on pathophysiological processes. Thus, insufficient Se intake increases susceptibility to thyroid diseases associated with OS [30]. Se supplementation in patients with euthyroid, subclinical or overt hypothyroid HT not only reduces the level of thyroid autoantibodies, TSH, fT4 / fT3, but also reduces OS and inflammatory state, and improves the structure and thyroid volume [12,31]. The use of microelements Se and Zn has been proposed to reduce oxidative thyroid damage in HT [12,32].

The results of the study of the content of micro- and macroelements in the group of patients with AIT and SCH correspond to the study of patients with latent AIT with high titer. Significantly lower serum concentrations of Mg and Fe were in HT patients with positive TPOAb and TgAb [33]. Lower serum Ca and higher serum P levels have been reported in hypothyroidism compared with SCH [34]. In patients with hypothyroidism, mean serum Ca and Mg levels are decreased, while serum P levels are increased. A statistically significant negative correlation between Ca, Mg, and TSH was observed among hypothyroidism cases [35]. The calculation of Odds ratios (OR) and confidence intervals (95 % CI) of the study groups revealed a significant risk of progression to AIT and overt hypothyroidism with decreased (<0.66–1.07 mmol/L) Mg content (OR = 2.80; 95 % CI 1.29–6.09) and with decreased (<2.15–2.50 mmol/L) Ca content (OR = 7.68; 95 % CI 2.77–21.30) in serum. A similar prediction has been made in studies by other authors. Thus, very low serum Mg levels are associated with an increased risk of TgAb, HT, and hypothyroidism. The risks of SCH and hypothyroidism in the group with the lowest Mg level (≤ 0.55 mmol/L) were higher than in the group with normal Mg levels [36].

The literature on the relationship between vitamin D levels and AITD is somewhat contradictory. The mechanisms of vitamin D's effect on AITD are still unknown, but may be related to its anti-inflammatory and immunomodulatory properties [25]. There is a study that failed to find a relationship between vitamin D deficiency and a higher prevalence of HT [37]. No effect of vitamin D on the levels of TSH, fT3, and fT4 hormones was found [38]. This ambiguity regarding the relationship between vitamin D and TSH, TG, and the prevalence of HT is likely due to the fact that susceptibility to AITD may be influenced by polymorphisms in some vitamin D-related enzymes and proteins, such as CYP28B1, CYP2R1, CYP24A1, VDBP, and VDR [39].

The data obtained in our study showed that both the control and AIT and SCH groups had a deficiency of 25(OH)D in serum compared to the normal reference value (30.0–50.0 ng/ml), indicating a deficiency of vitamin D at the population level. The results of our study on the level of 25(OH)D in serum were confirmed by the works of scientists who believe that the population needs to main-

Table 3. Correlation coefficients of the content of micro- and macroelements, indicators of thyroid status in the groups of examined

Correlation between indicators	Control group		Research group	
	r (Pearson)	p	r (Spearman)	p
Thyroid volume / TSH	0.979	<0.001	–	–
Thyroid volume / TPOAb	–	–	0.675	<0.001
Thyroid volume / TgAb	–	–	0.525	<0.001
TSH / fT4	–	–	-0.472	<0.01
TSH / fT3	–	–	-0.491	<0.01
TPOAb / TgAb	–	–	0.551	<0.001
Se / TgAb	-0.429	<0.01	-0.239	<0.05
Se / I	–	–	0.691	<0.001
Se / Zn	–	–	0.317	<0.05
Se / 25(OH)D	–	–	0.273	<0.05
I / TgAb	-0.410	<0.01	-0.227	<0.05
I / Zn	–	–	0.396	<0.05
I / Mg	–	–	0.227	<0.05
I / 25(OH)D	–	–	0.252	<0.05
Zn / Thyroid volume	0.274	<0.05	–	–
Zn / Mg	–	–	0.246	<0.05
Zn / Ca	–	–	0.349	<0.05
Mg / TSH	0.273	<0.05	–	–
Ca / Thyroid volume	–	–	0.236	<0.05
Ca / 25(OH)D	–	–	0.331	<0.05

Control group: pairwise correlation coefficients (Pearson); **study group:** rank correlation coefficients (Spearman); values of coefficients that differ from 0 ($p < 0.05$) are given; –: the absence of correlation.

Table 4. Calculation of Odds ratio of progression of autoimmune thyroiditis or overt hypothyroidism with reduced content of micro- and macroelements

Micro-, macronutrient	Control group, n	Research group, n	OR (95 % CI)	p
Urine iodine, decreased	31	56	–	–
norm	22	25	1.59 (0.77–3.27)	0.2081
Selenium, decreased	12	30	–	–
norm	41	51	2.01 (0.92–4.41)	0.0816
Zinc, decreased	9	7	–	–
norm	44	74	0.46 (0.16–1.33)	0.1523
Magnesium, decreased	11	36	–	–
norm	42	45	2.80 (1.29–6.09)	0.0094
Calcium, decreased	5	36	–	–
norm	48	45	7.68 (2.77–21.30)	0.0001
25(OH)D, decreased	33	60	–	–
Norm	20	21	1.73 (0.82–3.65)	0.1488

tain 25(OH)D concentrations above 40 ng/ml in the range of 40–80 ng/ml, which is optimal for disease prevention and reducing the severity of various conditions, such as cardiovascular and metabolic diseases, autoimmune diseases, infections and cancer, as well as mortality without side effects [24]. In addition, in patients with HT, reduced levels of vitamin D were found, negatively correlated with TSH and positively with fT3 and fT4 [25,40]. HT is more closely associated with vitamin D deficiency than with its insufficiency. However, additional treatment with cholecalciferol is associated with a decrease in TPOAb and TgAb levels in patients with AITD with both insufficiency and deficiency of vitamin D [11].

According to our data in the AIT and SCH group, vitamin D showed a weak positive relationship with I, Se and Ca, which does not contradict the literature data on the

enhancement of the effect of vitamin D by the use of Se in patients with HT. Thus, daily intake of vitamin D (4000 IU) for 6 months increased the level of 25-hydroxyvitamin D, reduced serum TPOAb and TgAb titers in women with HT. The effect on antibody titers was more pronounced in women with HT who received daily selenomethionine (200 µg) for 12 months before the start of the study [38]. The presence of element deficiencies in AIT patients with SCH, the high risk of SCH transitioning to overt hypothyroidism, and the absence or limited treatment with L-T4 suggest the use of these elements for the prevention of the next stage of AIT with overt hypothyroidism.

Conclusions

1. In the group with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism, a significant ($p < 0.001$) increase in thyroid volume, TSH level, TPOAb and TgAb titer and a significant decrease in thyroid hormones fT4 ($p = 0.008$), fT3 ($p < 0.001$) were found compared to the control group.

2. Mild iodine deficiency in urine and vitamin D deficiency in serum compared to normal reference values were found in the group with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism, as well as in the control group, which indicates a general population deficiency.

3. In the group of patients with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism, a significant decrease in serum Se ($p = 0.016$), Mg ($p < 0.001$) and total Ca ($p < 0.001$) was found compared to the control.

4. The pronounced positive correlation Se / I ($r = 0.691$) indicates the relationship of these trace elements and confirms their combined effect on the development of autoimmune disorders and thyroid hormonal changes.

5. A significant risk of progression of autoimmune thyroiditis and overt hypothyroidism exists with a reduced serum Mg content (OR = 2.80, 95 % CI 1.29–6.09, $p = 0.0094$) and with a reduced Ca content (OR = 7.68, 95 % CI 2.77–21.30, $p = 0.0001$).

Prospects for further research are to continue studying the micro-macronutrient composition in patients with autoimmune thyroiditis and subclinical hypothyroidism. For individuals with insufficiency / deficiency of micro-, macronutrients, changes in functional and sonographic thyroid indicators, to continue studying the possibility and feasibility of prophylactic use of drugs / food supplements to reduce the risk of disease onset and progression.

Funding

The study was conducted within the framework of budget financing according to the research plan of the State Institution "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" on the topic: "Optimize and implement diagnostic, therapeutic and preventive algorithms for providing medical care to patients with diabetes mellitus against the background of systemic stress-induced disorders of the endocrine and immune systems caused by military actions", state registration No. 0123U100933 (2023–2025).

Conflict of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 17.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 18.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 24.06.2025

Information about the authors:

Kravchenko V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Epidemiology of Endocrine Diseases, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0003-0867-2023

Zakharchenko T. F., PhD, Senior Research Fellow, Senior Researcher of Department of Epidemiology of Endocrine Diseases, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0002-4394-8833

Rakov O. V., MD, Doctor-endocrinologist of the Consultative Polyclinic Department, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0002-0563-3961

Ivaskiva K. Yu., MD, PhD, Senior Researcher of the Scientific Advisory Department of Outpatient Preventive Care for Patients with Endocrine Pathology, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0003-1680-4663

Kovzun O. I., PhD, DSc, Professor, Deputy Director for Scientific Affairs, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", Kyiv; Corresponding Member of the NAMS of Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-6906-6636

Відомості про авторів:

Кравченко В. І., д-р мед. наук, професор, зав. відділу епідеміології ендокринних захворювань, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Захарченко Т. Ф., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, відділ епідеміології ендокринних захворювань, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Раков О. В., лікар-ендокринолог консультативно-поліклінічного відділення, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Іваськівка К. Ю., канд. мед. наук, старший науковий співробітник науково-консультативного відділу амбулаторно-профілактичної допомоги хворим з ендокринною патологією, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Ковзун О. І., д-р біол. наук, професор, заступник директора з наукових питань, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ; чл.-кор. НАМН України.



Tamara Zakharchenko (Тамара Захарченко)
zatam@ukr.net

References

- Rodríguez Y, Rojas M, Monsalve DM, Acosta-Ampudia Y, Pacheco Y, Rodríguez-Jiménez M, Ramírez-Santana C, Anaya JM. Latent autoimmune thyroid disease. *J Transl Autoimmun*. 2020;3:100038. doi: 10.1016/j.jtauto.2020.100038
- Yoo WS, Chung HK. Subclinical Hypothyroidism: Prevalence, Health Impact, and Treatment Landscape. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2021;36(3):500-13. doi: 10.3803/EnM.2021.1066
- Kravchenko VI, Tovkay OA, Rakov OV, Tronko MD. [Epidemiology of autoimmune thyroiditis]. *International Journal of Endocrinology (Ukraine)*. 2021;17(2):13644. Ukrainian. doi: 10.22141/22240721.17.2.2021.230568
- Shukla SK, Singh G, Ahmad S, Pant P. Infections, genetic and environmental factors in pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. *Microb Pathog*. 2018;116:279-88. doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.004
- da Silva GB, Yamauchi MA, Bagatini MD. Oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis: possible adjuvant therapies to attenuate deleterious effects. *Mol Cell Biochem*. 2023;478(4):949-66. doi: 10.1007/s11010-022-04564-4
- Valea A, Georgescu CE. Selenoproteins in human body: focus on thyroid pathophysiology. *Hormones (Athens)*. 2018;17(2):183-96. doi: 10.1007/s42000-018-0033-5

7. Kravchenko V, Zakharchenko T. Thyroid hormones and minerals in immunocorrection of disorders in autoimmune thyroid diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1225494. doi: [10.3389/fendo.2023.1225494](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1225494)
8. Bryliński Ł, Kostecka K, Woliński F, Komar O, Miłosz A, Michalczyk J, et al. Effects of Trace Elements on Endocrine Function and Pathogenesis of Thyroid Diseases-A Literature Review. *Nutrients*. 2025;17(3):398. doi: [10.3390/nu17030398](https://doi.org/10.3390/nu17030398)
9. Zimmermann MB, Andersson M. Global endocrinology: Global perspectives in endocrinology: coverage of iodized salt programs and iodine status in 2020. *Eur J Endocrinol*. 2021;185(1):R13-R21. doi: [10.1530/EJE-21-0171](https://doi.org/10.1530/EJE-21-0171)
10. Lisco G, De Tullio A, Triggiani D, Zupo R, Giagulli VA, De Pergola G, et al. Iodine Deficiency and Iodine Prophylaxis: An Overview and Update. *Nutrients*. 2023;15(4):1004. doi: [10.3390/nu15041004](https://doi.org/10.3390/nu15041004)
11. Köhrle J. Selenium, Iodine and Iron-Essential Trace Elements for Thyroid Hormone Synthesis and Metabolism. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):3393. doi: [10.3390/ijms24043393](https://doi.org/10.3390/ijms24043393)
12. Li X, Xing M, Tu P, Wu L, Niu H, Xu M, et al. Urinary iodine levels and thyroid disorder prevalence in the adult population of China: a large-scale population-based cross-sectional study. *Sci Rep*. 2025;15(1):14273. doi: [10.1038/s41598-025-97734-5](https://doi.org/10.1038/s41598-025-97734-5)
13. Teti C, Panciroli M, Nazzari E, Pesce G, Mariotti S, Olivieri A, et al. Iodophylaxis and thyroid autoimmunity: an update. *Immunol Res*. 2021;69(2):129-38. doi: [10.1007/s12026-021-09192-6](https://doi.org/10.1007/s12026-021-09192-6)
14. Duntas LH. The catalytic role of iodine excess in loss of homeostasis in autoimmune thyroiditis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2018;25(5):347-52. doi: [10.1097/MED.0000000000000425](https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000425)
15. Wu Q, Rayman MP, Lv H, Schomburg L, Cui B, Gao C, et al. Low Population Selenium Status Is Associated With Increased Prevalence of Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(11):4037-47. doi: [10.1210/jc.2015-2222](https://doi.org/10.1210/jc.2015-2222)
16. Szeliga A, Czyżyk A, Niedzielski P, Mlecsek M, Maciejewski A, Dorszevska J, et al. Assessment of serum selenium concentration in patients with autoimmune thyroiditis in Poznan district. *Pol Merkuriusz Lekarski*. 2018;45(268):150-3.
17. Severo JS, Morais JB, de Freitas TE, Andrade AL, Feitosa MM, Fontenelle LC, et al. The Role of Zinc in Thyroid Hormones Metabolism. *Int J Vitam Nutr Res*. 2019;89(1-2):80-8. doi: [10.1024/0300-9831/a000262](https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000262)
18. Beserra JB, Morais JB, Severo JS, Cruz KJ, de Oliveira AR, Henriques GS, et al. Relation Between Zinc and Thyroid Hormones in Humans: a Systematic Review. *Biol Trace Elem Res*. 2021;199(11):4092-100. doi: [10.1007/s12011-020-02562-5](https://doi.org/10.1007/s12011-020-02562-5). Erratum in: *Biol Trace Elem Res*. 2021;199(12):4876. doi: [10.1007/s12011-021-02597-2](https://doi.org/10.1007/s12011-021-02597-2)
19. Prasad AS, Bao B. Molecular Mechanisms of Zinc as a Pro-Antioxidant Mediator: Clinical Therapeutic Implications. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(6):164. doi: [10.3390/antiox8060164](https://doi.org/10.3390/antiox8060164)
20. Trebak M, Kinet JP. Calcium signalling in T cells. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(3):154-69. doi: [10.1038/s41577-018-0110-7](https://doi.org/10.1038/s41577-018-0110-7)
21. Saini N, Lakshminarayanan S, Kundu P, Sarin A. Notch1 Modulation of Cellular Calcium Regulates Mitochondrial Metabolism and Anti-Apoptotic Activity in T-Regulatory Cells. *Front Immunol*. 2022;13:832159. doi: [10.3389/fimmu.2022.832159](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.832159)
22. Ke Z, Liang D, Zeng Q, Ren Q, Ma H, Gui L, et al. hsBAFF promotes proliferation and survival in cultured B lymphocytes via calcium signaling activation of mTOR pathway. *Cytokine*. 2013;62(2):310-21. doi: [10.1016/j.cyt.2013.03.011](https://doi.org/10.1016/j.cyt.2013.03.011)
23. Arancibia-Hernández YL, Aranda-Rivera AK, Cruz-Gregorio A, Pedraza-Chaverri J. Antioxidant/anti-inflammatory effect of Mg2+ in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Rev Med Virol*. 2022;32(5):e2348. doi: [10.1002/rmv.2348](https://doi.org/10.1002/rmv.2348)
24. Wimalawansa SJ. Physiology of Vitamin D-Focusing on Disease Prevention. *Nutrients*. 2024;16(11):1666. doi: [10.3390/nu16111666](https://doi.org/10.3390/nu16111666)
25. Gallo D, Mortara L, Gariboldi MB, Cattaneo SA, Rosetti S, Gentile L, et al. Immunomodulatory effect of vitamin D and its potential role in the prevention and treatment of thyroid autoimmunity: a narrative review. *J Endocrinol Invest*. 2020;43(4):413-29. doi: [10.1007/s40618-019-01123-5](https://doi.org/10.1007/s40618-019-01123-5)
26. Klubo-Gwiedzinska J, Wartofsky L. Hashimoto thyroiditis: an evidence-based guide to etiology, diagnosis and treatment. *Pol Arch Intern Med*. 2022;132(3):16222. doi: [10.20452/pamw.16222](https://doi.org/10.20452/pamw.16222)
27. Biondi B, Cappola AR, Cooper DS. Subclinical Hypothyroidism: A Review. *JAMA*. 2019;322(2):153-60. doi: [10.1001/jama.2019.9052](https://doi.org/10.1001/jama.2019.9052)
28. Karbownik-Lewińska M, Stępnik J, Iwan P, Lewiński A. Iodine as a potential endocrine disruptor-a role of oxidative stress. *Endocrine*. 2022;78(2):219-40. doi: [10.1007/s12020-022-03107-7](https://doi.org/10.1007/s12020-022-03107-7)
29. Ruggeri RM, Trimarchi F. Iodine nutrition optimization: are there risks for thyroid autoimmunity? *J Endocrinol Invest*. 2021;44(9):1827-35. doi: [10.1007/s40618-021-01548-x](https://doi.org/10.1007/s40618-021-01548-x)
30. Gheorghiu ML, Badiu C. Selenium involvement in mitochondrial function in thyroid disorders. *Hormones (Athens)*. 2020;19(1):25-30. doi: [10.1007/s42000-020-00173-2](https://doi.org/10.1007/s42000-020-00173-2)
31. Filipowicz D, Majewska K, Kalantarova A, Szczepanek-Parulska E, Ruchala M. The rationale for selenium supplementation in patients with autoimmune thyroiditis, according to the current state of knowledge. *Endokrynol Pol*. 2021;72(2):153-62. doi: [10.5603/EP.a2021.0017](https://doi.org/10.5603/EP.a2021.0017)
32. Nagano K, Motomura Y, Bando H, Yamamoto M, Kanie K, Yoshino K, et al. Thyroid dysfunction due to trace element deficiency-not only selenium but also zinc. *Hormones (Athens)*. 2024;23(4):675-81. doi: [10.1007/s42000-024-00550-1](https://doi.org/10.1007/s42000-024-00550-1)
33. Luo Y, Zeng H, Ye Y, Yu G, Song C, Liu S, et al. Associations of metal profiles in blood with thyroiditis: a cross-sectional study. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023;30(8):21072-80. doi: [10.1007/s11356-022-23625-1](https://doi.org/10.1007/s11356-022-23625-1)
34. Jat RK, Panwar AK, Agarwal P, Sharma C, Bansal DP, Pareek A, et al. Assessment of Serum Minerals in Subclinical Hypothyroid and Overt Hypothyroid Patients. *Cureus*. 2021;13(8):e16944. doi: [10.7759/cureus.16944](https://doi.org/10.7759/cureus.16944)
35. Khan R, Prabha T, Kumar S. Study of calcium, magnesium and phosphorus levels among hypothyroid patients in Trichy, Tamil Nadu. *J Evid Based Med Healthc*. 2021;8(30):2797-803.
36. Wang K, Wei H, Zhang W, Li Z, Ding L, Yu T, et al. Severely low serum magnesium is associated with increased risks of positive anti-thyroglobulin antibody and hypothyroidism: A cross-sectional study. *Sci Rep*. 2018;8(1):9904. doi: [10.1038/s41598-018-28362-5](https://doi.org/10.1038/s41598-018-28362-5)
37. Yasmeh J, Farpour F, Rizzo V, Kheradnam S, Sachmechi I. Hashimoto thyroiditis not associated with vitamin D deficiency. *Endocr Pract*. 2016;22(7):809-13. doi: [10.4158/EP15934.OR](https://doi.org/10.4158/EP15934.OR)
38. Krysiak R, Kowalcze K, Okopień B. Selenomethionine potentiates the impact of vitamin D on thyroid autoimmunity in euthyroid women with Hashimoto's thyroiditis and low vitamin D status. *Pharmacol Rep*. 2019;71(2):367-73. doi: [10.1016/j.pharep.2018.12.006](https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.12.006)
39. Gao XR, Yu YG. Meta-Analysis of the Association between Vitamin D Receptor Polymorphisms and the Risk of Autoimmune Thyroid Disease. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:2846943. doi: [10.1155/2018/2846943](https://doi.org/10.1155/2018/2846943)
40. Chao G, Zhu Y, Fang L. Correlation Between Hashimoto's Thyroiditis-Related Thyroid Hormone Levels and 25-Hydroxyvitamin D. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:4. doi: [10.3389/fendo.2020.00004](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00004)

Аналіз клінічних і морфологічних особливостей поширених форм пустульозного псоріазу

М. Е. Запольський^{1,A,C,D,F}, Т. В. Святенко^{2,A,B,C}, Т. В. Чабан^{1,E,F},
Д. М. Запольська^{1,B,D}, Л. М. Тимофєєва^{1,B,E}

¹Одеський національний медичний університет, Україна, ²Дніпровський державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

пустульозний псоріаз, хронічні дерматози, фонова еритема, панч-біопсія, інтраепідермальна та інтрадермальна нейтрофільна інфільтрація.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 2(64).
С. 134-140

Останніми десятиліттями значно збільшилась частота випадків поширених форм пустульозного псоріазу, що нерідко первинно визначають як інші хронічні дерматози: екзему, бульозну токсидермію, герпес, бактерид пустульозний Ендрюса, пустульоз субкорнеальний тощо. Внаслідок цього пацієнтові пізно призначають оптимальне лікування, захворювання набуває тяжкого перебігу, аж до можливого летального наслідку.

Мета роботи – проаналізувати гістологічні особливості поширених форм пустульозного псоріазу залежно від клінічних проявів дерматозу.

Матеріали і методи. Під спостереженням перебували 57 пацієнтів із пустульозними формами псоріазу: 34 (60 %) хворих з обмеженими формами пустульозного псоріазу, 23 (40 %) – з поширеними формами (із них 12 – із поширеними, 11 – з генералізованими). Усім пацієнтам із поширеними формами пустульозного псоріазу двічі виконано гістологічне дослідження методом панч-біопсії – до початку лікування та через 7 днів після зникнення пустульозних елементів з осередків фонової еритеми. Зразки забарвлено гематоксиліном та еозином.

Результати. У результаті аналізу клінічних особливостей пустульозного псоріазу встановлено, що характерною ознакою поширених форм, крім множинних пустул, була стійка фонова еритема, яка у більшості пацієнтів з'являлася на початку захворювання, зберігалась протягом тривалого часу, навіть після закінчення лікування, а ступінь її прояву мав кореляцію з тяжкістю захворювання. У результаті гістологічного аналізу матеріалу, взятого з осередків згрупованих пустул і фонової еритеми, встановлено зв'язок між інтенсивністю фонової еритеми, характером морфологічних змін шкіри та віддаленим прогнозом дерматозу.

Висновки. Фонова еритема – важливий діагностичний критерій поширених форм пустульозного псоріазу, що характеризує ступінь нейтрофільної інфільтрації шкіри, ризик виникнення свіжих пустул і прогресування дерматозу загалом.

Keywords:

pustular psoriasis, dermatoses, erythema, punch biopsy, neutrophil infiltration.

Pathologia.
2025;22(2):134-140

Analysis of clinical and morphological features of common forms of pustular psoriasis

M. E. Zapolskyi, T. V. Sviatenko, T. V. Chaban, D. M. Zapolska, L. M. Tymofieieva

In recent decades, the frequency of cases of widespread forms of pustular psoriasis has significantly increased, which are often mistaken for other chronic dermatoses: eczema, bullous toxidermia, herpes, Andrews' pustular bacterid, subcorneal pustulosis, etc. – and as a result, late appointment of adequate treatment, severe course of the disease, possible fatal outcome.

The aim of the work is to analyze the histological features of widespread forms of pustular psoriasis depending on the clinical manifestations of dermatosis.

Materials and methods. 57 patients with pustular forms of psoriasis were under observation: 34 (60 %) patients with limited forms of pustular psoriasis, 23 (40 %) – with widespread forms (12 of them – with widespread and 11 – with generalized). All patients with widespread forms of pustular psoriasis underwent histological examination twice by punch biopsy: before the start of treatment and 7 days after the disappearance of pustular elements from the foci of background erythema. The obtained samples were stained with hematoxylin and eosin.

Results. When analyzing the clinical features of pustular psoriasis, it was found that a characteristic feature of widespread forms, in addition to multiple pustules, was persistent background erythema, which appeared in most patients at the beginning of the disease, persisted for a long time, even after the end of treatment, and the degree of its manifestations correlated with the severity of the disease. Histological analysis of the material taken from the foci of grouped pustules and background erythema revealed a relationship between the intensity of background erythema, the nature of morphological changes in the skin and the long-term prognosis of dermatosis.

Conclusions. Background erythema is an important diagnostic criterion for common forms of pustular psoriasis, characterizing the degree of neutrophilic infiltration of the skin, the risk of fresh pustules and the progression of dermatosis in general.

Останніми десятиліттями значно збільшилась частота випадків поширених форм пустульозного псоріазу, що можуть істотно впливати на якість життя хворих, тривало знижувати працездатність, порушувати адаптацію в усіх сферах життєдіяльності. Відомо, що пустульозні форми псоріазу виникають внаслідок трансформації вже наявних бляшкових форм або первинно – в абсолютно здорових осіб. Зазвичай у практиці дерматолога генералізований пустульозний псоріаз (ГПП) трапляється значно рідше за бляшкові форми та становить майже 2 % випадків від загальної кількості хворих на псоріаз [1,2,3,4,5].

Аналізуючи вплив факторів активації ГПП, необхідно розрізняти дві групи тригерів, – зовнішні та внутрішні. З-поміж основних лікарських засобів, що спричиняють розвиток пустульозних форм псоріазу, вирізняють системні кортикостероїди, бета-блокатори, антибіотики, протизастудні, антималярійні засоби тощо [2,6,7]. ГПП асоціюється з вираженими системними ознаками, може призводити до виникнення ускладнень, що загрожують життю хворих (бактеріальна суперінфекція, сепсис), потребує негайної інтенсивної терапії вже з перших годин захворювання.

У результаті сучасних досліджень доведено, що пустульозний псоріаз пов'язаний із дисфункцією вродженого імунітету, спричиняє стійку активацію аутозапальних процесів в організмі людини [3,4,8,9]. Якщо при хворобі Цумбуша призначено неадекватне лікування, летальність становить 2–4 % [10,11,12].

Діагностика бляшкових форм псоріазу зазвичай не викликає труднощів, особливо коли йдеться про обтяжений сімейний анамнез. Проте пустульозні форми псоріазу (ПП), за даними наукової літератури, нерідко визначають як екзему, бульозну токсидермію, герпес, бактерид пустульозний Ендрюса, пустульоз субкорнеальний тощо. Внаслідок цього пацієнтам пізно призначають оптимальне лікування, захворювання набуває тяжкого перебігу, аж до можливого летального наслідку [5,8,13].

Зауважимо, що своєчасна діагностика та вибір раціональної терапії з перших днів захворювання суттєво впливають на прогноз дерматозу [2,7,8,14]. На наш погляд, комплексний підхід, що передбачає аналіз даних з анамнезу, клінічних проявів ПП у поєднанні з результатами гістологічного дослідження, є доцільним і найефективнішим у практиці дерматолога. Вважаємо, що правильна інтерпретація та систематизація клінічних, морфологічних критеріїв сприятиме своєчасності й підвищенню якості діагностики пустульозних форм псоріазу.

Мета роботи

Проаналізувати гістологічні особливості поширених форм пустульозного псоріазу залежно від клінічних проявів дерматозу.

Матеріали і методи дослідження

Під спостереженням перебували 57 пацієнтів із пустульозними формами псоріазу. Вони перебували на лікуванні в КНП «Одеський обласний шкірно-ве-

нерологічний диспансер» ООР та в Багатопрофільному медичному центрі «Ренесанс-Медікал» (м. Одеса).

Дослідження виконано відповідно до вимог Гельсінської декларації та інших нормативних документів, що регламентують здійснення досліджень за участю людини, а також чинного законодавства України. Отримано дозвіл Комісії з питань біоетики Одеського національного медичного університету (протокол від 13.01.2024 р. № 19). Кожного пацієнта поінформували щодо його прав, обов'язків, можливості припинити участь у дослідженні в будь-який момент без пояснень причин. Від пацієнтів одержали письмові згоди на виконання даних клінічного огляду для наукової роботи.

Серед обстежених 25 (43,8 %) чоловіків і 32 (66,2 %) жінки. Критерії залучення до дослідження – вік 18–70 років, клінічні прояви пустульозної форми псоріазу, наявність добровільної інформованої згоди. Критерії виключення – діагностовані хронічні супутні захворювання у стадії загострення або декомпенсації, ВІЛ-інфекція, вагітність, інші дерматози.

Після ретельного збору анамнезу, об'єктивного обстеження у 34 (60 %) хворих діагностували обмежені форми ПП, у 23 (40 %) – поширені. З-поміж поширених форм пустульозного псоріазу розрізняли власне поширені (площа ураження шкіри становила від 30 % до 75 %) та генералізовані (площа ураження – понад 75 % шкіри). Обрахунки виконували, виходячи з того, що площа шкірного покриву голови становить 10 %, верхніх кінцівок – 20 %, тулуба – 30 %, нижніх кінцівок – 40 % від загальної поверхні шкіри [15].

До дослідження залучено 12 хворих із поширеними формами ПП, 11 осіб – із генералізованими. Згідно з даними, що наведені в таблиці 1, у цій групі пацієнтів дещо переважали жінки – 13 (56,4 %) осіб (з обома формами ПП). Середня тривалість захворювання у пацієнтів із поширеними формами пустульозного псоріазу більша в 1,3 раза ($p < 0,05$), становила $8,2 \pm 0,7$ місяця, а при ГПП – $6,3 \pm 0,4$ місяця.

У всіх хворих аналізували характер шкірного висипу, інтенсивність еритеми, її тривалість і термін зникнення. Відомо, що інтенсивність фонової еритеми при ГПП характеризує ступінь загально-токсичних явищ в організмі хворого, ефективність призначеної терапії та ризики виникнення рецидивів. Фонова еритема зазвичай формується на фоні сталого запалення шкіри, а її посилення свідчить про необхідність збільшення інтенсивності детоксикаційної або імуносупресивної терапії [8,11,14].

На наш погляд, фонова еритема різної інтенсивності при пустульозних формах псоріазу може мати гістологічні відмінності. Вивчення цих відмінностей дасть змогу детальніше зрозуміти патогенез хвороби, сприятиме покращенню діагностики та визначенню оптимальних напрямів терапії. Інтенсивність еритеми в уражених ділянках ПП оцінювали за п'ятибальною шкалою: 1–2 бали – рожевий колір, помірна еритема; 3 бали – блідо-червоний колір, середня інтенсивність; 4–5 балів – насичений червоний колір, інтенсивна еритема.

Усім пацієнтам із поширеними формами ПП двічі здійснили гістологічне дослідження. Матеріал брали

Таблиця 1. Розподіл пацієнтів із поширеними формами пустульозного псоріазу за статтю та тривалістю захворювання (n = 23)

Форма ПП	Чоловіки, n = 10		Жінки, n = 13		Середня тривалість захворювання, місяці (M ± m)
	n	%	n	%	
Поширений ПП, n = 12	5	21,8	7	30,4	8,2 ± 0,7
Генералізований ПП (форма Цумбуша), n = 11	5	21,8	6	26,0	6,3 ± 0,4*

*: p < 0,05 – вірогідна різниця показника порівняно з поширеним ПП (статистичний критерій Крускала–Волліса).

Таблиця 2. Розподіл хворих із різною інтенсивністю еритеми за статтю, середньою швидкістю регресу та середньою частотою рецидивів, M ± m

Інтенсивність фонової еритеми	Чоловіки, n = 10		Жінки, n = 13		Середня швидкість регресу еритеми, місяці	Середня частота рецидивів через 6 місяців після досягнення ремісії, випадки
Помірна, n = 6	3	13,0	3	13,0	3,7 ± 0,9	0
Середня, n = 8	3	13,0	5	21,8	5,6 ± 0,6*	3,1 ± 0,5
Інтенсивна, n = 9	4	17,4	5	21,8	7,3 ± 0,8***	4,9 ± 0,7**

*: p < 0,05 – вірогідна різниця порівняно з пацієнтами з помірною еритемою; **: p < 0,05 – вірогідна різниця порівняно з хворими з середньою інтенсивністю еритеми (статистичний критерій ANOVA).

безпосередньо з маргінальних ділянок ураження методом панч-біопсії до початку лікування та через 7 днів після зникнення пустульозних елементів (повторно з осередків фонової еритеми матеріал брали, коли протягом тижня не виявляли пустули).

В 1 (4,3 %) пацієнта матеріал взято зі шкіри шиї, у 8 (34,8 %) – з ділянки спини, у 7 (30,4 %) – з живота, у 4 (17,4 %) – з верхніх кінцівок (плече), у 3 (13,0 %) – з нижніх кінцівок (стегна). У 9 (39,1 %) пацієнтів матеріал для біопсії брали з ділянок, де пустули виникли вперше, у 14 (60,7 %) випадках – з осередків рецидивних пустул.

Одержані зразки забарвлені гематоксиліном та еозином. Дослідження матеріалу здійснили в лабораторії «Дім Морфології» (м. Одеса). Усі зразки описано, сфотографовано, внесено до протоколу.

У період загострення поширених форм пустульозного псоріазу всі пацієнти, котрі перебували під спостереженням, одержували системну терапію, що включала системні кортикостероїди в середніх дозах від 0,5 мг/кг до 1,0 мг/кг на добу (протягом 20–90 днів), системні ретиноїди (ацитретин) або метотрексат, при сталому перебігу – інгібітори ІЛ-17.

Для статистичного опрацювання результатів використано програми Microsoft Excel 2017 і Statistica for Windows. Обраховували середнє арифметичне варіаційного ряду (M) і середню помилку середнього арифметичного (m). Статистичні відмінності даних оцінювали, застосовуючи параметричний критерій ANOVA. Якщо виявляли суттєві розбіжності абсолютних даних у вибірці, використовували непараметричний критерій Крускала–Волліса. Відмінності вважали статистично достовірними при p < 0,05.

Результати

У результаті оцінювання інтенсивності еритеми встановлено: помірна еритема діагностована лише у 6 (26 %) хворих на ПП, а саме у 3 чоловіків і 3 жінок (по 13 % випадків) (табл. 2).

На шкірі хворих на поширені форми ПП із помірною еритемою на периферії сіро-блакитної еритеми визначено поодинокі мікропустульозні елементи,

множинні епідермальні скоринки, ділянки демаркації між здоровою та ураженою шкірою помаранчевого кольору (рис. 1).

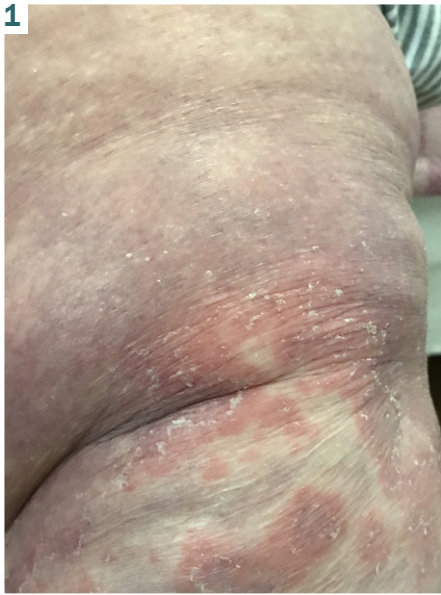
Фонову еритему середньої інтенсивності виявлено у 8 (34,8 %) пацієнтів. У таких хворих шкіра набувала рожево-червоного кольору, збільшувалась кількість пустульозних елементів. Перебіг захворювання ставав стійким, протягом доби з'являлися нові порожнинні елементи, що згруповувались у коло, по периферії відбувалося лущення (рис. 2).

Найчастіше при ГПП діагностували інтенсивну фонову еритему (5 балів) – 9 (39,1 %) пацієнтів (табл. 2). Характерні ознаки інтенсивної фонової еритеми – застійно-синюшний колір ураженої шкіри, накопичення та з'єднання пустульозних елементів по периферії ділянок ураження, повторне формування пустул в одних і тих самих місцях (рис. 3).

Зауважимо, що у хворих із помірною еритемою не зафіксовано випадки рецидиву ГПП протягом 6 місяців (табл. 2). Швидкість повного регресу еритеми у них найбільша. Пацієнти з середньою інтенсивністю еритеми (8 (34,8 %) осіб) мали вищий ризик виникнення рецидиву. В осіб з інтенсивною фоною еритемою (9 (39,2 %) випадків) середня швидкість її регресу найнижча (регрес майже вдвічі повільніший, ніж при помірній еритемі, p < 0,05), а середня частота рецидивів протягом 6 місяців була найвищою, в 1,6 раза перевищувала відповідний показник пацієнтів з еритемою середньої інтенсивності (p < 0,05). При цьому прояви середньої та інтенсивної еритеми частіше фіксували в жінок (10 (58,8 %) випадків), ніж у чоловіків (7 (42,2 %) осіб).

Проаналізувавши клінічні особливості пустульозного псоріазу, встановили, що характерною ознакою поширених форм, крім множинних пустул, була стійка (фонова) еритема, яка у більшості пацієнтів з'являлася на початку захворювання і зберігалася тривалий час навіть після закінчення лікування. Так, фонова еритема зберігалась понад 5 місяців у 15 (65,2 %) пацієнтів і на фоні основної системної терапії, і далі – під час підтримувальної терапії. У 8 (34,8 %) пацієнтів фонова еритема зникала після основного курсу системної терапії через 2–3 місяці.

1



2



Рис. 1. Генералізований пустульозний псоріаз, помірна інтенсивність фонової еритеми (1–2 бали).

Рис. 2. Генералізований пустульозний псоріаз, середня інтенсивність фонової еритеми (3 бали).

Рис. 3. Генералізований пустульозний псоріаз, інтенсивна фонова еритема (4–5 балів).

3a



36



Початкові прояви фонової еритеми при ГПП мали кореляцію з тяжкістю захворювання. Пацієнти з інтенсивною фоновою еритемою вже на початку хвороби мали виражені загальнотоксичні симптоми: гарячку, міалгію, артралгію, слабкість, скутість тощо.

Додатково здійснили гістологічний аналіз матеріалу, що взятий з осередків згрупованих пустул і фонової еритеми. Встановлено зв'язок між інтенсивністю фонової еритеми та характером морфологічних змін шкіри, віддаленим прогнозом дерматозу (матеріал брали в гострій фазі хвороби та через 7 днів після зникнення пустул). Так, у матеріалах із ділянок шкіри з помірною фоновою еритемою виявлено ознаки розшарування епідермальних шарів на рівні шипуватого шару; в роговому та зернистому шарах виявлена осередкова інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами з початковими стадіями формування псевдопустул. В одному з країв виявлено ознаки гіпогранульозу епідермісу, нерегулярного псоріазиформного акантозу,

частина акантотичних тяжів зливалися, формуючи мостикоподібні структури (рис. 4).

У матеріалі, взятому з ділянок шкіри з середньою інтенсивністю еритеми (рис. 5), визначено фокальний паракератоз, помірний гіперкератоз, скупчення значно більшої кількості сегментоядерних нейтрофілів (порівняно зі зразками помірної еритеми). Дослідивши серію зрізів, виявили ділянки субкорнеального акантолізу з формуванням щілиноподібних проміжків. На більшій відстані визначено псоріазиформний акантоз епідермісу з ділянками спонгіозу та екзоцитозу сегментоядерних нейтрофілів. Сосочковий шар дерми – з помірними проявами інтерстиційного набряку, периваскулярно – скупчення груп лімфоцитів. У результаті дослідження ретикулярного шару дерми визначено помірний лімфоцитарний інфільтрат із поодинокими еозинофілами та сегментоядерними нейтрофілами. Підшкірно-жирова клітковина без патологічних змін.

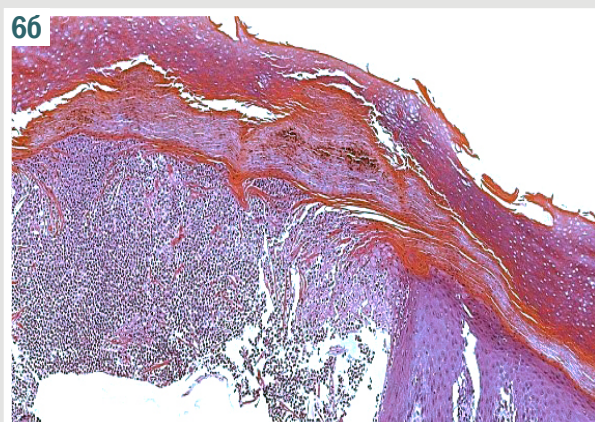
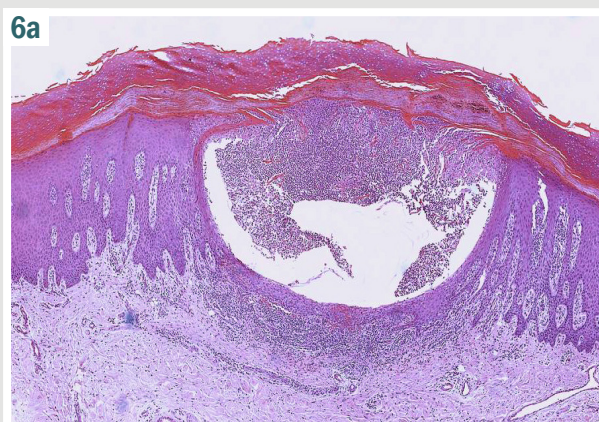
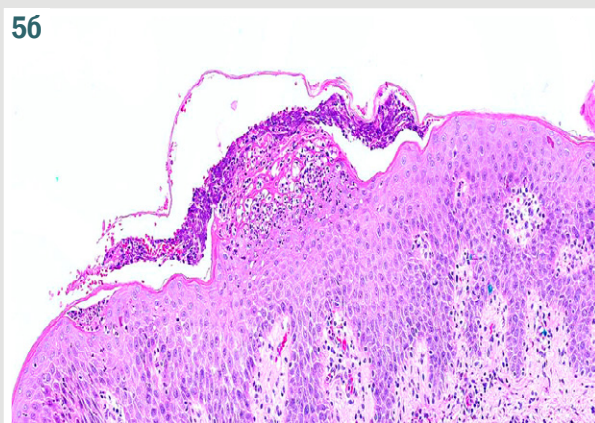
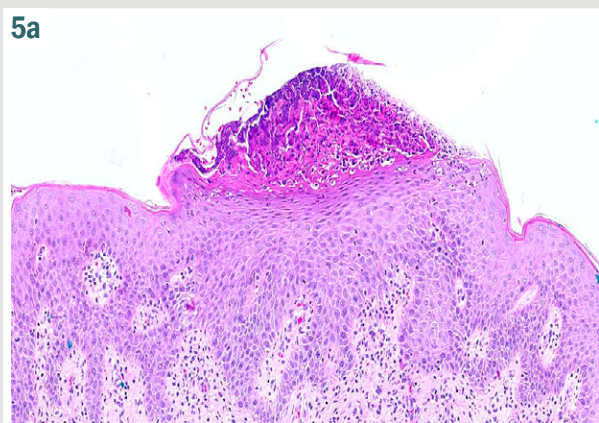
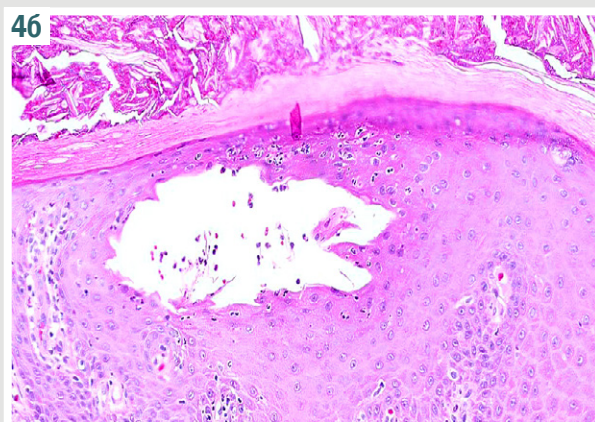
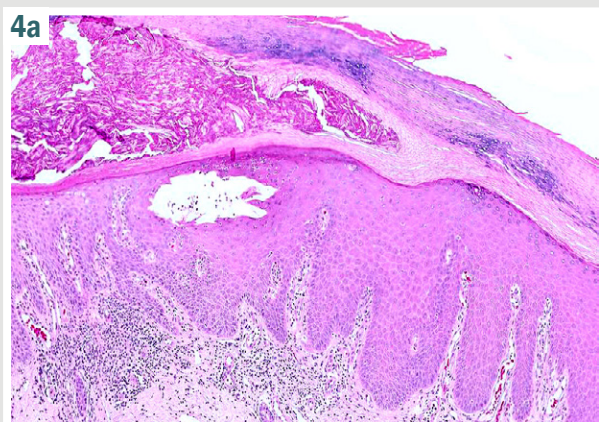


Рис. 4. ГПП, осередок із помірною еритемою, забарвлення гематоксиліном та еозином. **а:** $\times 40$; **б:** $\times 100$.

Рис. 5. ГПП, середня інтенсивність еритеми. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

Рис. 6. ГПП, інтенсивна еритема, забарвлення гематоксиліном та еозином. **а:** $\times 40$; **б:** $\times 100$.

У матеріалах із ділянок шкіри з інтенсивною еритемою (рис. 6) визначали гіперкератоз і фокальний паракератоз епідермісу. У зонах паракератозу виявлено інтракорнеальне скупчення сегментоядерних нейтрофілів, фрагментованих рогових мас і колоній бактерій. Зафіксовано ознаки псоріазиформної гіперплазії, осередкового гіпогранульозу.

Порівняно з морфологічними матеріалами з ділянок помірної та середньої інтенсивності еритеми (рис. 4, 5), визначено більш виражене інтраепідер-

мальне й інтрадермальне накопичення нейтрофілів з ознаками порушеного хемотаксису.

Виявлено ділянки розшарування шипуватого, зернистого шарів епідермісу, формування псевдопустул, лімфоцитарну інфільтрацію сосочкового шару дерми. В сосочковому шарі дерми виявлено розширені кровоносні судини, а також м'який периваскулярний лімфоцитарний інфільтрат із домішками плазмочитів. У глибоких шарах дерми визначено помірний набряк.

Обговорення

У результаті аналізу клінічних і морфологічних особливостей поширених форм пустульозного псоріазу встановлено: у пацієнтів із помірною фоновою еритемою нейтрофільна інфільтрація шкіри виражена найменше, набряк і периваскулярну лімфоцитарну інфільтрацію визначено лише на окремих ділянках, ознаки бактеріальної колонізації не виявлені. Крім того, помірна еритема морфологічно характеризувалась нерегулярним псоріазиформним акантозом, незначним гіпогранульозом. Швидкість регресу еритеми у таких хворих найвища, протягом 6 місяців не зафіксовано випадки рецидивування. На підставі цих даних зробили висновок, що пустульозний псоріаз із помірною фоновою еритемою – варіант найлегшого перебігу ГПП із низькою активністю нейтрофільної міграції.

Результати нашого дослідження щодо ролі нейтрофілів у підтриманні запалення при ГПП, їхньої здатності мігрувати в ділянки шкіри з інтенсивним прозапальним цитокіновим навантаженням збігаються з даними, що одержали A. Baldo et al. Так, дослідники встановили, що нейтрофіли можуть блокувати процеси нормальної диференціації кератиноцитів та опосередковано стимулювати надмірний синтез IL-26 [16].

У пацієнтів з ПП і середньою інтенсивністю еритеми морфологічні зміни в епідермісі характеризувалися псоріазиформним акантозом, ділянками екзоцитозу сегментоядерних нейтрофілів. Визначено скупчення великої кількості сегментоядерних нейтрофілів в епідермально-дермальних шарах. Збільшення кількості нейтрофілів в епідермісі і спонгіоз свідчили про схильність до формування порожнинних елементів. У таких хворих регрес еритеми відбувався повільніше, середня частота рецидивів через 6 місяців після досягнення ремісії становила $3,1 \pm 0,5$ випадку.

Під час морфологічного аналізу зразків від хворих на пустульозний псоріаз з інтенсивною еритемою визначено паракератоз, спонгіоз, значне інтракорнеальне скупчення сегментоядерних нейтрофілів, фрагментованих рогових мас. На фоні інтенсивної еритеми посилювалась ексудація і збільшувався набряк епідермоцитів, зростала кількість бактеріальних колоній; такі явища зафіксовано у пацієнтів із помірною еритемою. Суттєво збільшувалось інтраепідермальне й інтрадермальне накопичення нейтрофілів, розшарування на рівні шипуватого, зернистого шарів епідермісу; внаслідок цього збільшувалася кількість свіжих пустульозних елементів. Зауважимо, що стійку постзапальну еритему при ГПП окремі автори визначають як несприятливий фактор, що свідчить про надмірне накопичення нейтрофілів у шкірі та поганий прогноз щодо стійкості ремісії [8, 15, 16].

Наголосимо, що в таких пацієнтів на початку хвороби виявлено виражені ознаки загальної інтоксикації, фонова еритема зберігалася тривалий час, її регрес відбувався найповільніше, а частота виникнення рецидивів була найбільшою. Отже, саме перебіг поширеного ПП з інтенсивною фоновою еритемою слід вважати найтяжчим, він зумовлює доцільність негайного призначення оптимального лікування та тривалого спостереження за хворими.

Висновки

1. У хворих із поширеними формами ГПП встановлено зв'язок між клінічними проявами та морфологічними ознаками фонової еритеми: тяжкість перебігу хвороби збільшується з прогресуванням інтенсивності еритеми.

2. Морфологічні зміни при ГПП є різними та залежать від інтенсивності фонової еритеми. У разі помірної фонової еритеми епідермальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами мінімальна, визначено початкові або незавершені стадії формування псевдопустул. Інтенсивна фонова еритема супроводжувалася підвищенням інтраепідермального й інтрадермального накопичення нейтрофілів, порушенням процесів хемотаксису, розшаруванням епідермісу на рівні шипуватого та зернистого шарів.

3. Фонова еритема є важливим діагностичним критерієм ГПП, що характеризує ступінь нейтрофільної інфільтрації шкіри, ризик виникнення свіжих пустул і прогресування дерматозу загалом.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні методів підвищення ефективності лікування, що сприятимуть запобіганню рецидивам генералізованого пустульозного псоріазу.

Фінансування

Дослідження є фрагментом НДР Одеського національного медичного університету на тему: «Удосконалення алгоритмів діагностики, лікування, профілактики хронічних дерматозів, доброякісних та злоякісних новоутворень шкіри», державний реєстраційний № 0121U113996 (2022–2026).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 21.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 24.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 03.07.2025

Відомості про авторів:

Запольський М. Е., д-р мед. наук, професор каф. інфекційних хвороб з курсом дерматовенерології, Одеський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-9284-3539

Святенко Т. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. шкірних та венеричних хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4303-2937

Чабан Т. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб з курсом дерматовенерології, Одеський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6989-5816

Запольська Д. М., PhD-аспірант каф. інфекційних хвороб з курсом дерматовенерології, Одеський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5721-6836

Тимофєєва Л. М., асистент каф. інфекційних хвороб з курсом дерматовенерології, Одеський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-8708-9460

Information about the authors:

Zapolskyi M. E., MD, PhD, DSc, Professor of Department of Infectious Diseases with a course in Dermatology, Odesa National Medical University, Ukraine.

Sviatenko T. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Skin and Venereal Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Chaban T. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Infectious Diseases with a course in Dermatovenereology, Odesa National Medical University, Ukraine.

Zapolska D. M., PhD student at the Department of Infectious Diseases with a course in Dermatovenereology, Odesa National Medical University, Ukraine.

Tymofieieva L. M., Assistant of the Department of Infectious Diseases with a Course in Dermatovenereology, Odesa National Medical University, Ukraine.



Людмила Тимофеева (Liudmyla Tymofieieva)
timofeevaln1972@ukr.net

References

1. Kharawala S, Golembesky AK, Bohn RL, Esser D. The clinical, humanistic, and economic burden of generalized pustular psoriasis: a structured review. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020;16(3):239-52. doi: [10.1080/1744666X.2019.1708193](https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1708193)
2. Prinz JC, Choon SE, Griffiths C, Merola JF, Morita A, Ashcroft DM, et al. Prevalence, comorbidities and mortality of generalized pustular psoriasis: A literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2023;37(2):256-73. doi: [10.1111/jdv.18720](https://doi.org/10.1111/jdv.18720)
3. Gooderham MJ, Van Voorhees AS, Lebwohl MG. An update on generalized pustular psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(9):907-19. doi: [10.1080/1744666X.2019.1648209](https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1648209)
4. Kara Polat A, Alpsoy E, Kalkan G, Aytekin S, Uçmak D, Yasak Güner R, et al. Sociodemographic, clinical, laboratory, treatment and prognostic characteristics of 156 generalized pustular psoriasis patients in Turkey: a multicentre case series. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36(8):1256-65. doi: [10.1111/jdv.18103](https://doi.org/10.1111/jdv.18103)
5. Rivera-Díaz R, Daudén E, Carrascosa JM, Cueva P, Puig L. Generalized Pustular Psoriasis: A Review on Clinical Characteristics, Diagnosis, and Treatment. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023;13(3):673-88. doi: [10.1007/s13555-022-00881-0](https://doi.org/10.1007/s13555-022-00881-0)
6. Hoegler KM, John AM, Handler MZ, Schwartz RA. Generalized pustular psoriasis: a review and update on treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(10):1645-51. doi: [10.1111/jdv.14949](https://doi.org/10.1111/jdv.14949)
7. Goyal PK, Mohammed TO, Mahmoud A, Zaidi AJ, Nguyen CV. COVID-19 infection leading to acute pustular dermatoses. *Arch Dermatol Res*. 2023;315(4):685-97. doi: [10.1007/s00403-022-02450-z](https://doi.org/10.1007/s00403-022-02450-z)
8. Bachelez H. Pustular Psoriasis: The Dawn of a New Era. *Acta Derm Venereol*. 2020;100(3):adv00034. doi: [10.2340/00015555-3388](https://doi.org/10.2340/00015555-3388)
9. Zhou J, Luo Q, Cheng Y, Wen X, Liu J. An update on genetic basis of generalized pustular psoriasis (Review). *Int J Mol Med*. 2021;47(6):118. doi: [10.3892/ijmm.2021.4951](https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.4951)
10. Fujita H, Gooderham M, Romiti R. Diagnosis of Generalized Pustular Psoriasis. *Am J Clin Dermatol*. 2022;23(Suppl 1):31-8. doi: [10.1007/s40257-021-00652-1](https://doi.org/10.1007/s40257-021-00652-1)
11. Viguier M, Bentayeb M, Azzi J, de Pouvourville G, Gloede T, Langellier B, et al. Generalized pustular psoriasis: A nationwide population-based study using the National Health Data System in France. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024;38(6):1131-9. doi: [10.1111/jdv.19901](https://doi.org/10.1111/jdv.19901)
12. Choon SE, Wright AK, Griffiths C, Wong KW, Tey KE, Lim YT, et al. Incidence and prevalence of generalized pustular psoriasis in multi-ethnic Johor Bahru, Malaysia: a population-based cohort study using routinely captured electronic health records in the Teleprimary Care (TPC®) clinical information system from 2010 to 2020. *Br J Dermatol*. 2023;189(4):410-8. doi: [10.1093/bjd/ljad158](https://doi.org/10.1093/bjd/ljad158)
13. Ly K, Beck KM, Smith MP, Thibodeaux Q, Bhutani T. Diagnosis and screening of patients with generalized pustular psoriasis. *Psoriasis (Auckl)*. 2019;9:37-42. doi: [10.2147/PTT.S181808](https://doi.org/10.2147/PTT.S181808)
14. Bozonnat A, Assan F, LeGoff J, Bourrat E, Bachelez H. SARS-CoV-2 infection inducing severe flare up of Deficiency of Interleukin Thirty-six (IL-36) Receptor Antagonist (DITRA) resulting from a mutation invalidating the activating cleavage site of the IL-36 receptor antagonist. *J Clin Immunol*. 2021;41(7):1511-4. doi: [10.1007/s10875-021-01076-6](https://doi.org/10.1007/s10875-021-01076-6)
15. Ortonne N. Histopathologie des réactions cutanées médicamenteuses [Histopathology of cutaneous drug reactions]. *Ann Pathol*. 2018;38(1):7-19. French. doi: [10.1016/j.annpat.2017.10.015](https://doi.org/10.1016/j.annpat.2017.10.015)
16. Baldo A, Di Domizio J, Yatim A, Vandenberghe-Dürr S, Jenelten R, Fries A, et al. Human neutrophils drive skin autoinflammation by releasing interleukin (IL)-26. *J Exp Med*. 2024;221(5):e20231464. doi: [10.1084/jem.20231464](https://doi.org/10.1084/jem.20231464)

Визначення структурного складу біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів за допомогою матеріалу Нанографт (NanoGraft)

О. С. Косінов^{1B,A,B,D}, О. М. Міщенко^{1B,A,C,E,F}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – визначити структурний склад біоптатів із зони аугментації верхньощелепних синусів після застосування біоматеріалу Нанографт (NanoGraft).

Матеріали і методи. Здійснили гістологічне дослідження біоптатів, отриманих під час синус-ліфтингу з використанням матеріалу Нанографт. Зразки фіксували у 10 % нейтральному формаліні протягом 48–72 годин, після цього їх декальцинували (Kalktek, Італія), дегідратували й заливали у парафін за стандартним протоколом у гістопроесорі LOGOS (Milestone, Італія). Парафінові блоки виготовляли на станції HistoStar (Thermo Fisher Scientific, США), серійні зрізи завтовшки 4 мкм отримували за допомогою мікротома HM 340E. Забарвлення – гематоксиліном та еозином (Dako CoverStainer, Agilent, США), додатково здійснили гістохімічне забарвлення толудиноним синім. Аналіз виконали з використанням світлового мікроскопа Leica.

Результати. У всіх біоптатах виявлено формування кісткових трабекул, ознаки активного остеогенезу, ремоделювання з заміщенням грубоволокнистої кістки пластинчастою, з формуванням остеонів. Ознак запальної реакції, що свідчила би про імуногенність матеріалу, не зафіксовано.

Висновки. Біоматеріал Нанографт характеризується остеоіндуктивною та біостимулювальною діями, має хорошу біосумісність і може бути ефективним засобом для аугментації верхньощелепних синусів.

Ключові слова:

синус-ліфтинг, NanoGraft, біоптат, остеогенез, гістологія, кісткова регенерація, біосумісність.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 2(64).
С. 141-147

Determination of the structural composition of biopsies from the maxillary sinus augmentation zone using the NanoGraft material

O. S. Kosinov, O. M. Mishchenko

Aim. This study aimed to evaluate the structural composition of biopsy samples from the augmented maxillary sinus region using the NanoGraft biomaterial.

Materials and methods. Biopsy specimens from sinus lift procedures involving NanoGraft were histologically examined. Samples were fixed in 10 % neutral buffered formalin for 48–72 hours, decalcified using a rapid decalcifier (Kalktek, Italy), and processed in paraffin using an automated tissue processor (Milestone LOGOS, Milestone, Italy). Paraffin blocks were prepared with the HistoStar embedding workstation (Thermo Fisher Scientific, USA), and 4 µm serial sections were obtained using the Thermo Scientific HM 340E rotary microtome. Sections were stained with hematoxylin and eosin (Dako CoverStainer, Agilent, USA), and toluidine blue staining was performed manually. Morphological analysis was carried out using a Leica light microscope to assess bone structure, surrounding connective tissue, resorption dynamics, and new bone formation.

Results. All samples revealed newly formed trabecular bone, active osteogenesis, and progressive remodeling, with replacement of coarse fibrous bone by lamellar bone containing osteons. No significant inflammatory response to the biomaterial was observed.

Conclusions. NanoGraft exhibited high biocompatibility, along with osteoinductive and biostimulatory properties, making it a promising material for maxillary sinus augmentation procedures.

Keywords:

sinus lift, NanoGraft, biopsy, osteogenesis, histology, bone regeneration, biocompatibility.

Pathologia.
2025;22(2):141-147

Атрофія альвеол внаслідок вікових змін і впливу патологічних процесів призводить до втрати зубів, пародонтиту тощо. Порушення розмірів альвеолярного відростка також негативно впливає на встановлення імплантатів. Кісткова пластика спрямована на формування достатнього об'єму кістки та є одним із найпоширеніших методів лікування в щелепно-лицевій хірургії [1]. Хоча золотим стандартом вважають використання аутологічної кістки, ця методика має

низку недоліків, включаючи ураження донорської ділянки, біль і відповідне порушення функції, а також обмежений об'єм і якість доступної кістки [2]. Тому нині в усьому світі стали надавати перевагу використанню алогенної людської кістки та іншим інноваційним матеріалам [3] для синус-ліфтингу.

Формування нової кістки під впливом трансплантатів є ключовою метою синус-ліфтингу, що може бути реалізоване шляхом остеогенезу, остеоіндукції та

остеокондукції. Остеогенез відбувається в аутоотрансплантатах внаслідок формування каркасу, факторів росту для остеогенезу та клітин, що продукують матрикс кістки. Механізм остеоіндукції характерний для аутогенної кістки, алогенної кістки та ксенотрансплантатів, передбачає диференціювання остеогенних клітин у відповідь на остеоіндуктори – морфогенетичні білки кістки або інші фактори росту. В основі механізму остеокондукції (остеопровідності), що передбачає використання тривимірних біологічних скафолдів, – утворення нової кістки поверх трансплантату; при цьому графт може зазнавати реваскуляризації та інкорпорації в нову кісткову тканину [4,5].

Клінічне застосування будь-яких біологічних матеріалів потребує дотримання ключових вимог щодо них, а також доказів їхньої безпеки й ефективності. Обов'язковими вимогами щодо використання біологічних матеріалів із кісткової тканини є [6]:

- скафолди мають бути тривимірними і мати достатню площу поверхні для взаємодії з клітинами та тканинами в зоні використання;

- матеріал має бути пористим і мати з'єднання між порами – це передумова для забезпечення клітинної адгезії, міграції та проліферації кісткових клітин у відповідному напрямі. Ефективна адгезія клітин до біоматеріалу та структурна анізотропія впливають на наступну орієнтацію клітин і взаємодію клітини – матрикс;

- біоматеріал має бути нетоксичним і зазнавати біодеградації, але при цьому зразки біологічних матеріалів мають бути міцними, і ці характеристики мають бути зіставними з міцністю кортикальної кістки.

Особливі переваги мають біологічні матеріали, що можуть утримувати фактори росту, антибактеріальні компоненти, біоактивні молекули. За цих умов реалізується біостимулювальний ефект. У разі застосування скафолдів із кісткової тканини ключову роль відіграє підтримання балансу між диференціюванням остеогенних клітин в остеобласти та формуванням / активністю остеокластів.

Окремого дослідження потребує питання щодо імуногенності біоматеріалів. Незалежно від специфіки використаних для аугментації кісткових трансплантатів, їх імплантаци супроводжується імунологічною відповіддю на чужорідні субстанції. Показано, що, незважаючи на ретельну обробку, алогенна кістка зберігає потенційну антигенність, яка індукує опосередковану Т-клітинами імунну відповідь проти алотрансплантату [7]. Це пов'язано з наявністю молекул основного комплексу гістосумісності в алогенних кісткових блоках.

Зауважимо, що реакція імунної системи на кісткові трансплантати є комплексною, передбачає участь клітин і вродженого, і специфічного (адаптивного) імунітету. Запуск імунної реакції зумовлений детекцією імунологічно чужорідного матеріалу дендритними клітинами. Вони відіграють важливу роль у розпізнаванні чужорідного матеріалу й активації адаптивної імунної відповіді, толерантності до біологічних матеріалів [8].

Ці спеціалізовані антигенпрезентувальні клітини модулюють взаємодію між біоматеріалом та орга-

нізмом людини. Активовані протягом підготовчих маніпуляцій, дендритні клітини залучаються до розпізнавання та процесингу антигенів чужорідного біоматеріалу з наступною активацією CD4⁺ і CD8⁺ Т-клітин, стимуляцією їхньої проліферації та диференціювання в реактивні ефекторні клітини [9]. Проте аналіз участі дендритних клітин у реалізації імунної відповіді на біологічні матеріали обмежений варіабельністю субтипів зрілих і незрілих дендритних клітин. Ба більше, оцінювання ефекторної ланки імунної відповіді, наприклад Т-цитотоксичних лімфоцитів, дає змогу отримати інформацію щодо вираженості імунної реакції.

Механізми впливу різних біоматеріалів на інтеграцію, ремоделювання та імунологічну реакцію після процедури аугментації залишаються предметом наукових досліджень. У доступній фаховій літературі в доволі обмеженій кількості праць наведено фактичні дані щодо реакції тканин пародонта й специфіки структурного складу в зоні аугментації синусів за допомогою алогенних біоматеріалів.

Гістологічне оцінювання відповіді на загоєння кістки після трансплантації різних видів кісткового біоматеріалу в організм людини полегшить використання хірургом матеріалу кісткового трансплантату й дасть змогу визначити період загоєння імплантату відповідно до клінічних умов у конкретного пацієнта. Оцінювання реакції імунних, ангіогенних та остеогенних клітин на застосований біоматеріал Нанографт (NanoGraft) дасть змогу детальніше розкрити механізми морфогенетичних ефектів кісткового біоматеріалу.

Мета роботи

Визначити структурний склад біопатів із зони аугментації верхньощелепних синусів після застосування біоматеріалу Нанографт.

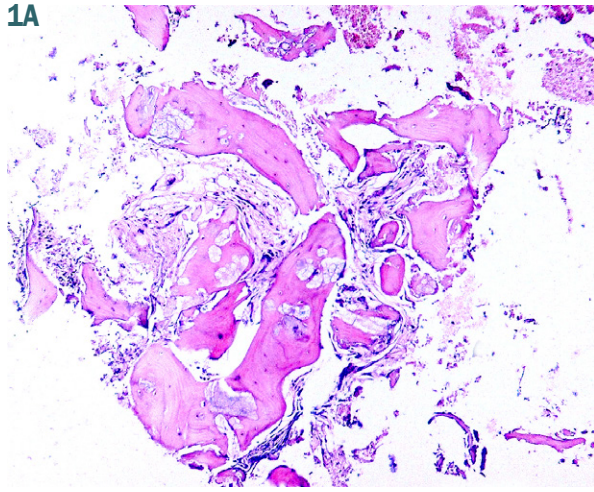
Матеріали і методи дослідження

Для дослідження морфогенетичних ефектів та імуногенності біоматеріалу Нанографт, використаного для синус-ліфтингу, здійснили гістологічне оцінювання біопатів із відповідних зон інтересу.

Дослідження здійснили на клінічних базах кафедри стоматології післядипломної освіти Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: КНП «Міська лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги № 5» ЗМП та Стоматологічна клініка «Ексіма». У дослідженні взяли участь 22 пацієнти, які перебували на реабілітації з приводу вторинної часткової адентії шляхом дентальної імплантації. Пацієнтам здійснили субантральну аугментацію в ділянці верхньощелепної пазухи. Усі пацієнти, залучені до дослідження, відповідали таким критеріям: відсутність загальносоматичних захворювань, вік понад 18 років, а саме від 39 до 75 років, крім того, вони не приймали системні антибіотики протягом щонайменше 3 місяців до початку дослідження.

Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь дослідженні. Комісія з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного

1А



1Б

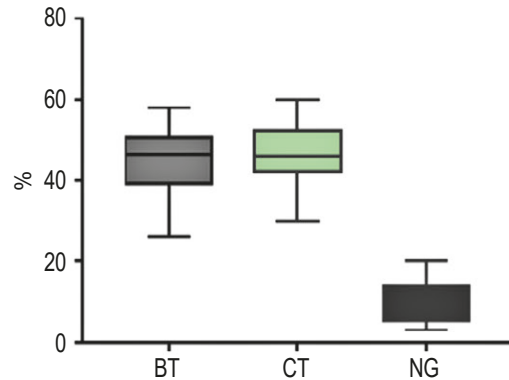


Рис. 1. Структурний склад біопатів із зони аугментації синусів. **А:** гістологічний препарат. Забарвлення гематоксилином та еозином, зб. $\times 40$; **Б:** питомі площі кісткових трабекул (BT), сполучної тканини (CT) та залишків Наногraftу (NG).

університету здійснила етичну експертизу, порушень не виявлено (протокол засідання від 22 травня 2025 року № 7).

Доступ до аугментації здійснили під час встановлення імплантатів. Отриманий біопсійний матеріал фіксували у 10 % розчині забуференого нейтрального формаліну протягом 48–72 годин. Після цього здійснили декальцинацію матеріалу з використанням швидкого декальцифікатора Kaltek (Italy). Після декальцифікації проводку біоматеріалу (дегідратацію та просочування парафіном) виконали автоматизованим методом відповідно до стандартного протоколу в гістопроекторах (Milestone LOGOS Microwave Hybrid Tissue Processor, Milestone, Italy). Після проводки матеріал залили у парафін (Paraplast), підготували парафінові блоки на станціях заливки та виготовлення парафінових блоків Thermo Scientific HistoStar (Thermo Fisher Scientific, USA).

Гістологічні зрізи завтовшки 4 мкм виготовлено на напівавтоматизованому ротаційному мікротомі Thermo Scientific HM 340E.

Препарати забарвлювали гематоксилином та еозином з використанням автоматизованого коверстейнера Dako CoverStainer (Agilent, USA). Гістохімічне забарвлення толуїдиновим синім виконано мануально за стандартним протоколом.

Гістологічно препарати дослідили, застосувавши світловий мікроскоп Leica (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany), на трьох гістологічних препаратах серійних зрізів, принаймні в трьох репрезентативних ділянках кожного з трьох гістологічних препаратів аугментації синусів із великим збільшенням. Під час морфологічного дослідження оцінювали структуру фрагментів аугментату, будову кісткової тканини та навколишньої сполучної тканини, динаміку процесу резорбції та формування нової кістки в ділянках синус-ліфтингу за допомогою NanoGraft. Крім того, визначали наявність, виразність і характер запальної реакції на біоматеріал.

Гістологічні препарати дослідили, використовуючи критерії репарації та ремоделювання кістки. Для цього

в межах кожного слайду визначено частку простору (питомий об'єм), заповненого кістковими трабекулами, графтом і сполучною тканиною. Оцінювали також товщину кісткових трабекул.

Загалом проаналізовано 52 ділянки аугментації та 67 ділянок власної кістки. Для порівняння використано ділянки аугментації та нативної кістки в одного і того самого пацієнта з одного і того самого місця імплантації. Таким чином вдалося уникнути анатомічно зумовлених структурних відмінностей між кісткою та аугментацією в різних ділянках верхньощелепної пазухи й у різних пацієнтів.

Результати дослідження проаналізували, застосувавши статистичний пакет ліцензійної програми Statistica, версія 13 (Copyright 1984–2018 TIBCO Software Inc. All rights reserved. Ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J). Нормальність розподілу кількісних ознак аналізували за допомогою тесту Шапіро–Вілка. Для параметрів, що мали нормальний розподіл, описову статистику наведено як середнє та середньоквадратичне відхилення ($M \pm SD$).

Результати

Морфологічне оцінювання дало змогу виявити ознаки активного остеогенезу в зонах інтересу. Великі ділянки біопатів сформовано розгалуженими кістковими трабекулами, товщина яких становила від 20 мкм до 190 мкм. У межах кісткових трабекул визначено ділянки NanoGraft, що були подібні до глибок (гранул), які з усіх боків оточені новоутвореною кістковою тканиною (рис. 1А). Крім того, в незначній кількості випадків виявлено вільно розташовані залишки Наногraftу або почасти оточені кістковою тканиною осередки біоматеріалу. Ділянки між кістковими трабекулами заповнені сполучною тканиною з численними судинами мікроциркуляторного русла.

Під час гістоморфометричного аналізу структурного складу тканин біопатів із зон аугментації синусів визначено: кісткові трабекули становили $44,60 \pm 1,73$ %

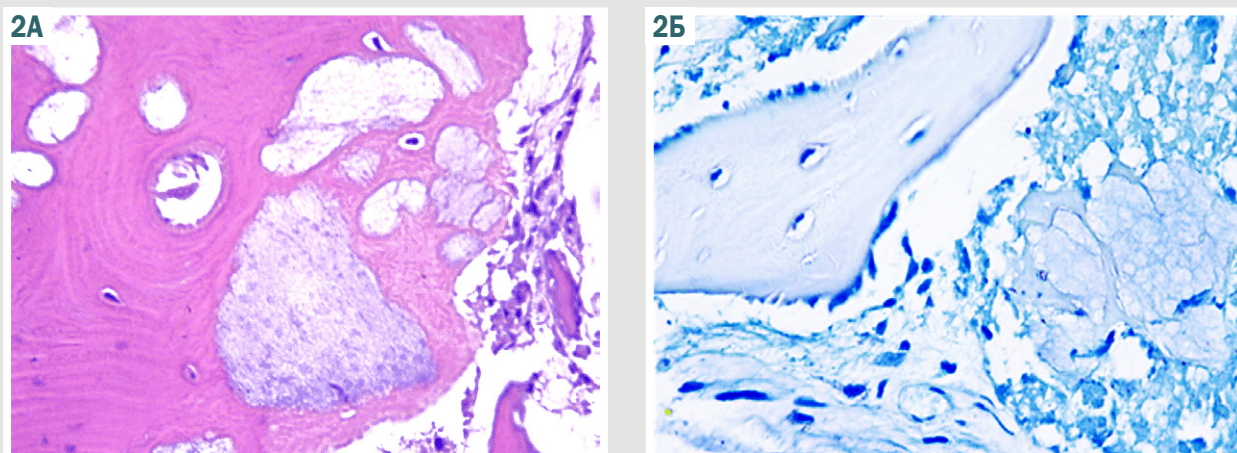


Рис. 2. Інтра- та екстратрабекулярне розташування залишків Нанографту.

А: залишки біоматеріалу визначено всередині кісткової трабекули, вони оточені мінералізованим матриксом кісткової тканини. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. $\times 400$; **Б:** екстратрабекулярний осередок залишків Нанографту (справа). Забарвлення толуїдиновим синім, зб. $\times 400$.

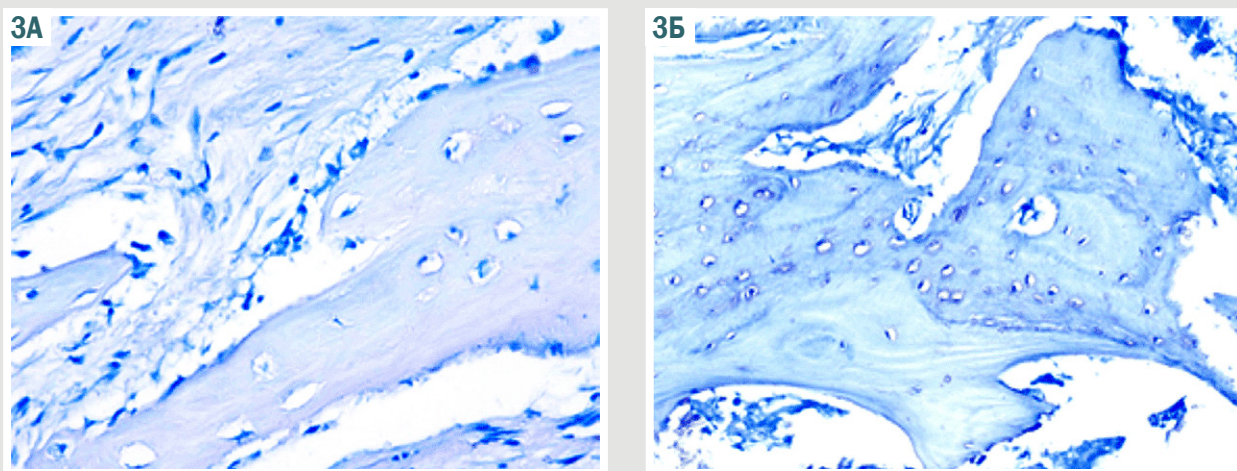


Рис. 3. Варіабельність будови кісткових трабекул у біоптаті з зони аугментації синусу.

А: кісткова трабекула, утворена грубоволокнистою кістковою тканиною. Забарвлення толуїдиновим синім, зб. $\times 400$; **Б:** кісткова трабекула з ознаками ремоделювання та заміщення грубоволокнистої кісткової тканини пластинчастою кісткою. Забарвлення толуїдиновим синім, зб. $\times 200$.

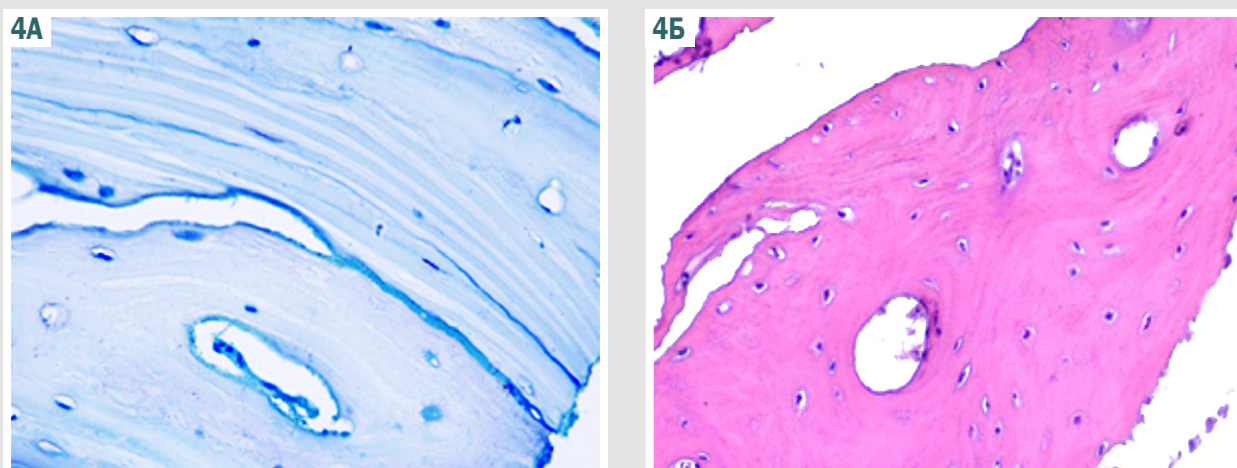


Рис. 4А. Фрагменти кісткових трабекул, сформованих пластинчастою кістковою тканиною. Забарвлення толуїдиновим синім, зб. $\times 400$.

Рис. 4Б. Фрагмент кісткової трабекули, утвореної пластинчастою кістковою тканиною з формуванням остеонів. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. $\times 200$.

(95 % ДІ 41,1–48,2 %). Питомий об'єм сполучної тканини зіставний – $46,60 \pm 1,70$ % (95 % ДІ 43,1–50,1 %). Залишки Нанографту незначні, їхня частка становила $9,70 \pm 0,99$ % (95 % ДІ 7,6–11,8 %) (рис. 1Б).

Залишки Нанографту визначали переважно інтратрабекулярно – всередині кісткових трабекул, мали глобулярну форму та пористу структуру, під час забарвлення гістологічних препаратів гематоксиліном та еозином отримано слабо базофільну реакцію (рис. 2А).

У незначній кількості випадків виявлено екстратрабекулярні залишки біоматеріалу, що мали аналогічну структуру, але ззовні оточені сполучною тканиною та невеликою кількістю клітин (рис. 2Б).

Аналіз будови кісткових трабекул дав змогу встановити гетерогенність їхньої гістологічної структури: частина трабекул представлена переважно грубоволокнистою (ретикuloфіброзною) кістковою тканиною. Кісткові трабекули, що анастомозували між собою, характеризувалися варіабельністю товщини. На їхній поверхні визначено переважно остеобласти, що формували суцільний шар. В інших ділянках виявлено зони резорбції з розташованими на поверхні трабекул остеокластами. Всередині кісткових трабекул визначено численні лакуни з остеокитами, розташовані передусім нерівномірно, на різній відстані одна від одної. Простори між лакунами заповнені гомогенним яскраво-окисильним кістковим матриксом (рис. 3А) при забарвленні гематоксиліном та еозином. Перилакунарний простір характеризувався помірною метакромазією матриксу при забарвленні толуїдиновим синім.

У значній частині трабекул виявлено ознаки активного ремоделювання з заміщенням грубоволокнистої кісткової тканини пластинчастою кісткою (рис. 3А, Б). У її складі чітко візуалізувалося чергування паралельно розташованих світлих і темних кісткових пластин, регулярно орієнтованих лакун з остеокитами.

Певна кількість кісткових трабекул утворена вторинною (пластинчастою) кістковою тканиною (рис. 4А, Б).

Частина трабекул мали значну товщину, утворені пластинчастою кістковою тканиною, містили остеони, що мали типову структуру: навколо центрального каналу розташовувалися концентрично орієнтовані кісткові пластини, утворені окисильним матриксом, та радіально орієнтована лакунарно-каналцева система (рис. 4Б). У складі деяких трабекул, крім остеонів, виявлено залишки Нанографту.

Отже, за результатами оцінювання складу біопатів, отриманих із зон синус-ліфтингу, більша частина Нанографту заміщена кістковою та сполучною тканинами.

Обговорення

За даними гістоморфометричного аналізу, більша площа залишків трансплантату в зонах аугментації контактувала саме з новоутвореною кістковою тканиною. Це є чітким свідченням остеокондуктивних властивостей NanoGraft – здатності бути провідником для росту кісткових структур. Такий механізм дії є фундамен-

тальним для всіх біоматеріалів, що позиціонуються як остеointегративні, і відповідає концепції спрямованої кісткової регенерації (guided bone regeneration, GBR).

Згідно з результатами попередніх досліджень, морфологічний склад біопатів після синус-ліфтингу суттєво залежить від природи використаного матеріалу. Так, за результатами дослідження S. Corbella et al., аутогенна кістка значно ефективніше стимулює остеогенез, ніж біфазний фосфат кальцію, маючи більший відсоток новоутвореної кістки і нижчий рівень залишків матеріалу [10]. Danesh-Sani S. A. et al. встановили, що через 6–8 місяців після операції частка новоутвореної кістки в зонах аугментації становила 28,2 % для біфазного фосфату кальцію, 36,8 % – у разі застосування аутогенної кістки [11]. Разом із тим залишки біфазного фосфату кальцію становили до 32,9 %, що дало підстави зробити висновок про повільну швидкість біодеградації, а залишки аутогенного матеріалу – 4,8 %, і тому його визначено як оптимальний для синус-ліфтингу [2].

Отже, результати, встановлені в нашому дослідженні, показали істотну остеокондуктивну й остеіндуктивну активність матеріалу Нанографт. Показники новоутвореної кістки зіставні з тими, що встановлені для аутологічного трансплантату, а об'єм залишків матеріалу значно менший, ніж у разі застосування біфазного фосфату кальцію. На підставі цих даних зробили висновок про добре збалансовану біодеградацію NanoGraft, що забезпечує одночасно структурну підтримку та створення умов для формування ендогенної кісткової тканини. Крім того, зауважимо: матеріал Нанографт не індукував вираженої запальної реакції, що є додатковим свідченням його високої біосумісності.

За результатами порівняння з алогенними матеріалами, що здійснили J. Lorenz et al., також виявлено переваги NanoGraft: у разі застосування алогенної кістки новоутворена кістка становила лише $18,65 \pm 12,20$ %, а частка сполучної тканини становила понад 50 %. На підставі цих даних зробили висновок про значно меншу ефективність інкорпорації [12]. Отже, матеріал Нанографт не лише перевершує традиційні матеріали за морфологічними критеріями, але й має високу прогнозованість результатів. Це вкрай важливо для планування реконструктивних втручань у ділянці верхньощелепних синусів.

Зазначимо, що результати цього дослідження зіставні з показниками, що встановлені під час використання сучасних гібридних скафолдів на основі гідроксиапатиту, поліетиленаміну та полімолочної кислоти (M. Stevanovic et al.), які поєднують біокерамічні та полімерні властивості, демонструючи синергію між механічною стабільністю та керованою біодеградацією [13]. Втім, перевагою матеріалу Нанографт є його готовність до клінічного застосування без необхідності індивідуального моделювання структури або нанесення додаткових біоактивних покриттів.

Гістоморфометрія дала змогу не лише визначити пропорційний склад новоутвореної кістки, сполучної тканини та залишків трансплантату, але й оцінити ступінь дозрівання кісткової тканини. У більшості біопатів виявлено структури, характерні для III ста-

дії остеогенезу – ремоделювання з переходом від ретикулофіброзної до пластинчастої кістки. У понад 25 % трабекул виявлено ознаки високої зрілості – формування остеонів, що свідчить про завершення мінералізації та стабільну інтеграцію.

Ці морфологічні спостереження збігаються з результатами, що одержали Ö. Solakoglu et al. Так, за їхніми даними, така структура кістки корелювала з високою активністю остеобластів [5]. Остеобласти як ключові клітини остеогенезу продукують органічну матрицю (колаген I типу, протеоглікани, глікопротеїни), ініціюють мінералізацію, а також експресують сигнальні молекули, що регулюють ремоделювання. Після завершення активної фази диференціації частина остеобластів інкапсулюється у лакуни та трансформуються в остеоцити – сенсорні клітини, що можуть реагувати на механічне навантаження й підтримувати гомеостаз матриксу [14, 15].

Ключову роль у запуску остеогенезу відіграє транскрипційний фактор RUNX2, що ініціює диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин у напрямі остеобластів [16]. Саме RUNX2 визначено як маркер ранньої остеогенної лінії, і його експресія вкрай необхідна для початкового формування остеїда.

Отже, згідно з результатами дослідження, NanoGraft не лише сприяє структурній остеокондукції, але й ефективно включається у регуляторну мережу остеогенезу, зумовлюючи формування зрілої, функціонально активної кісткової тканини. Враховуючи біосумісність, контрольовану деградацію та підтримку мікрооточення, сприятливого для диференціації остеобластів, матеріал Нанографт може бути повноцінною альтернативою аутологічним трансплантатам у процедурах кісткової регенерації.

Висновки

1. Використаний для синус-ліфтингу матеріал Нанографт характеризується біостимулювальним та остеоіндуктивним ефектами.

2. У біоптатах усіх досліджених випадків виявлено сплетіння кісткових трабекул.

3. Аугментація синусів Нанографтом сприяла стимуляції остеогенного диференціювання клітин та активного остеогенезу з ознаками ремоделювання та заміщенням грубоволокнистої фіброзної кістки пластинчастою кістковою тканиною з утворенням остеонів.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні та підтвердженні біостимулювального й остеоіндуктивного ефекту матеріалу Нанографт при операції з синус-ліфтингу в наступних клінічних дослідженнях.

Фінансування

Дослідження здійснено в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Вдосконалення діагностики, терапевтичного, ортопедичного і хірургічного лікування найбільш поширених стоматологічних захворювань та їх ускладнень у населення, постраждалого від воєнних дій», державний реєстраційний № 0124U004521 (2024–2029 pp.).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 14.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 19.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 25.06.2025

Відомості про авторів:

Косінов О. С., PhD аспірант каф. стоматології післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-0283-5047

Міщенко О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. стоматології післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6378-7061

Information about the authors:

Kosinov O. S., MD, PhD-student of the Department of Dentistry of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Mishchenko O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Dentistry of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.



Олег Міщенко (Oleh Mishchenko)

dr.mishchenko@icloud.com

References

1. Sanz M, Vignoletti F. Key aspects on the use of bone substitutes for bone regeneration of edentulous ridges. *Dent Mater*. 2015;31(6):640-7. doi: 10.1016/j.dental.2015.03.005
2. Sakkas A, Wilde F, Heufelder M, Winter K, Schramm A. Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a "gold standard"? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *Int J Implant Dent*. 2017;3(1):23. doi: 10.1186/s40729-017-0084-4
3. Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, et al. Current trends and future perspectives of bone substitute materials – from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012;40(8):706-18. doi: 10.1016/j.jcms.2012.01.002
4. Baj A, Trapella G, Lauritano D, Candotto V, Mancini GE, Gianni AB. An overview on bone reconstruction of atrophic maxilla: success parameters and critical issues. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2016;30(2 Suppl 1):209-215.
5. Solakoglu Ö, Götz W, Heydecke G, Schwarzenbach H. Histological and immunohistochemical comparison of two different allogeneic bone grafting materials for alveolar ridge reconstruction: A prospective randomized trial in humans. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019;21(5):1002-16. doi: 10.1111/cid.12824
6. Venkatesan J, Bhatnagar I, Manivasagan P, Kang KH, Kim SK. Alginate composites for bone tissue engineering: a review. *Int J Biol Macromol*. 2015;72:269-81. doi: 10.1016/j.jbiomac.2014.07.008
7. Fretwurst T, Gad LM, Steinberg T, Schmal H, Zeiser R, Amler AK, et al. Detection of major histocompatibility complex molecules in processed allogeneic bone blocks for use in alveolar ridge reconstruction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;S2212-4403(18)30054-3. doi: 10.1016/j.oooo.2018.01.018
8. Yu H, Tian Y, Wang Y, Mineishi S, Zhang Y. Dendritic Cell Regulation of Graft-Vs.-Host Disease: Immunostimulation and Tolerance. *Front Immunol*. 2019;10:93. doi: 10.3389/fimmu.2019.00093
9. Zhang Y, Louboutin JP, Zhu J, Rivera AJ, Emerson SG. Preterminal host dendritic cells in irradiated mice prime CD8+ T cell-mediated acute graft-versus-host disease. *J Clin Invest*. 2002;109(10):1335-44. doi: 10.1172/JCI14989
10. Corbella S, Taschieri S, Weinstein R, Del Fabbro M. Histomorphometric outcomes after lateral sinus floor elevation procedure: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2016;27(9):1106-22. doi: 10.1111/clr.12702
11. Danesh-Sani SA, Engebretson SP, Janal MN. Histomorphometric results of different grafting materials and effect of healing time on bone maturation after sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol Res*. 2017;52(3):301-12. doi: 10.1111/jre.12402
12. Lorenz J, Kubesch A, Al-Maawi S, Schwarz F, Sader RA, Schlee M, et al. Allogeneic bone block for challenging augmentation-a clinical,

- histological, and histomorphometrical investigation of tissue reaction and new bone formation. *Clin Oral Investig*. 2018;22(9):3159-69. doi: [10.1007/s00784-018-2407-0](https://doi.org/10.1007/s00784-018-2407-0)
13. Stevanovic M, Selakovic D, Vasovic M, Ljubic B, Zivanovic S, Papic M, et al. Comparison of Hydroxyapatite/Poly(lactide-co-glycolide) and Hydroxyapatite/Polyethyleneimine Composite Scaffolds in Bone Regeneration of Swine Mandibular Critical Size Defects: In Vivo Study. *Molecules*. 2022;27(5):1694. doi: [10.3390/molecules27051694](https://doi.org/10.3390/molecules27051694)
 14. Toosi S, Behravan J. Osteogenesis and bone remodeling: A focus on growth factors and bioactive peptides. *Biofactors*. 2020;46(3):326-40. doi: [10.1002/biof.1598](https://doi.org/10.1002/biof.1598)
 15. Bakkalci D, Micalet A, Al Hosni R, Moeendarbary E, Cheema U. Associated changes in stiffness of collagen scaffolds during osteoblast mineralisation and bone formation. *BMC Res Notes*. 2022;15(1):310. doi: [10.1186/s13104-022-06203-z](https://doi.org/10.1186/s13104-022-06203-z)
 16. Blair HC, Larrouture QC, Li Y, Lin H, Beer-Stoltz D, Liu L, et al. Osteoblast Differentiation and Bone Matrix Formation in Vivo and in Vitro. *Tissue Eng Part B Rev*. 2017;23(3):268-80. doi: [10.1089/ten.TEB.2016.0454](https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2016.0454)

mtDNA copy number: molecular diagnostics and mitochondrial-nuclear crosstalk in frailty and ageing

C. G. Ward 

Collegium Biomedicum, Medical University of Gdańsk, Polska

Keywords:

ageing, mtDNA, copy-number, fusion-fission, OXPHOS, ROS, Sirtuins, Klotho.

Pathologia.

2025;22(2):148-158

Quantitative assessment of mitochondrial DNA copy number is an emerging field of study in the diagnosis and evaluation of age-related pathology and frailty in the elderly, along with the assessment of other acute and chronic diseases that are often necessary within this patient cohort.

Aim: to analyze current advances in the quantitative assessment of mitochondrial DNA copy number as a tool for diagnosing and evaluating age-related pathology, frailty, and comorbid conditions in the elderly.

Material and methods. The author independently conducted a thorough review of literature available from the NIH, PubMed database, providing a detailed narrative of updates in the field. As clinical trials seek to further develop practical techniques, the author then undertook a search of relevant trials at ClinicalTrials.gov, including this as a table in the body text.

Results. The review provides a thorough examination of the theoretical foundation of mitochondrial biogenesis, fusion-fission processes, and control and repair of mitochondrial genetic material, and how advances in these topics may be applied to better understand the processes being measured in quantitative mitochondrial DNA analysis.

Conclusions. Detailed examination of the crosstalk between mitochondrial control proteins and nuclear factors, and the fundamental role of energy homeostasis apparatus within ageing processes underpins the advances in translational aspects of mitochondrial medicine and allows more effective exploitation of this emerging field.

Ключові слова:

старіння, мтДНК, кількість копій, злиття – поділ, OXPHOS, ROS, сиртуїни, Klotho.

Патологія. 2025.

Т. 22, № 2(64).
С. 148-158

Кількість копій мтДНК: молекулярна діагностика та мітохондріально-ядерні перехресні зв'язки при крихкості та старінні

Ч. Дж. Вард

Кількісне визначення кількості копій мітохондріальної ДНК – нова галузь досліджень у діагностиці та оцінюванні вікової патології та крихкості в осіб похилого віку, поряд з вивченням інших гострих і хронічних захворювань, що часто є доцільними для таких пацієнтів.

Мета роботи – проаналізувати сучасні досягнення щодо кількісного визначення копій мітохондріальної ДНК як інструмента діагностики та оцінювання вікової патології, крихкості та супутніх захворювань в осіб похилого віку.

Матеріали і методи. Здійснено ретельний огляд фахової літератури, що індексується в базі даних NIH, PubMed, з детальним описом найновіших досягнень у цій галузі. Оскільки під час клінічних випробувань прагнуть до розвитку практичних методів, на наступному етапі здійснено пошук даних щодо відповідних випробувань на ClinicalTrials.gov.

Результати. Здійснено дослідження теоретичних основ мітохондріального біогенезу, процесів злиття та поділу, а також контролю та репарації мітохондріального генетичного матеріалу. Описано, як досягнення у дослідженні з цих тем можуть бути застосовані для кращого розуміння процесів, що вимірюються під час кількісного аналізу мітохондріальної ДНК.

Висновки. Детальне дослідження взаємодії між мітохондріальними контрольними білками та ядерними факторами, а також фундаментальної ролі апарату енергетичного гомеостазу в процесах старіння є підґрунтям для розвитку трансляційних аспектів мітохондріальної медицини та забезпечує більш ефективне використання цього нового напрямку.

Quantitative assessment of mitochondrial DNA copy number is an emerging field of study in the diagnosis and evaluation of age-related pathology and frailty in the elderly, along with the assessment of other acute and chronic diseases that are often necessary within this patient cohort.

Aim

To analyze current advances in the quantitative assessment of mitochondrial DNA copy number as a tool for diagnosing and evaluating age-related pathology, frailty, and comorbid conditions in the elderly.

Materials and methods

The author independently conducted a thorough review of literature available from the NIH, PubMed database, providing a detailed narrative of updates in the field. As clinical trials seek to further develop practical techniques, the author then undertook a search of relevant trials at ClinicalTrials.gov, including this as a table in the body text.

This review explores the molecular crosstalk between the nuclear proteins and the mitochondrial compartment and its role within ageing, with specific focus on the potential use of mitochondrial DNA (mtDNA) copy number in assessing age-related pathology, frailty syndrome and the diagnosis of acute and chronic disease. The usefulness

and validity of quantitative mtDNA analysis in clinical practice rests upon the foundational science of molecular ageing, and it is vital that this mechanistic process is fully explored before such advances can be translated into tools that might be useful at the bedside.

The mitochondrial theory of ageing, concepts of frailty and frailty syndrome and the investigation of molecular biomarkers related to ageing occupy the opening sections of this review. This is followed by a discussion on the role of quantitative mtDNA analysis and a detailed examination of the molecular nature of ageing in both nuclear and mitochondrial contexts, and the degree to which both processes rely on each other for progression. The final sections are an examination of past and current clinical trials, a critique of the validity of mtDNA copy number analysis, and a short discussion on the ethical considerations implicit in age-related and transgenic research before concluding remarks on the application of theoretical science to translational medicine and the future direction of travel in this exciting subject.

Results

The mitochondrial theory of ageing. Mitochondria have long been central to the understanding of the of ageing. Via the generation of ATP, reactive oxygen species (ROS) and age-related degenerative decline, ageing cells release components required for oxidative phosphorylation (OXPHOS), resulting in decreased ATP production [1]. A true breakthrough in molecular mitochondrial gerontology came with a 2004 landmark study generating mice expressing defective mtDNA polymerase γ 1 (Pol γ 1). During the earliest part of their lives the mice were phenotypically normal, yet they quickly displayed signs of ageing including alopecia, kyphosis, osteoporosis, anaemia, heart enlargement and greatly reduced fertility. During the animals' lifespan the number of mutations in mtDNA increased exponentially and the study determined a direct and causal link between increased mtDNA mutation, mitochondrial dysfunction in oxidative phosphorylation and the ETC and age-associated phenotypes [2].

Age-related pathology in the clinic and laboratory. Age-related pathology results in adverse outcomes in hospitalisation, quality of life and mortality. It is diagnosed clinically via assessments such as the mini-mental state exam (MMSE) [3]. Fried L. P. et al. defined a "phenotype of frailty" that could be used to identify aged patients at risk of morbidity, defining frailty syndrome where three or more of the following criteria are present: "shrinking" – unintentional weight loss ≥ 10 lbs in the past year or ≥ 5 % of body weight at annual follow-up; weakness as measured by grip strength; self-reported exhaustion, poor endurance and energy; slow walking speed; low physical activity [4].

Molecular investigations in age-related pathologies are a long-running priority in gerontology and a significant literature exists regarding the molecular aspects of the ageing endocrine system. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) [5,6], SIRT1, growth differentiation factor 15 (GDF-15) [7], sex hormones such as testosterone and their precursors such as dehydroepiandrosterone (DHEA)

and DHEA sulphate (DHEAS) [8] are the main candidates under investigation. Low serum IGF-1 has been associated with decreased cognitive and physical function in aged persons and provides the most well explored biomarker of age-related infirmity [6,9]. The causal linkage between decreased endocrine activity and frailty has yet to be established and, while well explored, it remains to be seen as to whether the age related decreased of these markers is causal of biological ageing or as a subsequent response to another process [10].

The main immunological markers associated with ageing are interleukin 6 (IL-6), CRP and TNF- α , along with alterations in the function of heat shock proteins (Hsps) [11] while alterations in small Hsps may be linked with reductions in muscle function [12]. Paradoxically, reduced Hsp function in rat models conferred resistance to myocardial ischaemia [13]. C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) is a small protein chemokine secreted by neutrophils, eosinophils and lymphocytes in response to viral infection [14]. While strongly implicated in viral response [15], chemokines have also been implicated in autoimmune disease [16], as a novel mode of immunotherapy in cancers [17] and in age-related pathology. CXCL10 is induced in response to interferon- γ (IFN- γ) or viral infection and decreases mitochondrial activity, induces apoptosis and reduces cellular proliferation. Serum CXCL10 is increased in ageing and CXCL10 knockout animals have decreased response to interferon mediated immune responses [7]. Genetic material and nuclear proteins are also affected by ageing. Older cells have reduced histone synthesis, altered chromatin structure, reduced epigenetic histone methylation or acylation modification and overall loss of heterochromatin across the organism [18].

While clinical trials are progressing, the study of mtDNA is an underutilised and poorly explored aspect of molecular pathology of ageing.

The utility of mtDNA copy number in quantitative mtDNA assessment. mtDNA copy number is a measurement of the amount of mitochondrial genetic material in cells, assessed by quantitative real-time PCR (qPCR) and providing a quantitative assessment of the mitochondrial compartment of the cell [19]. Mitochondria are highly plastic organelles that adapt in form and quantity to cellular energy requirements, and it is anticipated that quantitative analysis of the mitochondrial compartment could provide an easy, cheap and effective understanding of the OXPHOS system of the cell from readily available peripheral blood samples [20].

The cellular mitochondrial compartment is highly heterogeneous and carries much variation across tissues with different energy requirements and across the organism in different physiologic states. In mice, primary oocytes have around 100,000 copies of mtDNA while sperm have around 100 [21]. Oocyte mtDNA copy number decreases with age and results in reduced reproductive success in both mice [22] and humans, also providing an avenue for fertility studies [21,23]. Similar changes in mtDNA copy number are true of other energy-rich tissues such as skeletal muscle, where mtDNA copy number can be used to predict the severity of sarcopenia in the aged [24] and nervous tissue, where reduced mtDNA

correlates with incipient Alzheimer's disease, Parkinson disease and other neurodegenerative conditions [25,26].

Attempting to determine association between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, ageing and mortality, Ashar Moes et al. assessed alterations in mtDNA copy number against all-cause mortality and prevalent frailty. Using qPCR to determine mtDNA copy number in 13,444 patient samples from participants in the 1989–2006 Cardiovascular Health Study (CHS) and the 1987–2013 Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Across the sample they determined a global reduction in mtDNA copy number against increasing indicators of frailty even while individual parameters of frailty did little to change the mtDNA copy number [27].

In 2010 J.-W. Lee et al. used qPCR to measure mtDNA copy number in peripheral leukocytes of 107 women aged over 60 in South Korea, finding that women who scored highly on tests for cognitive decline had significantly reduced mtDNA copy number when compared with those who were apparently healthy and performed significantly worse in mini-mental state examination, 6-minute walking test and chair-stand testing [28]. Similarly, muscle biopsies from 15 octogenarian world-class track and field master athletes revealed significantly higher mtDNA copy number among octogenarian master athletes when compared to control group non-athletes, along with greater preservation in muscle mass, increased abundance of mitochondrial proteins (specifically those involved in OXPHOS and the electron transport chain) and greatly increased abundance of mitochondrial ribosomes [29]. Mengel-From J. et al. used qPCR to measure the mtDNA copy number of 1,067 participants aged between 18 and 93 years. They noted age related decline in mtDNA copy number from 48 years old onwards with consistent association between higher mtDNA copy number and better physical and mental health outcomes, both in terms of physical performance and by self-rated questionnaire. Higher mtDNA copy number in aged participants was also associated with higher scores in cognitive testing [30].

Chronic disease and mtDNA copy number. Patients with chronic kidney disease (CKD) have sarcopenia, muscle weakness and limited exercise tolerance. Muscle atrophy and weakness correlates with impaired mitochondrial respiratory function and reduced mtDNA copy number [31]. Data from the ARIC study revealed that patients with CKD had a lower circulating mtDNA copy number and that a high mtDNA copy number reduced the incidence of CKD [32].

In advancing age the substantia nigra pars compacta (the primary site for dopamine production in the brain) has a particularly high level of mtDNA deletions when compared to other areas of the brain and immunohistochemistry reveals a higher rate of cytochrome c oxidase (Complex IV) depletion as age progresses [33,34]. A number of studies report that ageing brains acquire mutations in mtDNA rendering respiratory chain proteins defective and potentially providing for the pathogenesis of neurodegenerative diseases most commonly seen in the aged such as Parkinsonism [33,34]. This area could in future provide a rich seam of novel therapeutic endeavours for future research.

Nevertheless, in conducting quantitative mtDNA analysis it is necessary to understand the mechanistic process by which mtDNA is generated, degraded and controlled throughout the organism. The following section provides an undertaking of this aspect of subcellular and molecular ageing.

Failure of the mitochondrial fusion-fission cycle in the pathophysiology of ageing. Wakabayashi T. defined structural change of mitochondria as a function of simple swelling. Free radicals and ROS produce change in the inner and outer mitochondrial membrane allowing accumulation of structural deficits and failure of normal fusion and fission, resulting in the formation of so called "megamitochondria". When these organelles become so dysfunctional that their membrane potential decreases sufficiently, cytochrome c is released causing caspase activation and induction of apoptosis [35]. He determined that mitochondrial swelling and the formation of pathological mitochondrial structures could be linked to free radical and ROS related degradation [36,37].

Mitochondria exist within a fluid continuum of fission-fusion events [38,39]. Large mitochondria spit into smaller more manageable units while smaller, more motile fragments coalesce. Taken as a whole, the mitochondrial mass of the cell can be considered a "compartment" responsible for energy production and with diverse functions controlling the innate immune system. Failure of the mitochondrial fusion-fission cycle has been linked to diseases as diverse as hepatocellular carcinoma, pancreatic adenocarcinoma, "triple-negative" breast cancers, neurological conditions such as sporadic type Parkinson disease and certain variants of Charcot-Marie-Tooth disease [39], along with hereditary inborn errors of the OXPHOS system including certain variants of subacute necrotising encephalomyelopathy ("Leigh syndrome") [40,41].

This cycle is tightly regulated by a series of inner mitochondrial, outer mitochondrial and cytosolic proteins. Inner membrane optic atrophy-1 protein (Opa1) controls fusion of the inner membrane. *Drosophila* flies with mutated non-functional Opa1 soon display mitochondrial fragmentation and neural degeneration [31]. In the outer membrane, mitofusins -1 & -2 (Mfn-1 & Mfn-2) are highly conserved dynamin-related GTPases with diverse functions in the cell. While the two proteins are highly homologous, they are not functionally identical. Mfn-1 has the highest GTP affinity and is largely responsible for mitochondrial fusion [42]. Mfn-2 is best known as the defective protein in Charcot-Marie-Tooth (type IIa) sensory neuropathy. It is essential for the proper function of mitochondria as it tethers mitochondria to the endoplasmic reticulum (ER) and regulates ER shape and aspects of ER-mitochondrion calcium transfer [43].

During chronic disuse of skeletal muscles Mfn-2 and Opa1 are downregulated, leading to reduced fusion of mitochondria, increased organelle fragmentation and reduced mitochondrial mass within myofibrils [38]. In the innate immune system both Mfn-1 [44] and Mfn-2 activate mitochondrial antiviral signalling protein (Mavs) which, via activation of nuclear factor κ B (NF- κ B) upregulates production of interferons type I & III when activated by viral states or the release of mitochondrial RNA (mtRNA) [45]. Mfn-1 & -2 deficiency results in significant reduction in

1

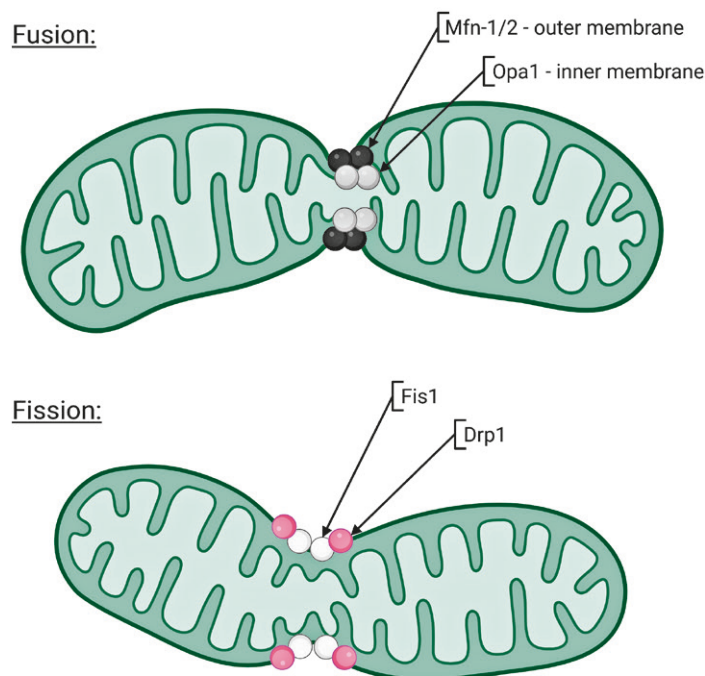


Fig. 1. Mitochondrial dynamics, showing fusion-fission apparatus of mitochondria (created in Biorender.com).

mitochondrial encoded electron transport chain complex proteins, yet no change in expression of nuclear encoded proteins of the TOM complex. Similarly, gross deficiency of Tfam expression is seen even while levels of Tfam-encoding mRNA remain constant, suggesting that mitofusins play a key role in post-transcription expression of Tfam. Other mitochondrial gene expression proteins such as Pol- γ and Twinkle remain constant, indicating alternative methods of modulating mtDNA replication take precedence [42].

Mitochondrial fission is controlled by dynamin-related protein (Drp1) and fission protein 1 (Fis-1). Drp1 is a GTPase which translocates to the outer mitochondrial membrane and develops active fission sites when recruited by Fis-1 [46]. Proinflammatory cytokine IL-6, highly expressed in chronic low-level inflammatory states in ageing tissue, stimulates production of Drp-1 and results in mitochondrial fission throughout skeletal muscle, which suggests a link between chronic inflammation of ageing and sarcopenia seen in advanced frailty syndrome [47].

Mitochondrial fusion and fission is a tightly controlled process regulating the size and surface area of organelles. Fusion is controlled by mitofusins 1 and 2 (Mfn-1 and Mfn-2) in the outer membrane and optic atrophy protein (Opa1) in the inner membrane. Fission is controlled by outer membrane proteins dynamin related protein 1 (Drp1), a GTPase which is recruited to the outer mitochondrial membrane by fission protein 1 (Fig. 1).

Expression of mtDNA and mtDNA copy number is responsive to Mfn-1 Mfn-2 activity and both proteins are required to maintain proper mitochondrial structure. In mouse model studies, animals deficient in Mfn-1 alone

had disorganised and fragmented mitochondria yet nevertheless maintained normal mtDNA copy number, maintaining glucose homeostasis in pancreatic β cells despite this fragmentation. Animals deficient in both Mfn-1 and Mfn-2 had fragmented mitochondria with reduced mtDNA copy number and were unable to maintain glucose homeostasis [42]. Traditional models of glucose tolerance dysregulation in ageing have focused on alterations in insulin receptor expression, function and response of second messenger systems [48,49,50,51]. The finding that mitochondrial aberrations can produce similar clinical results provides a fascinating alternate explanation and complements the hypothesis that correct mitochondrial homeostasis and morphological dynamics are essential to the proper functioning of metabolism.

Mitochondrial nucleoids house genetic information.

Mitochondrial genetic material is housed in nucleoid DNA-protein ("nucleoprotein") configurations associated with the inner mitochondrial membrane (IMM) [52]. mtDNA polymerase (Pol γ 1) is encoded in autosomal DNA and has both replicative and repair functions [53,54], showing a high degree of similarity to yeast and bacterial DNA polymerases [55]. Twinkle protein is a nuclear encoded mtDNA helicase with intramitochondrial nucleoid localisation, responsible for priming and unwinding mtDNA in replication and repair [53].

Of the many hundreds of proteins present in the mitochondrion, only 13 are encoded by mtDNA and all of those are subunits or components of subunits in the respiratory chain [56]. This complex interplay of nuclear and mitochondrial elements requires constant communication between nucleus and mitochondria, and this is accomplished via

nuclear respiratory factors 1 and 2 (NRF-1, -2). In addition to upregulating production of mitochondrial proteins such as cytochrome c oxidase, NRF-1 and -2 are the key activators of mitochondrial transcription factor A (Tfam). Tfam was one of the earliest proteins to be localised in both the nucleus and mitochondrion, and it holds a central role co-ordinating nuclear command and control of mitochondrial energy generation [52]. Tfam links NRF-1 & -2 to mitochondrial transcription and replication apparatus [57]. NRF-1 or -2 binding to Tfam causes activation of mitochondrial transcription, production of mtDNA and mitochondrial rRNAs and tRNAs. Tfam negative mice develop respiratory chain deficiencies, various cardiac abnormalities including arrhythmia and cardiomyopathy and have greatly reduced longevity [58]. On translation, nuclear-encoded proteins are conveyed via dense reticular networks to mitochondria, where they enter through translocator of outer membrane (TOM) complexes. The TOM complex is the primary means of transport for more than 90 % of mitochondrial proteins into the organelle and allows delivery of pre-protein components to mitochondrial sorting systems [59].

Repair and maintenance of the mitochondrial genome.

Deletions and point mutations in mtDNA and mitochondrial tRNA cause diseases with typically heterogeneous presentation and variable penetrance, the most common of which is subacute necrotising encephalomyelopathy ("Leigh syndrome") [40,41]. While mitochondria are the major cellular origin of oxidative stress, they do not appear to have a unique pathway of genetic repair and much of the nuclear DNA repair apparatus is "shared" with mitochondria. Excision repair apparatus is shared almost entirely with nucleic genetic material whereas mismatch repair is more reliant on mitochondrial proteins.

Oxidative damage is largely repaired by base excision repair, either by short-patch (SP) or long-patch (LP) pathways. SP repair is used when DNA polymerase- γ 1 (Pol γ 1) can repair a single nucleotide gap between a free 3' hydroxyl group and a 5' phosphate, while LP repair is used when there is a 5' end that cannot be ligated by a single nucleotide and a short single-stranded DNA (ssDNA) "patch" must be generated to fill the gap [54]. The LP repair system was first discovered in mitochondria in 1998 when it was demonstrated that oligonucleotides were utilised by mtDNA ligase and Pol γ 1 to repair abasic sites [60].

Telomeric ageing controls mitochondrial ageing. Telomerase reformulates eukaryotic chromosomal telomeres by the addition of nucleotide tandem repeats allowing continued replication of chromosomes [61], and subsequent discoveries have demonstrated that telomerase is highly conserved across eukaryotic kingdoms [62]. Chromosomal telomere dysfunction activates p53 to arrest growth, produce senescence and initiate apoptosis. While commonly described as a tumour-suppressor gene and the "guardian" of the genome, the role of p53 is varied, wide ranging and displays many characteristics of both a classical tumour suppressor gene and oncogene. Wild-type p53 acts as a negative regulator of cell growth, yet the atypical variants found in cancers express multifunctional gain of function mutations that drive tumour growth [63]. p53 is the most prolific mutation found in cancer and, most understandably, its role in oncogenesis has been by far its most studied aspect [64].

It is now clear that the role of p53 in governing mitochondria and energy balance across the cell is vital to its function as a key regulator of cell growth and differentiation. This relationship was first elucidated by the discovery that p53 activation suppressed "Warburg-type" glycolysis and increased cytochrome c production and aerobic mitochondrial respiration in severely nutrient depleted glioblastoma cells [65]. This is achieved through activation of proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 α and β (PGC-1 α and PGC-1 β) and PGC-1-related coactivator (PRC) which act as high-level regulators of mitochondrial function and are regulated by P53 (Fig. 2) [66]. PGC-1 α was first discovered as a cold-induced coactivator of thermogenic-associated nuclear receptors increasing transcriptional activity of PPAR γ and thyroid hormone receptors in thermogenic tissue. Activation of PGC-1 α promotes expression of mitochondrial respiratory chain enzymes, thermogenic uncoupling protein 1 (UCP-1) and increases the expression of mtDNA across the cell [67]. PRC is not upregulated in thermogenic tissue and does not have the same cold-induction properties of PGC-1 α/β and is instead expressed constitutively in skeletal and cardiac muscle [68].

Since this discovery, the pathway through which PGC-1 α/β and PRC regulate high-level mitochondrial function and energy homeostasis has been further researched. Increasing cellular NAD⁺ (indicating low cellular energy balance) activates mitochondrial deacetylase silent information regulator 1 (Sirt-1) which deacetylates and activates PGC-1 α and PGC-1 β . In contrast, increased cellular acetyl-CoA (indicating high cellular energy state) activates general control non-repressed protein 5 (GCN5), an acyltransferase inhibiting PGC-1 α [69].

Similarly, increased circulating IL-6 as seen in low level chronic inflammation causes suppression of PGC-1 α gene expression via activation of extracellular regulated kinase 1/2 (ERK1/2), resulting in mitochondrial depletion and skeletal muscle catabolism [47]. Specifically, IL-6 causes inactivation of MEK [70] (the primary downstream target of second messenger Raf [71]), which downregulates a mitogen activated protein kinase (MAPK) and the MAPK signalling pathway, resulting in reduced translation and mRNA expression of PGC genes [70].

In mouse models, telomere dysfunction directly causes quantitative deficits in downstream PGC-1 α and PGC-1 β expression resulting in downregulation of genes for oxidative phosphorylation proteins, defence against ROS (such as glutathione peroxidase), gluconeogenesis, and the synthesis of fatty acids and cholesterol. Consequently, cellular mitochondrial mass and energy production are inversely proportional to the degree of telomere dysfunction. This is especially marked in tissues with a high basal rate of ATP production such as the heart and liver which, in ageing, show reduced mtDNA copy number, reduced Complex I & IV activity and reduced ATP production [72].

Potentially, neoplastic cells with inappropriately activated telomerase maintain telomere stability allowing pathological hyperplasia and hypertrophy. Aged cells with reduced telomere stability show a concomitant reduction in activation of PGC-1 α/β and therefore decreased mitochondrial gene expression, function and mass within the cell.

2

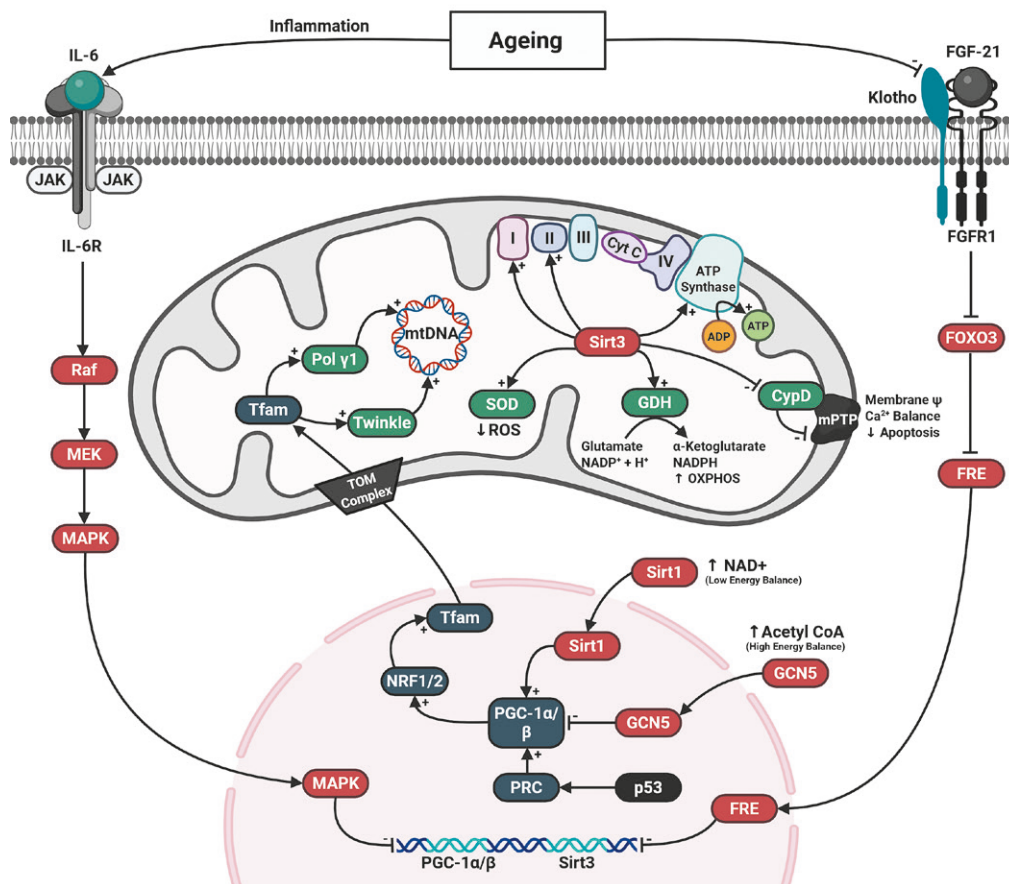


Fig. 2. The effect of ageing on nuclear regulation of mitochondrial energy homeostasis.

Sirtuins, klotho & fibroblast growth factors in mitochondrial ageing. Sirtuins are the protein product of silent information regulator (SIR) genes and act as NAD-dependent acylases / deacylases found throughout the cytoplasm, nucleus and mitochondria. Sirtuin protein complexes are highly expressed in the nucleolus and regulate the transcription of ribosomal subunits. In the simple yeast *Saccharomyces cerevisiae*, sirtuins 2, 3 and 4 are linked to longevity, and knockout cells with inactivated Sirt-2, -3 & -4 have significantly shortened lifespans [73].

Sirt-3 also functions as a major mitochondrial NAD-dependent deacylase responsible for epigenetic deacylation of lysine residues. In mitochondria, Sirt-3 deacylation of TCA cycle malate dehydrogenase and complexes II and V of the ETC produces increased ATP levels, while deacylation of superoxide dismutase (SOD) of the antioxidant system provides much needed protection against the ROS so readily produced in the matrix [74,75]. Sirt-3 also directly regulates complex I of the ETC. Mitochondria deficient in Sirt-3 have around 50 % lower resting ATP levels in comparison to controls, along with increased complex I activity on addition of exogenous Sirt-3 [76]. Glutamate dehydrogenase (GDH) is a significant target of Sirt-3 deacylation, inducing enzyme activation and increasing production of α -ketoglutarate, stimulating OXPHOS within the cell [74].

Sirt-3 has another intriguing role as the regulator of mitochondrial permeability via Sirt-3 cyclophilin D (cypD) interaction. CypD is a chaperone of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) which, when induced to bind to adenine nucleotide translocator, initiates the opening of the pore allowing transfer of material between the mitochondrial matrix and the cytosol, loss of membrane potential, disruption of calcium metabolism and the OXPHOS system and cell death [77,78].

Klotho, which has been linked to age-related pathology suppression, is a three-isoform protein co-receptor allowing fibroblast growth factor (FGF) binding to the receptor complex. All isoforms are transmembrane proteins acting in association with FGF receptor 1 (FGFR1) complexes, and there also exists a soluble form found in circulation [79,80]. Klotho proteins are essential for the binding of FGF-19, FGF-21 and FGF-23 to FGF receptor 1 (FGFR1) complexes. FGF-21 is a stress hormone produced in response to starvation and exercise [75], FGF-19 results from satiety [80] while FGF-23, in association with vitamin D and parathyroid hormone (PTH), regulates calcium and phosphorus balance [81].

FGF-21 and Klotho promote Sirt-3 expression and are essential control points in the maintenance of mitochondrial OXPHOS and antioxidant systems. FGF-21 binding FGFR1 induces a MAPK cascade converging on transcription factor forkhead box protein O3 (FOXO3)

which, via FOXO3 response elements (FRE) stimulates production of Sirt-3. This has been demonstrated in FOXO3 inhibited mouse models where FGF-21 is no longer able to induce production of Sirt-3 [75]. Immediate control of Sirt-3 is provided for via the SENP1-Sirt-3 axis, where small ubiquitin-like modifier (SUMO) proteins are covalently attached to Sirt-3 by SUMO-specific protease SENP-1 [82]. In addition to the action of FGF-21, Klotho acts as an anti-ageing protein by preventing senescence through suppression of RIG-1 mediated activation of NF- κ B [83,84] and the decreased ability of ROS to activate the caspase-9 and -3 apoptotic pathway [85].

In tissues undergoing normal oxidative phosphorylation, PGC-1 α/β sit at the centre of nuclear control of metabolism. P53, acting via PRC activates it, as does a reduced energy balance across the cell (signified by increased NAD⁺), which acts via Sirt1. When there is a high energy balance across the cell (signified by increased acetyl-CoA), PGC-1 α/β is deactivated. Activation of PGC-1 α/β causes translocation of Tfam to the mitochondrial matrix where, acting through Pol γ 1 and Twinkle, mtDNA replication and the production of mitochondrial OXPHOS proteins is upregulated. Similarly, the activation of Sirt3 results in increased production of OXPHOS proteins, increased glutamate dehydrogenase (GDH) activity (resulting in increased α -ketoglutarate and increased tricarboxylic acid cycle flux) and increased superoxide dismutase activity, resulting in less ROS production. Acting via cyclophilin D, Sirt3 modulates the activity of the mitochondrial permeability transition pore (mPTP), resulting in membrane potential stability, maintenance of proper calcium balance and reduction in apoptosis (Fig. 2).

Ageing organisms encounter persistent low-level inflammation and the depletion of necessary cofactors, such as Klotho, required for the binding of FGF-21. Via a series of intracellular cofactors such as MEK, MAP kinase (MAPK), forkhead box protein O3 (FOXO3) and FOXO3 response element (FRE), production of essential modulators of cellular energy metabolism PGC-1 α/β and Sirt3 are downregulated. This causes downregulation of mitochondrial energy metabolism, mtDNA transcription, and mitochondrial protein synthesis, along with reduced mitochondrial stability, disruption of membrane potential and ultimately apoptosis.

Discussion

Relevant clinical trials. A number of clinical trials have been conducted or are currently taking place investigating the application of quantitative mtDNA analysis into the diagnosis or evaluation of risk or progression in disease and ageing. Several focus on the use of mtDNA copy number as a biomarker in disease states, frailty syndrome. Of particular interest is the use of mtDNA copy number to assess risk of neurocognitive impairment, sarcopenia and muscle function. A full list of past and current trials can be found in Table 1.

A critique of the validity of mtDNA copy number. In peripheral blood there are a wide variety of cells and cellular components that have a greatly varying mitochondrial complement. Red blood cells have a negligible mitochondrial fraction and contain only trace amounts of

mtDNA, which is why peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are the tested fraction in whole blood [20]. This “buffy coat” includes a wide and uneven distribution of CD4⁺ Th cells, CD8⁺ Tc cells, B cells, NK cells, neutrophils, monocytes, eosinophils and basophils; all present in different samples in differing quantities, influenced by a wide variety of physiological and pathological factors and themselves having different energy requirements and mitochondrial composition [86]. Platelets do not have nuclear DNA yet do have mitochondria and mtDNA and frequently contaminate and “stick” to fractionated PBMCs, potentially altering the observed mtDNA copy number [87,86].

While it is often thought that decreased mtDNA copy number is indicative of disease states some studies have reported a paradoxical rise in mtDNA. In cell lines derived from an individual with chronic progressive external ophthalmoplegia, a disease-causing weakness of the eye muscles resulting from mtDNA deletions of components of the OXPHOS system or mtDNA maintenance apparatus, an increased in mtDNA copy number and mitochondrial mass within the cell was observed even while OXPHOS was absent [88]. Similarly, diseases exist which logically exclude the utility of quantitative mtDNA analysis. Leber hereditary optic neuropathy, for example, is an inherited mitochondrial disease resulting from mtDNA base pair mutations in ETC complex I. Patients often display increased mitochondrial mass and mtDNA copy number in comparison to controls owing to a hypothesised upregulation of mitochondrial genetic material and mitochondrial biogenesis in order to compensate for reduced OXPHOS capacity [89]. While researchers have produced techniques and proposed correction formulae to reduce introduced bias [90], there nevertheless remain questions about whether studies of mtDNA copy number are truly comparing like with like, and whether the techniques can overcome these challenges to gain validity at the bedside.

Ethical considerations. Advances in medical technology inevitably open new frontiers in medical ethics. Whether ageing should be considered as a disease (and should therefore be treated) or as a natural part of the pattern of life is as much a question of philosophy as medical science. The topic is discussed at length in both the scientific literature [91,92,93] and the popular press, eliciting strong and sometimes polarising reactions. Changes in life expectancy brought by life-extending medical treatments and declining patterns of fertility in Western nations also stimulates discussion regarding future demographic and economic challenges in countries with declining birth rates and ageing populations [94,95].

Meanwhile, emerging transgenic mitochondrial fertility treatments produce debate regarding the ethical considerations, with early concerns raised regarding the long-term downstream effect of “transmitochondrial babies”, and arguments made for renewed public and legal scrutiny [96]. These topics should be discussed sensitively and in depth, with full regard to cultural expectations which may differ across communities [97]. A thorough examination of these topics remains beyond the scope of this article, yet it is nevertheless important that research into ageing, life-extending treatment and transgenic cellular biology is conducted within a robust ethical and philosophical framework.

Table 1. Clinical trials relevant to the quantitative study of mtDNA, the effects on ageing and mitochondrial diseases (from [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov), National Library of Medicine, Bethesda, MD USA)

Trial ID	Start Date	Title	Sponsor	Location	Investigation	Status	Hyperlink
NCT00831948	01/12/2008	Identification of Large-Scale Mutations of POLG Gene by QMPF in Patients With Mitochondrial DNA Instability	Centre Hospitalier Universitaire de Nice	Nice, France	To determine the role of POLG mutation in diseases of mtDNA instability	Unknown	https://clinicaltrials.gov/study/NCT00831948
NCT02132091	01/03/2011	Practicality of Intermittent Fasting and Its Effect on Markers of Aging and Oxidative Stress	University of Florida	Gainesville, Florida, USA	To determine the effect of intermittent fasting on markers of ageing (ROS, sirtuins, mitochondrial biogenesis factors) and oxidative stress	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT02132091
NCT01931540	01/06/2012	Developmental ORIGins of Healthy and Unhealthy AgeIng: the Role of Maternal Obesity (DORIAN)	Turku University Hospital	Turku, Finland	To determine the effect of obesity on ageing using biomolecular markers, PET-CT imaging and clinical parameters	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT01931540
NCT01993082	01/01/2014	Fitness, Cellular Aging, and Caregiver Stress Study (FAST)	University of California, San Francisco	San Francisco, USA	Assessment of mitochondrial function and telomere length (among other parameters) and determination of whether aerobic training alters patterns of immune cell ageing	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT01993082
NCT02116166	01/05/2014	Skeletal Muscle Inflammation, Oxidative Stress and DNA Repair in Age-Related Sarcopenia	University of Florida	Gainesville, Florida, USA	Investigating the molecular basis of age-related sarcopenia with multi-omics techniques	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT02116166
NCT03290040	01/01/2015	Identification of Predictors for Early Cognitive Decline in Men	Rigshospitalet, Denmark	Glostrup, Denmark	Assessment of mitochondrial genetics (and other molecular and clinical features) to explore age-related brain pathology	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT03290040
NCT02500823	01/04/2015	Association Between Mitochondrial DNA Copy Number in Peripheral Blood Cells and Risk of Developing Coronary Heart Disease	Air Force Military Medical University, China	Xi'an, Shanxi, China	To determine the association between mtDNA copy number from peripheral blood and risk of coronary heart disease in 200 previously healthy individuals	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT02500823
NCT02472340	01/06/2016	Assessment and Reproducibility of Mitochondrial Function and Mitophagy Measurements in Human Muscle Tissue of Active and Pre Frail Elderly Males	Amazentis SA	Leiden, Netherlands	Assessment of decline in mitochondrial health associated with impairment in muscle function, along with levels of mitophagy and autophagy using mitochondrial biomarkers	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT02472340
NCT03077672	10/02/2017	Mitochondrial DNA as a Biomarker of Sepsis Severity	Weill Medical College of Cornell University	New York, USA	Determination of sepsis severity using mtDNA from peripheral blood	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT03077672
NCT03340571	12/03/2018	mtDNA Damage in Alzheimer's Disease (AD)	Duke University	Durham, North Carolina, USA	Analysis of blood biomarkers of mtDNA damage to determine diagnosis and disease progression in Alzheimer disease patients	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT03340571
NCT03929458	07/05/2019	Association of Uremic Sarcopenia and Mitochondrial Copy Number and Its Clinical Correlates	Tungs' Taichung Metroharbour Hospital	Taichung, Taiwan	To determine whether mtDNA copy number can be used to predict age-related sarcopenia	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT03929458
NCT04763291	01/09/2021	Cardiovascular and InflammAging Study	Green Beat	Graz, Austria	To determine whether ingestion of encapsulated juice powder and plant based omega fatty acid supplements affect biomarkers of cardiovascular health and biological ageing	Recruiting	https://clinicaltrials.gov/study/NCT04763291
NCT05600192	18/10/2021	Target Mitochondrial Fitness, Chronobiology and Metabolism	Fundación Pública Andaluza para la Investigación de Málaga en Biomedicina y Salud	Malaga, Spain	To determine the effect of aerobic and anaerobic exercise on mitochondrial function at different times of day	Unknown	https://clinicaltrials.gov/study/NCT05600192
NCT05123859	05/01/2022	Patterns of Natural Aging and the Role of Senescence Registry	University of North Carolina, Chapel Hill	Chapel Hill, North Carolina, USA	Collecting age-related biomarkers to model ageing across cohort lifespan	Completed	https://clinicaltrials.gov/study/NCT05123859
NCT03539497	06/12/2023	Prognostic Value of Plasma Mitochondrial DNA and Cytochrome C After Cardiac Arrest	University Medical Centre Ljubljana	Ljubljana, Slovenia	To determine whether plasma mtDNA copy number and cytochrome c holds prognostic value after cardiac arrest	Active	https://clinicaltrials.gov/study/NCT03539497
NCT06334107	01/05/2024	Mitochondrial DNA Signatures of Poor Aerobic Exercise Trainability in Young Adults Born Preterm	Texas Tech University	Lubbock, Texas	To determine whether a specific mtDNA profile is associated with poor aerobic exercise tolerance in individuals born extremely preterm	Recruiting	https://clinicaltrials.gov/study/NCT06334107
NCT06433427	29/05/2024	Metabolic Dysregulation as Biomarker of Frailty: Role of the Mitochondrial Dysfunction (FRAMITO)	University Hospital of Ferrara	Ferrara, Italy	Assessment of the role of mitochondrial dysfunction in frailty through analysis of peripheral blood mononuclear cells	Not yet recruiting	https://clinicaltrials.gov/study/NCT06433427

Conclusions

1. Advanced techniques in molecular biology have allowed the detailed elucidation of the control systems that govern mitochondrial biogenesis, degradation and repair, and it is particularly fascinating that this energy metabolism apparatus directly participates in the molecular process of ageing. The high degree of influence by nuclear factors on these systems allows a mechanistic explanation of how ageing organelles and cells can produce clinical syndromes that are seen in the clinic. Detailed examination of the role of ROS in producing genetic mutation and the fascinating apparatus, highly conserved across millennia, that exists to repair this damage enables much greater understanding of ageing as a molecular process and potentially provides avenues for investigation and treatment.

2. Nevertheless, much work remains to be done to translate these advances into practical techniques that can be employed at the patient's bedside. Despite concerns around theoretical viability and practical employment, investigation of mtDNA copy number remains a field where significant developments may yet be made. As a general summary, high mtDNA copy number in PBMCs corresponds to states of health and positive activity or diseases of low penetrance and severity, while low mtDNA copy number is a poor prognostic marker and is linked to frailty and a wide range of disease states. Current and ongoing trials aim to further clarify this while also determining whether the techniques can prove to be widely applicable in day-to-day practice.

3. Whether this is causative has yet to be determined, and the answer will be key to producing treatments for the many diseases in which mitochondrial dysfunction is an aetiological agent. The elucidation of mitochondrial repair mechanisms and the further determination of the molecular basis of mitochondrial dysfunction open new pathways for the treatment and management of many currently incurable diseases. The prospect of a quick, simple, bedside method to quantitatively determine the risk of frailty and age-related pathology is tantalisingly close. While it is tempting to opine that all that remains is the refinement of the method and production of commercial standards, the basic methods employed need further development. Advances in understanding the fundamental background of mitochondrial biogenesis, control of energy homeostasis and the implicit role of these processes in ageing enable us to answer with greater clarity when, on drawing the peripheral blood sample for quantitative mtDNA analysis, we ask what, exactly, are we looking at?

Funding

The study was performed without financial support.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 21.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 23.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 02.07.2025

Information about the author:

Ward C. G., Collegium Biomedicum, Medical University of Gdańsk, Polska.

ORCID ID: 0009-0004-7931-7824

Відомості про автора:

Вард Ч. Дж., Collegium Biomedicum, Гданський медичний університет, Польща.



Charles Geoffrey Ward (Чарльз Джеффри Вард)
charles.ward@gumed.edu.pl

References

- Ernster L, Low H, Nordenbrand K, Ernster B. A component promoting oxidative phosphorylation, released from mitochondria during aging. *Exp Cell Res*. 1955;9(2):348-9. doi: [10.1016/0014-4827\(55\)90108-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(55)90108-7)
- Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*. 2004;429(6990):417-23. doi: [10.1038/nature02517](https://doi.org/10.1038/nature02517)
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-98. doi: [10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6)
- Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56(3):M146-56. doi: [10.1093/gerona/56.3.m146](https://doi.org/10.1093/gerona/56.3.m146)
- Chew J, Tay L, Lim JP, Leung BP, Yeo A, Yew S, et al. Serum Myostatin and IGF-1 as Gender-Specific Biomarkers of Frailty and Low Muscle Mass in Community-Dwelling Older Adults. *J Nutr Health Aging*. 2019;23(10):979-86. doi: [10.1007/s12603-019-1255-1](https://doi.org/10.1007/s12603-019-1255-1)
- Doi T, Shimada H, Makizako H, Tsutsumimoto K, Hotta R, Nakakubo S, et al. Association of insulin-like growth factor-1 with mild cognitive impairment and slow gait speed. *Neurobiol Aging*. 2015;36(2):942-7. doi: [10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.035](https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.035)
- Cardoso AL, Fernandes A, Aguiar-Pimentel JA, de Angelis MH, Guedes JR, Brito MA, et al. Towards frailty biomarkers: Candidates from genes and pathways regulated in aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev*. 2018;47:214-77. doi: [10.1016/j.arr.2018.07.004](https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.07.004)
- Cawthon PM, Ensrud KE, Laughlin GA, Cauley JA, Dam TT, Barrett-Connor E, et al. Sex hormones and frailty in older men: the osteoporotic fractures in men (MrOS) study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3806-15. doi: [10.1210/jc.2009-0417](https://doi.org/10.1210/jc.2009-0417)
- Doi T, Makizako H, Tsutsumimoto K, Hotta R, Nakakubo S, Makino K, et al. Association between Insulin-Like Growth Factor-1 and Frailty among Older Adults. *J Nutr Health Aging*. 2018;22(1):68-72. doi: [10.1007/s12603-017-0916-1](https://doi.org/10.1007/s12603-017-0916-1)
- Clegg A, Young J, Iliffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet*. 2013;381(9868):752-62. doi: [10.1016/S0140-6736\(12\)62167-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62167-9)
- Goncalves RS, Maciel AC, Rolland Y, Vellas B, de Souto Barreto P. Frailty biomarkers under the perspective of geroscience: A narrative review. *Ageing Res Rev*. 2022;81:101737. doi: [10.1016/j.arr.2022.101737](https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101737)
- Dubińska-Magiera M, Jabłońska J, Saczko J, Kulbacka J, Jagla T, Daczewska M. Contribution of small heat shock proteins to muscle development and function. *FEBS Lett*. 2014;588(4):517-30. doi: [10.1016/j.febslet.2014.01.005](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.01.005)
- Grant JE, Bradshaw AD, Schwacke JH, Baicu CF, Zile MR, Schey KL. Quantification of protein expression changes in the aging left ventricle of *Rattus norvegicus*. *J Proteome Res*. 2009;8(9):4252-63. doi: [10.1021/pr900297f](https://doi.org/10.1021/pr900297f)
- Elemam NM, Talaat IM, Maghazachi AA. CXCL10 Chemokine: A Critical Player in RNA and DNA Viral Infections. *Viruses*. 2022;14(11):2445. doi: [10.3390/v14112445](https://doi.org/10.3390/v14112445)
- Zhang N, Zhao YD, Wang XM. CXCL10 an important chemokine associated with cytokine storm in COVID-19 infected patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(13):7497-505. doi: [10.26355/eurrev_202007_21922](https://doi.org/10.26355/eurrev_202007_21922)
- Lee EY, Lee ZH, Song YW. CXCL10 and autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2009;8(5):379-83. doi: [10.1016/j.autrev.2008.12.002](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.12.002)
- Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, Puccini A, Berger MD, Soni S, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation – A target for novel cancer therapy. *Cancer Treat Rev*. 2018;63:40-7. doi: [10.1016/j.ctrv.2017.11.007](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.11.007)
- Saul D, Kosinsky RL. Epigenetics of Aging and Aging-Associated Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(1):401. doi: [10.3390/ijms22010401](https://doi.org/10.3390/ijms22010401)
- Longchamps RJ, Castellani CA, Yang SY, Newcomb CE, Sumpter JA, Lane J, et al. Evaluation of mitochondrial DNA copy number estimation techniques. *PLoS One*. 2020;15(1):e0228166. doi: [10.1371/journal.pone.0228166](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228166)

20. Picard M. Blood mitochondrial DNA copy number: What are we counting? *Mitochondrion*. 2021;60:1-11. doi: [10.1016/j.mito.2021.06.010](https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.06.010)
21. Wai T, Ao A, Zhang X, Cyr D, Dufort D, Shoubridge EA. The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility. *Biol Reprod*. 2010;83(1):52-62. doi: [10.1095/biolreprod.109.080887](https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.080887)
22. Kushnir VA, Ludaway T, Russ RB, Fields EJ, Koczor C, Lewis W. Reproductive aging is associated with decreased mitochondrial abundance and altered structure in murine oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(7):637-42. doi: [10.1007/s10815-012-9771-5](https://doi.org/10.1007/s10815-012-9771-5)
23. Wang T, Zhang M, Jiang Z, Seli E. Mitochondrial dysfunction and ovarian aging. *Am J Reprod Immunol*. 2017;77(5). doi: [10.1111/aji.12651](https://doi.org/10.1111/aji.12651)
24. McCastlain K, Howell CR, Welsh CE, Wang Z, Wilson CL, Mulder HL, et al. The Association of Mitochondrial Copy Number With Sarcopenia in Adult Survivors of Childhood Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2021;113(11):1570-580. doi: [10.1093/jnci/djab084](https://doi.org/10.1093/jnci/djab084)
25. Reddy, P.H. Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A, Corti S, Comi GP, Bresolin N, et al. The Role of Mitochondria in Neurodegenerative Diseases: The Lesson from Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol*. 2020;57(7):2959-80. doi: [10.1007/s12035-020-01926-1](https://doi.org/10.1007/s12035-020-01926-1)
26. Yang SY, Castellani CA, Longchamps RJ, Pillalamarri VK, O'Rourke B, Guallar E, et al. Blood-derived mitochondrial DNA copy number is associated with gene expression across multiple tissues and is predictive for incident neurodegenerative disease. *Genome Res*. 2021;31(3):349-58. doi: [10.1101/gr.269381.120](https://doi.org/10.1101/gr.269381.120)
27. Ashar FN, Moes A, Moore AZ, Grove ML, Chaves PH, Coresh J, et al. Association of mitochondrial DNA levels with frailty and all-cause mortality. *J Mol Med (Berl)*. 2015;93(2):177-86. doi: [10.1007/s00109-014-1233-3](https://doi.org/10.1007/s00109-014-1233-3)
28. Lee JW, Park KD, Im JA, Kim MY, Lee DC. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood is associated with cognitive function in apparently healthy elderly women. *Clin Chim Acta*. 2010;411(7-8):592-6. doi: [10.1016/j.cca.2010.01.024](https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.01.024)
29. Ubaida-Mohien C, Spendiff S, Lyashkov A, Moaddel R, MacMillan NJ, Filion ME, et al. Unbiased proteomics, histochemistry, and mitochondrial DNA copy number reveal better mitochondrial health in muscle of high-functioning octogenarians. *Elife*. 2022;11:e74335. doi: [10.7554/eLife.74335](https://doi.org/10.7554/eLife.74335)
30. Mengel-From J, Thinggaard M, Dalgård C, Kyvik KO, Christensen K, Christiansen L. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood cells declines with age and is associated with general health among elderly. *Hum Genet*. 2014;133(9):1149-59. doi: [10.1007/s00439-014-1458-9](https://doi.org/10.1007/s00439-014-1458-9)
31. Rao M, Jaber BL, Balakrishnan VS. Chronic kidney disease and acquired mitochondrial myopathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2018;27(2):113-20. doi: [10.1097/MNH.0000000000000393](https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000393)
32. Tin A, Grams ME, Ashar FN, Lane JA, Rosenberg AZ, Grove ML, et al. Association between Mitochondrial DNA Copy Number in Peripheral Blood and Incident CKD in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(8):2467-73. doi: [10.1681/ASN.2015060661](https://doi.org/10.1681/ASN.2015060661)
33. Itoh K, Weis S, Mehraein P, Müller-Höcker J. Cytochrome c oxidase defects of the human substantia nigra in normal aging. *Neurobiol Aging*. 1996;17(6):843-8. doi: [10.1016/s0197-4580\(96\)00168-6](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(96)00168-6)
34. Kravtsov Y, Kudryavtseva E, McKee AC, Geula C, Kowall NW, Khrapko K. Mitochondrial DNA deletions are abundant and cause functional impairment in aged human substantia nigra neurons. *Nat Genet*. 2006;38(5):518-20. doi: [10.1038/ng1778](https://doi.org/10.1038/ng1778)
35. Wakabayashi T. Megamitochondria formation – physiology and pathology. *J Cell Mol Med*. 2002;6(4):497-538. doi: [10.1111/j.1582-4934.2002.tb00452.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2002.tb00452.x)
36. Wakabayashi T. Structural changes of mitochondria related to apoptosis: swelling and megamitochondria formation. *Acta Biochim Pol*. 1999;46(2):223-37.
37. Wakabayashi T, Spodnik JH. Structural changes of mitochondria during free radical-induced apoptosis. *Folia Morphol (Warsz)*. 2000;59(2):61-75.
38. Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Muscle Nerve*. 2013;48(6):963-70. doi: [10.1002/mus.23838](https://doi.org/10.1002/mus.23838)
39. Adebayo M, Singh S, Singh AP, Dasgupta S. Mitochondrial fusion and fission: The fine-tune balance for cellular homeostasis. *FASEB J*. 2021;35(6):e21620. doi: [10.1096/fj.202100067R](https://doi.org/10.1096/fj.202100067R)
40. Rahman S. Leigh syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2023;194:43-63. doi: [10.1016/B978-0-12-821751-1.00015-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821751-1.00015-4)
41. Schubert Baldo M, Vilarinho L. Molecular basis of Leigh syndrome: a current look. *Orphanet J Rare Dis*. 2020;15(1):31. doi: [10.1186/s13023-020-1297-9](https://doi.org/10.1186/s13023-020-1297-9). Erratum in: *Orphanet J Rare Dis*. 2020;15(1):77. doi: [10.1186/s13023-020-1351-7](https://doi.org/10.1186/s13023-020-1351-7)
42. Sidarala V, Zhu J, Levi-D'Ancona E, Pearson GL, Reck EC, Walker EM, et al. Mitofusin 1 and 2 regulation of mitochondrial DNA content is a critical determinant of glucose homeostasis. *Nat Commun*. 2022;13(1):2340. doi: [10.1038/s41467-022-29945-7](https://doi.org/10.1038/s41467-022-29945-7)
43. de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*. 2008;456(7222):605-10. doi: [10.1038/nature07534](https://doi.org/10.1038/nature07534). Erratum in: *Nature*. 2014;513(7517):266.
44. Huang K, Pei S, Sun Y, Xu X, Fang Y, Lai M, et al. Mitofusin 1-Mediated Redistribution of Mitochondrial Antiviral Signaling Protein Promotes Type 1 Interferon Response in Human Cytomegalovirus Infection. *Microbiol Spectr*. 2023;11(2):e0461522. doi: [10.1128/spectrum.04615-22](https://doi.org/10.1128/spectrum.04615-22)
45. Deretic V, Levine B. Autophagy balances inflammation in innate immunity. *Autophagy*. 2018;14(2):243-51. doi: [10.1080/15548627.2017.1402992](https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1402992)
46. VanderVeen BN, Fix DK, Carson JA. Disrupted Skeletal Muscle Mitochondrial Dynamics, Mitophagy, and Biogenesis during Cancer Cachexia: A Role for Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3292087. doi: [10.1155/2017/3292087](https://doi.org/10.1155/2017/3292087)
47. Fix DK, VanderVeen BN, Counts BR, Carson JA. Regulation of Skeletal Muscle DRP-1 and FIS-1 Protein Expression by IL-6 Signaling. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:8908457. doi: [10.1155/2019/8908457](https://doi.org/10.1155/2019/8908457)
48. Dröge W. Oxidative aging and insulin receptor signaling. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60(11):1378-85. doi: [10.1093/gerona/60.11.1378](https://doi.org/10.1093/gerona/60.11.1378)
49. Dröge W, Kinscherf R. Aberrant insulin receptor signaling and amino acid homeostasis as a major cause of oxidative stress in aging. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(4):661-78. doi: [10.1089/ars.2007.1953](https://doi.org/10.1089/ars.2007.1953)
50. Lee WS, Kim J. Insulin-like growth factor-1 signaling in cardiac aging. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864(5 Pt B):1931-8. doi: [10.1016/j.bbdis.2017.08.029](https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2017.08.029)
51. Goodman EK, Mitchell CS, Teo JD, Gladding JM, Abbott KN, Raffie N, et al. The effect of insulin receptor deletion in neuropeptide Y neurons on hippocampal dependent cognitive function in aging mice. *J Integr Neurosci*. 2022;21(1):6. doi: [10.31083/j.jin2101006](https://doi.org/10.31083/j.jin2101006)
52. He J, Mao CC, Reyes A, Sembongi H, Di Re M, Granycome C, et al. The AAA+ protein ATAD3 has displacement loop binding properties and is involved in mitochondrial nucleoid organization. *J Cell Biol*. 2007;176(2):141-6. doi: [10.1083/jcb.200609158](https://doi.org/10.1083/jcb.200609158)
53. Spelbrink JN, Li FY, Tiranti V, Nikali K, Yuan QP, Tariq M, et al. Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nat Genet*. 2001;28(3):223-31. doi: [10.1038/90058](https://doi.org/10.1038/90058). Erratum in: *Nat Genet* 2001;29(1):100.
54. Szczesny B, Tann AW, Longley MJ, Copeland WC, Mitra S. Long patch base excision repair in mammalian mitochondrial genomes. *J Biol Chem*. 2008;283(39):26349-56. doi: [10.1074/jbc.M803491200](https://doi.org/10.1074/jbc.M803491200)
55. Lecrenier N, Van Der Bruggen P, Foury F. Mitochondrial DNA polymerases from yeast to man: a new family of polymerases. *Gene*. 1997;185(1):147-52. doi: [10.1016/s0378-1119\(96\)00663-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(96)00663-4)
56. Rath S, Sharma R, Gupta R, Ast T, Chan C, Durham TJ, et al. MitoCarta3.0: an updated mitochondrial proteome now with sub-organelle localization and pathway annotations. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D1541-7. doi: [10.1093/nar/gkaa1011](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1011)
57. Virbasius JV, Scarpulla RC. Activation of the human mitochondrial transcription factor A gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(4):1309-13. doi: [10.1073/pnas.91.4.1309](https://doi.org/10.1073/pnas.91.4.1309)
58. Wang J, Wilhelmsson H, Graff C, Li H, Oldfors A, Rustin P, et al. Dilated cardiomyopathy and atrioventricular conduction blocks induced by heart-specific inactivation of mitochondrial DNA gene expression. *Nat Genet*. 1999;21(1):133-7. doi: [10.1038/5089](https://doi.org/10.1038/5089)
59. Sayyed UM, Mahalakshmi R. Mitochondrial protein translocation machinery: From TOM structural biogenesis to functional regulation. *J Biol Chem*. 2022;298(5):101870. doi: [10.1016/j.jbc.2022.101870](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101870)
60. Pinz KG, Bogenhagen DF. Efficient repair of abasic sites in DNA by mitochondrial enzymes. *Mol Cell Biol*. 1998;18(3):1257-65. doi: [10.1128/MCB.18.3.1257](https://doi.org/10.1128/MCB.18.3.1257)
61. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell*. 1985;43(2 Pt 1):405-13. doi: [10.1016/0092-8674\(85\)90170-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90170-9)
62. Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med*. 2006;12(10):1133-8. doi: [10.1038/nm1006-1133](https://doi.org/10.1038/nm1006-1133)
63. Soussi T, Wiman KG. TP53: an oncogene in disguise. *Cell Death Differ*. 2015;22(8):1239-49. doi: [10.1038/cdd.2015.53](https://doi.org/10.1038/cdd.2015.53)
64. Donehower LA, Soussi T, Korkut A, Liu Y, Schultz A, Cardenas M, et al. Integrated Analysis of TP53 Gene and Pathway Alterations in The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep*. 2019;28(5):1370-1384.e5. doi: [10.1016/j.celrep.2019.07.001](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.001). Erratum in: *Cell Rep*. 2019;28(11):3010. doi: [10.1016/j.celrep.2019.08.061](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.061)
65. Wanka C, Brucker DP, Bähr O, Ronellenfitsch M, Weller M, Steinbach JP, et al. Synthesis of cytochrome C oxidase 2: a p53-dependent metabolic regulator that promotes respiratory function and protects glioma and colon cancer cells from hypoxia-induced cell death. *Oncogene*. 2012;31(33):3764-76. doi: [10.1038/onc.2011.530](https://doi.org/10.1038/onc.2011.530)

66. Bruns I, Sauer B, Burger MC, Eriksson J, Hofmann U, Braun Y, et al. Disruption of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator (PGC-1 α) reverts key features of the neoplastic phenotype of glioma cells. *J Biol Chem*. 2019;294(9):3037-50. doi: [10.1074/jbc.RA118.006993](#)
67. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*. 1998;92(6):829-39. doi: [10.1016/s0092-8674\(00\)81410-5](#)
68. Andersson U, Scarpulla RC. Pgc-1-related coactivator, a novel, serum-inducible coactivator of nuclear respiratory factor 1-dependent transcription in mammalian cells. *Mol Cell Biol*. 2001;21(11):3738-49. doi: [10.1128/MCB.21.11.3738-3749.2001](#)
69. Mutlu B, Puigserver P. GCN5 acetyltransferase in cellular energetic and metabolic processes. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*. 2021;1864(2):194626. doi: [10.1016/j.bbaggm.2020.194626](#)
70. Brown JL, Rosa-Caldwell ME, Lee DE, Brown LA, Perry RA, Shimkus KL, et al. PGC-1 α gene expression is suppressed by the IL-6-MEK-ERK 1/2 MAPK signalling axis and altered by resistance exercise, obesity and muscle injury. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017;220(2):275-88. doi: [10.1111/apha.12826](#)
71. Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG, Franklin RA, Bertrand FE, McCubrey JA. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia*. 2004;18(2):189-218. doi: [10.1038/sj.leu.2403241](#)
72. Sahin E, Colla S, Liesa M, Moslehi J, Müller FL, Guo M, et al. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature*. 2011;470(7334):359-65. doi: [10.1038/nature09787](#). Erratum in: *Nature*. 2011;475(7355):254.
73. Kaeblerlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev*. 1999;13(19):2570-80. doi: [10.1101/gad.13.19.2570](#)
74. Lombard DB, Alt FW, Cheng HL, Bunkenborg J, Streeper RS, Mostoslavsky R, et al. Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation. *Mol Cell Biol*. 2007;27(24):8807-14. doi: [10.1128/MCB.01636-07](#)
75. Jin L, Geng L, Ying L, Shu L, Ye K, Yang R, et al. FGF21-Sirtuin 3 Axis Confers the Protective Effects of Exercise Against Diabetic Cardiomyopathy by Governing Mitochondrial Integrity. *Circulation*. 2022;146(20):1537-57. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.122.059631](#)
76. Ahn BH, Kim HS, Song S, Lee IH, Liu J, Vassilopoulos A, et al. A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(38):14447-52. doi: [10.1073/pnas.0803790105](#)
77. Hafner AV, Dai J, Gomes AP, Xiao CY, Palmeira CM, Rosenzweig A, et al. Regulation of the mPTP by SIRT3-mediated deacetylation of CypD at lysine 166 suppresses age-related cardiac hypertrophy. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(12):914-23. doi: [10.18632/aging.100252](#)
78. Zhou S, Yu Q, Zhang L, Jiang Z. Cyclophilin D-mediated Mitochondrial Permeability Transition Regulates Mitochondrial Function. *Curr Pharm Des*. 2023;29(8):620-9. doi: [10.2174/1381612829666230313111314](#)
79. Kuro-o M. Endocrine FGFs and Klothos: emerging concepts. *Trends Endocrinol Metab*. 2008;19(7):239-45. doi: [10.1016/j.tem.2008.06.002](#)
80. Kuro-O M. The Klotho proteins in health and disease. *Nat Rev Nephrol*. 2019;15(1):27-44. doi: [10.1038/s41581-018-0078-3](#)
81. Portales-Castillo I, Simic P. PTH, FGF-23, Klotho and Vitamin D as regulators of calcium and phosphorus: Genetics, epigenetics and beyond. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:992666. doi: [10.3389/fendo.2022.992666](#)
82. Zhou W, Hu G, He J, Wang T, Zuo Y, Cao Y, et al. SENP1-Sirt3 signaling promotes α -ketoglutarate production during M2 macrophage polarization. *Cell Rep*. 2022;39(2):110660. doi: [10.1016/j.celrep.2022.110660](#)
83. Liu F, Wu S, Ren H, Gu J. Klotho suppresses RIG-I-mediated senescence-associated inflammation. *Nat Cell Biol*. 2011;13(3):254-62. doi: [10.1038/ncb2167](#). Erratum in: *Nat Cell Biol*. 2011;13(4):487.
84. Buendía P, Carracedo J, Soriano S, Madueño JA, Ortiz A, Martín-Malo A, et al. Klotho Prevents NF κ B Translocation and Protects Endothelial Cell From Senescence Induced by Uremia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015;70(10):1198-209. doi: [10.1093/gerona/glu170](#)
85. Ikushima M, Rakugi H, Ishikawa K, Maekawa Y, Yamamoto K, Ohta J, et al. Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;339(3):827-32. doi: [10.1016/j.bbrc.2005.11.094](#)
86. Rausser S, Trumpff C, McGill MA, Junker A, Wang W, Ho SH, et al. Mitochondrial phenotypes in purified human immune cell subtypes and cell mixtures. *Elife*. 2021;10:e70899. doi: [10.7554/eLife.70899](#)
87. Urata M, Koga-Wada Y, Kayamori Y, Kang D. Platelet contamination causes large variation as well as overestimation of mitochondrial DNA content of peripheral blood mononuclear cells. *Ann Clin Biochem*. 2008;45(Pt 5):513-4. doi: [10.1258/acb.2008.008008](#)
88. Wei YH, Lee CF, Lee HC, Ma YS, Wang CW, Lu CY, et al. Increases of mitochondrial mass and mitochondrial genome in association with enhanced oxidative stress in human cells harboring 4,977 BP-deleted mitochondrial DNA. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;928:97-112. doi: [10.1111/j.1749-6632.2001.tb05640.x](#)
89. Giordano C, Iommarini L, Giordano L, Maresca A, Pisano A, Valentino ML, et al. Efficient mitochondrial biogenesis drives incomplete penetrance in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*. 2014;137(Pt 2):335-53. doi: [10.1093/brain/awt343](#)
90. Hurtado-Roca Y, Ledesma M, Gonzalez-Lazaro M, Moreno-Loshuertos R, Fernandez-Silva P, Enriquez JA, et al. Adjusting mtDNA Quantification in Whole Blood for Peripheral Blood Platelet and Leukocyte Counts. *PLoS One*. 2016;11(10):e0163770. doi: [10.1371/journal.pone.0163770](#)
91. Izaks GJ, Westendorp RG. III or just old? Towards a conceptual framework of the relation between ageing and disease. *BMC Geriatr*. 2003;3:7. doi: [10.1186/1471-2318-3-7](#)
92. Walker RF. Is aging a disease? A review of the Sero Symposium Workshop held under the auspices of the 3rd World Congress on the Aging Male. February 9, 2002, Berlin, Germany. *Aging Male*. 2002;5(3):147-69.
93. Gems D. Tragedy and delight: the ethics of decelerated ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366(1561):108-12. doi: [10.1098/rstb.2010.0288](#)
94. Mayhew L, Smith D. The 100-year family: Longer lives, fewer children. London: International Longevity Centre UK; 2020.
95. Cave D, Bubola E, Sang-Hun C. Long Slide Looms for World Population, With Sweeping Ramifications. *The New York Times* [Internet]. 2021 May 22. Available from: <https://www.nytimes.com/2021/05/22/world/global-population-shrinking.html>
96. Naviaux RK, Singh KK. Need for public debate about fertility treatments. *Nature*. 2001;413(6854):347. doi: [10.1038/35096737](#)
97. Dunn M, Gallagher A. Ethics, ageing and the practice of care: The need for a global and cross-cultural approach. *Nurs Ethics*. 2021;28(3):313-5. doi: [10.1177/09697330211018340](#)

Остеопороз у жінок у постменопаузі: патогенетичні взаємозв'язки з ішемічною хворобою серця та ожирінням (огляд літератури)

Н. С. Михайловська^{А,D,F}, І. О. Стецюк^{В,C,D}, С. М. Мануйлов^{С,E}, Я. М. Михайловський^{D,E},
О. О. Лісова^{В,C}, О. В. Шершньова^{В,C}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – узагальнення й аналіз відомостей сучасної наукової літератури щодо патофізіологічних механізмів взаємозв'язку остеопорозу, ішемічної хвороби серця (ІХС) та ожиріння у жінок у постменопаузальному періоді.

Матеріали і методи. Здійснили систематизований аналіз наукових публікацій, що індексуються у базах даних PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, а також у доступних на національних медичних інформаційних ресурсах України. До аналізу включено наукові статті, що відповідали критеріям залучення за тематикою, повнотою тексту й актуальністю.

Результати. Остеопороз, ІХС та ожиріння – три найпоширеніші захворювання у когорті жінок у постменопаузі. Ці захворювання мають важливе медико-соціальне значення внаслідок хронічного перебігу, високої частоти ускладнень, впливу на функціональну здатність і якість життя. Дефіцит естрогенів у жінок після менопаузи є ключовим тригером патологічних змін у кістковому, метаболічному та судинному гомеостазі.

У результаті досліджень підтверджено спільні патогенетичні ланки цих станів, як-от хронічне низькорівневе запалення, ендотеліальна дисфункція, дефіцит естрогенів, інсулінорезистентність, порушення ліпідного обміну та дисбаланс адипокінів. Зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) корелює з атеросклеротичними ураженнями судин, а кальцифікація судин часто супроводжується втратою кісткової маси. Остеотропні білки виявляють також у судинних стінках, що свідчить про біологічний перехід між кістковою та судинною тканинами. Низька МЩКТ асоційована з підвищеним ризиком серцево-судинної смертності, особливо в осіб похилого віку.

Ожиріння також чинить системний негативний вплив на стан кісткової тканини і серцево-судинну систему через активацію прозапальних цитокінів і стимуляцію резорбції кістки. Разом із тим, у наукових публікаціях наведено суперечливі дані щодо впливу ожиріння на МЩКТ: помірний надлишок маси тіла може мати захисний ефект щодо втрати МЩКТ, але ожиріння II–III ступенів достовірно асоціюється з підвищеним ризиком остеопоротичних переломів. Це зумовлює доцільність стратифікації ризику, враховуючи ступінь ожиріння та супутньої кардіометаболічної патології.

Висновки. Наявність спільних патогенетичних механізмів остеопорозу, ІХС та ожиріння підтверджує доцільність розроблення комплексних підходів до профілактики, ранньої діагностики та лікування цих станів у жінок у постменопаузі.

Ключові слова:

остеопороз, ішемічна хвороба серця, ожиріння, менопауза, взаємозв'язок.

Патологія. 2025.

Т. 22, № 2(64).
С. 159-167

Osteoporosis in postmenopausal women: pathogenetic relationships with coronary heart disease and obesity (literature review)

N. S. Mykhailovska, I. O. Stetsiuk, S. M. Manuilov, Ya. M. Mykhailovskiy,
O. O. Lisova, O. V. Shershnyova

Aim: to summarize and analysis of current literature data on the pathophysiological mechanisms of the relationship between osteoporosis, coronary heart disease and obesity in postmenopausal women.

Materials and methods. A systematic analysis of scientific publications presented in the databases PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, as well as in national medical information resources of Ukraine was conducted. The work included scientific articles that met the inclusion criteria for the topic, completeness of the text, and relevance.

Results. Osteoporosis, coronary heart disease, and obesity are the three most common diseases among postmenopausal women, which have a high level of medical and social significance due to their chronic course, high incidence of complications, and impact on functional capacity and quality of life. Estrogen deficiency in postmenopausal women is a key trigger for pathological changes in bone, metabolic, and vascular homeostasis.

Recent studies demonstrate the presence of common pathogenetic links for these conditions, such as chronic low-level inflammation, endothelial dysfunction, estrogen deficiency, insulin resistance, lipid metabolism disorders, and adipokines imbalance. Decreased bone mineral density (BMD) correlates with atherosclerotic vascular lesions, and vascular calcification is often accompanied by bone loss. Osteotropic proteins are also found in vascular walls, indicating a biological transition between bone and vascular tissues. Low BMD is associated with an increased risk of cardiovascular mortality, especially in the elderly.

Keywords:

osteoporosis, coronary heart disease, obesity, menopause, relationship.

Pathologia.

2025;22(2):159-167

Obesity also has a systemic negative impact on bone and cardiovascular health through activation of pro-inflammatory cytokines and stimulation of bone resorption. However, the current literature contains conflicting data on the impact of obesity on BMD: moderate excess body weight may have a protective effect on BMD loss, but obesity of II–III degree is significantly associated with an increased risk of osteoporotic fractures. This necessitates the need for risk stratification taking into account the degree of obesity and concomitant cardio-metabolic pathology.

Conclusions. The presence of common pathogenetic mechanisms of osteoporosis, coronary heart disease, and obesity confirms the feasibility of developing comprehensive approaches to the prevention, early diagnosis, and treatment of these conditions in postmenopausal women.

У структурі сучасної захворюваності визначено стійке збільшення частоти хронічних неінфекційних захворювань, й особливої уваги з-поміж них потребують остеопороз, ішемічна хвороба серця (ІХС) та ожиріння. Ці патології мають важливе медико-соціальне значення, адже спричиняють тривале зниження якості життя, зумовлюють втрату працездатності, інвалідизацію та є однією з провідних причин передчасної смертності серед населення [1].

Остеопороз характеризується зниженням мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) і порушенням її мікроструктури, що зумовлює підвищену крихкість кісток і ризик остеопоротичних переломів, зокрема хребта, шийки стегна та дистального передпліччя. ІХС, що виникає внаслідок атеросклеротичного ураження коронарних судин, посідає одне з провідних місць у структурі серцево-судинної смертності і в Україні, й у всьому світі. Ожиріння, своєю чергою, є не лише фактором ризику для розвитку ІХС, але й чинником, що негативно впливає на стан кісткової тканини через складну взаємодію ендокринних, метаболічних і механічних механізмів [2,3].

Нині ці захворювання все частіше визначають не як ізольовані нозологічні форми, а як компоненти єдиного патологічного континууму, в основі якого – спільні патогенетичні механізми. Так, системне запалення низького ступеня, інсулінорезистентність, оксидативний стрес, дисліпідемія, порушення метаболізму вітаміну D, а також зміни в секретії адипокінів (наприклад, лептину й адипонектину) є ланками, що об'єднують остеопороз, ІХС та ожиріння в єдину патофізіологічну модель. Ці механізми набувають особливого значення за умов постменопаузального дефіциту естрогенів, який є чинником багатьох змін у жіночому організмі [4].

Беручи до уваги підвищену сприйнятливості жінок у постменопаузальному періоді до розвитку остеопорозу, ІХС та ожиріння, продовження дослідження спільних патогенетичних ланок цих станів має ключове значення для формування персоналізованих підходів до їх профілактики та лікування.

Мета роботи

Узагальнення й аналіз відомостей сучасної наукової літератури щодо патофізіологічних механізмів взаємозв'язку остеопорозу, ішемічної хвороби серця й ожиріння у жінок у постменопаузальному періоді.

Матеріали і методи дослідження

У процесі підготовки цього огляду здійснили всебічний аналіз наукової літератури щодо взаємозв'язку між остеопорозом, ІХС та ожирінням у когорті жінок,

зокрема в постменопаузальному періоді. Інформаційний пошук здійснили в міжнародних наукових базах даних PubMed, Scopus, Web of Science, Google Scholar, а також на національних медичних інформаційних ресурсах України. Для пошуку використано такі ключові слова, як bone remodeling, ischemic heart disease, obesity, bone mineral density, osteoporosis, postmenopause, metabolic syndrome, osteocalcin, osteoprotegerin, inflammation, hormonal changes, а також їхні відповідники українською мовою.

До аналізу брали наукові статті, що опубліковані переважно протягом останніх 5 років (2020–2025 роки). Основні критерії залучення – наявність повного тексту, актуальність дослідження щодо теми статті, використання валідованих методів оцінювання ожиріння, МЩКТ і діагностики ІХС. Статті, що не мали повного тексту або містили недостатньо релевантну інформацію, виключено з аналізу.

Результати узагальнили, проаналізували й інтерпретували, враховуючи сучасне розуміння патофізіологічних механізмів розвитку остеопорозу, ІХС та ожиріння.

Результати

Аналіз відомостей сучасної наукової літератури дав змогу виявити тісний патогенетичний та епідеміологічний зв'язок між ІХС, ожирінням та патологією кісткової тканини, зокрема з остеопорозом, у жінок у постменопаузальному періоді. Остеопороз визначають як системне захворювання скелета, що характеризується зниженням кісткової маси та порушенням мікроархітекtonіки кісткової тканини; ці чинники разом зумовлюють підвищену ламкість кісток і збільшують ризик переломів [5].

За даними Міжнародного фонду остеопорозу, майже 7 млн жінок (майже 28 %) в Україні в постменопаузі мають остеопороз або остеопенію [6,7]. Висока поширеність остеопорозу та пов'язаних із ним переломів робить цю патологію однією з ключових проблем сучасної медицини. За оцінками експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), остеопороз посідає третє місце серед основних медико-соціальних викликів сьогодення, поступаючись лише серцево-судинним захворюванням і цукровому діабету. Така значущість зумовлена передусім тяжкими ускладненнями, як-от переломами тіл хребців, проксимального відділу стегнової та променевої кісток, що часто спричиняють інвалідизацію і передчасну смертність внаслідок супутніх розладів із боку серцево-судинної та дихальної систем [8]. У патогенезі остеопорозу ключову роль відіграє дисбаланс між процесами кісткової резорбції та ремоделювання: підвищена активність остеокластів

у поєднанні зі зниженою функціональною здатністю остеобластів зумовлює зменшення кісткової щільності та порушення її структурної цілісності [9].

Особливої уваги заслуговує постменопаузальний остеопороз – найбільш поширена форма захворювання в жінок. Його пусковим механізмом є естрогенний дефіцит, що виникає після згасання функції яєчників. Гормональні зміни цього періоду спричиняють значне прискорення втрати кісткової маси, що визначають у 25–40 % жінок. Зниження рівня естрогенів у поєднанні з підвищенням продукції прозапальних цитокінів, зокрема інтерлейкінів-1 та 6, зумовлює дизрегуляцію процесів кісткового ремоделювання. В умовах естрогенодефіциту відбувається активація остеокластогенезу, що спричиняє переважання резорбції кісткової тканини над її формуванням. Це зумовлює розвиток негативного кісткового балансу, який визначають за витонченням і перфорацією трабекулярних структур, порушенням їхньої архітекτονіки, яке, своєю чергою, призводить до суттєвого зниження мікроструктурної цілісності та механічної міцності кісткової тканини [10]. За статистикою, остеопороз уражає до 50 % жінок у постменопаузі. За світовими оцінками, понад 200 млн жінок у світі вже мають діагностований остеопороз [11]. Крім того, менопауза супроводжується прогресуванням дисліпідемії, центрального ожиріння, ендотеліальної дисфункції та істотним збільшенням частоти серцево-судинних захворювань, насамперед ІХС [12].

Сучасна діагностика остеопорозу ґрунтується на поєднанні інструментальних, лабораторних і клінічних методів. Це забезпечує комплексний підхід до виявлення захворювання на ранніх етапах. Для оцінювання індивідуального ризику остеопоротичних переломів і забезпечення базових даних для наступного моніторингу стану пацієнта оцінюють МЩКТ, тобто визначають її масу щодо одиниці об'єму (об'ємна щільність). Цей показник може бути оцінений *in vivo* шляхом застосування денситометричних методів.

Найпоширеніший і найбільш доказовий метод у діагностиці остеопорозу – двоенергетична рентгівівська абсорбціометрія (DXA, Dual-energy X-ray Absorptiometry), що має високу точність і характеризується відтворюваністю результатів під час оцінювання стану кісткової тканини. Цей метод дає змогу точно вимірювати МЩКТ у ключових зонах, передусім у поперековому відділі хребта та шийці стегнової кістки. Результати аналізують відповідно до Т-критерію (порівняння з піковою кістковою масою у здорових молодих дорослих): нормальний стан (зміна МЩКТ у межах одного стандартного відхилення SD від референтного значення), остеопенія (зниження МЩКТ на $>1,0$ SD і $<2,5$ SD від референтного значення), остеопороз (зниження МЩКТ на $>2,5$ SD від референтного значення). Незважаючи на дискусії щодо доцільності трактування остеопенії як самостійного діагнозу, статистично доведено, що у більшості осіб з остеопенією впродовж наступного десятиліття виникає остеопороз [13].

Крім того, застосовують кількісну комп'ютерну томографію, що є методом тривимірного аналізу кісткової тканини, та ультразвукову денситометрію як скринінговий метод для оцінювання стану кісткової

тканини та виявлення остеопорозу на ранніх стадіях. Додаткове значення для діагностики остеопорозу має визначення рівня кальцію, фосфору, вітаміну D і маркерів кісткового метаболізму. Слід також враховувати так звані «беззвучні» переломи (наприклад, компресійні переломи тіл хребців), що часто є першою клінічною ознакою остеопорозу. Виявлення таких переломів за допомогою рентгенографії або магнітно-резонансної томографії має важливе значення для встановлення діагнозу [14].

Крім названих методів, у діагностиці порушень МЩКТ важливу роль відіграє оцінювання за алгоритмом FRAX. За аналогією до шкали SCORE (оцінювання ризику фатальних серцево-судинних подій впродовж 10 років) алгоритм FRAX дає змогу оцінити ризик перелому кісток протягом наступних 10 років. Опитувальник розроблений Центром з метаболічних захворювань кісток, що співпрацює з BOOЗ, у 2008 році. Він враховує клінічні фактори ризику і МЩКТ (якщо є результати денситометрії). Якщо остеопороз вже діагностовано (за даними денситометрії та/або коли є остеопоротичний перелом), оцінювання ризику перелому за допомогою FRAX не обов'язкове. Однак у разі остеопенії або коли не можливо виконати денситометрію у жінок віком понад 40 років і чоловіків віком понад 50 років, саме опитувальник FRAX дає змогу оцінити ризик перелому, що потребує призначення антиостеопоротичної терапії [15].

Тривалий час остеопороз та серцево-судинні захворювання (ССЗ) вивчали як відокремлені патології, пов'язані насамперед із віковими змінами. Втім, у результаті сучасних досліджень виявлено численні патофізіологічні зв'язки між цими захворюваннями. За даними багатьох авторів, остеопороз і ССЗ мають спільні фактори ризику, як-от куріння, гіподинамія, цукровий діабет, артеріальна гіпертензія, недостатність фізичних навантажень, зловживання алкоголем тощо (табл. 1) [16,17].

Проатерогенний зсув ліпідного спектра, підвищення концентрації маркерів запалення та розвиток ендотеліальної дисфункції – не тільки підтверджені фактори ризику розвитку серцево-судинної патології, але й предиктор порушення нормальних процесів реорганізації кісткової тканини. Втрату мінеральної щільності кістки визначають як один із предикторів ураження коронарних артерій, а низьку МЩКТ – як більш значущий, ніж рівень тиску і холестерину, фактор ризику гострих коронарних подій в осіб похилого віку.

Встановлено, що низька МЩКТ корелює з підвищеним ризиком ССЗ, зокрема атеросклерозу, може бути незалежним предиктором серцево-судинної смертності [18]. У результаті дослідження T. L. Chuang et al. встановлено підвищення 10-річного ризику перелому стегна та великих остеопоротичних переломів, що визначені за допомогою інструменту оцінювання ризику переломів FRAX, який суттєво та незалежно пов'язаний із гіршими показниками кальцифікації коронарних артерій [19]. Крім того, в пацієнтів із ССЗ частіше визначали втрату кісткової маси, що зумовлює вищу ймовірність розвитку остеопоротичних переломів [18,19]. Згідно з висновками, які зробили P. K. Stein et al., пацієнти з низькою МЩКТ мають вищий рівень

Таблиця 1. Основні спільні фактори ризику розвитку остеопорозу та ІХС

Фактор ризику	Патогенетичний вплив при остеопорозі	Патогенетичний вплив при ССЗ
Вік	Зниження остеобластичної активності, втрата кісткової маси	Поступове ураження судинної стінки, розвиток атеросклерозу
Постменопаузальний естрогенодефіцит	Підвищення остеокластичної активності, зниження рівня остеопротегерину	Порушення ліпідного обміну, ендотеліальна дисфункція
Дисліпідемія	Окиснені ліпіди пригнічують остеогенез, стимулюють судинну кальцифікацію	Формування атеросклеротичних бляшок, судинна жорсткість
Хронічне запалення (ІЛ-1, ІЛ-6, TNF- α)	Активізація остеокластів, посилення кісткової резорбції	Ушкодження ендотелію, прогресування атеросклеротичного процесу
Гіподинамія	Зменшення механічного навантаження, інгібування остеосинтезу	Порушення гемодинаміки, підвищення артеріального тиску
Куріння	Токсичний вплив на остеобласти, погіршення кровопостачання кістки	Підвищення ризику ішемічної хвороби серця та інсульту
Алкоголь (надмірне вживання)	Пригнічення функції остеобластів, стимуляція резорбції	Міокардіотоксичність, розвиток гіпертензії
Артеріальна гіпертензія	Зменшення перфузії кісткової тканини, мікропошкодження	Гіпертрофія судинної стінки, ускладнення атеросклерозу
Дефіцит вітаміну D	Порушення мінералізації кісткової тканини	Погіршення ендотеліальної функції, кальцифікація судин
Інсулінорезистентність, цукровий діабет 2 типу	Погіршення мікроархітектури кістки, зниження її міцності	Сприяє атерогенезу, ураження мікроциркуляторного русла

смертності при ССЗ порівняно з тими, у кого збережений нормальний стан кісткової тканини [20].

Спільність патогенетичних процесів між ІХС та остеопорозом полягає в схожих механізмах клітинної диференціації. Так, моноцити можуть трансформуватися і в макрофагоподібні піністі клітини при атеросклерозі, і в остеокластоподібні клітини під час ремоделювання кісткової тканини [21]. Крім того, білки, що типово асоціюються з метаболізмом кісткової тканини, як-от остеокальцин, кістковий морфогенний білок, матриксний Gla-білок, остеонектин, остеопонтин тощо, виявляють також у складі судинного матриксу при прогресуванні атеросклерозу, а їхній рівень має тенденцію до підвищення [21,22]. У складі судинних кальцифікатів виявляють компоненти, характерні для кісткової тканини, зокрема гідроксиапатит, кальцеві солі, фосфати та колаген типу I, що свідчить про наявність спільних морфологічних і молекулярних ознак між кістковою та судинною тканинами.

Акумуляція окиснених ліпідів у стінках артерій спричиняє остеобластичну диференціацію ендотеліальних клітин та активує процеси васкулярної мінералізації, а також стимулює експресію ендотеліоцитами факторів, залучених до остеокластогенезу, що призводить до резорбції кісткової тканини. У процесі розвитку остеопорозу активуються такі молекули, як остеокальцин, кістковий морфогенний білок, матриксний Gla-білок, остеонектин, сіалопротейн та остеопонтин, які, крім участі в біомінералізації кісткової тканини, відіграють роль у формуванні судинних кальцифікатів. Встановлено, що за умов остеопорозу визначають схожий прозапальний профіль у судинній і кістковій тканинах [23,24]. Отже, кісткова та судинна тканини мають схожі морфологічні та молекулярні характеристики.

Дисліпідемія впливає на МЩКТ, її визначають як потенційний спільний патогенетичний чинник, що поєднує остеопороз та атеросклероз. Результати експериментальних досліджень показали: сироваткові ліпопротеїди можуть безпосередньо модулювати функціональну активність клітин кісткової тканини – остеобластів і остеокластів. Крім провідної ролі в розвитку атеросклеротичних уражень, ці біомолекули можуть

відігравати ключову роль у патогенетичному перехресті між ІХС та остеопорозом. Зокрема, встановлено, що накопичення окиснених ліпідів у субендотеліальному шарі артеріальної стінки, яке супроводжується прогресуванням судинної кальцифікації, одночасно інгібує процес мінералізації кісткової тканини [23]. При цьому окиснені ліпіди чинять біполярний вплив на остеогенез: вони стимулюють диференціювання клітин у напрямі кальцифікації у васкулярних структурах, водночас інгібуючи остеогенну активність остеобластів. До молекулярних медіаторів такої дії належать моноцитарний хемотаксичний білок-1 (MCP-1) та макрофагальний колонієстимулювальний фактор (M-CSF), експресія яких активується під впливом окиснених ліпопротеїнів низької щільності, що продукуються ендотеліальними клітинами. Встановлено, що ліпопротеїни низької щільності можуть ініціювати резорбцію кісткової тканини шляхом активації остеокластів, і це призводить до остеопоротичних змін. Разом із тим ліпопротеїни високої щільності можуть знижувати експресію лужної фосфатази як одного з маркерів остеобластичної диференціації, а також опосередковано пригнічують ефекти ліпопротеїнів низької щільності та активність прозапальних цитокінів, що може стримувати розвиток судинної кальцифікації [23].

Ендотеліальну дисфункцію визначають як ключову спільну ланку в патогенезі й атеросклерозу, й остеопорозу, що підтверджено у результаті дослідження P. Singh et al. [25]. Її розвиток зумовлений впливом окислативного стресу, активацією вазоконстрикторних агентів, підвищеним рівнем прозапальних цитокінів, фактора росту ендотелію судин (VEGF), гомоцистеїну, а також порушенням синтезу оксиду азоту (NO). NO утворюється з амінокислоти L-аргініну під дією ферменту NO-синтази і відіграє важливу роль у регуляції кісткового метаболізму. З одного боку, NO здатен пригнічувати формування кісткової тканини, зумовлюючи апоптоз остеобластів, що спричиняє остеопороз. З іншого боку, оксид азоту може виявляти і протекторні ефекти: за окремими даними, він стимулює проліферацію, диференціювання та виживання остеобластів, а також пригнічує активність остеокластів – клітин, відповідальних за резорбцію кістки [25]. Така подвій-

Таблиця 2. Класифікація ожиріння за ІМТ і залежність ризику розвитку хвороб від обводу талії

Класифікація	ІМТ, кг/м ²	Ризик розвитку хвороб при обводі талії*	
		<102 см (чол.), <88 см (жін.)	≥102 см (чол.), ≥88 см (жін.)
Знижена маса тіла	<18,5	Підвищений	Підвищений
Норма	18,5–24,9	Низький	Підвищений
Надмірна маса тіла	25,0–29,9	Підвищений	Високий
Ожиріння, I ступінь	30,0–34,9	Високий	Дуже високий
Ожиріння, II ступінь	35,0–39,9	Дуже високий	Дуже високий
Ожиріння, III ступінь	>40,0	Надзвичайно високий	Надзвичайно високий

*: згідно з рекомендаціями Міжнародної федерації діабету (2005), ризик розвитку хвороби збільшується при таких показниках обводу талії: ≥94 см у чоловіків, ≥80 см у жінок.

ність дії НО підкреслює складність його ролі в регуляції кісткового гомеостазу та обґрунтовує доцільність подальших досліджень.

Один із потенційних патофізіологічних механізмів, що поєднує ІХС та остеопороз, пов'язаний із впливом прозапальних цитокінів, характерним для постменопаузального періоду. Цей вплив реалізується через інтерлейкіни (ІЛ-1, ІЛ-3, ІЛ-6), фактор некрозу пухлини α (TNF- α) та остеопротегерин. Так, ІЛ-6 спричиняє активацію остеокластогенезу й опосередковано (через остеобласти), і безпосередньо (впливаючи на остеокласти), що призводить до зниження кісткової маси. Крім того, макрофаги зумовлюють інгібування остеобластичної диференціації шляхом секреції TNF- α та макрофагального запального білка 1- α (CCL-3) – інгібіторів остеокластогенезу. Цитокін ІЛ-3 додатково пригнічує формування остеобластів. Активація нуклеарного фактора κ B у макрофагах та остеокластах відбувається внаслідок дії Т-лімфоцитів, що секретують відповідні прозапальні медіатори. Встановлено, що кількість макрофагів прямо корелює з вираженістю ранньої кальцифікації серця та судин, а інтенсивність запального процесу обернено пропорційна ступеню мінералізації кісткової тканини [26].

Важливу роль у розвитку остеопорозу відіграє остеопротегерин – глікопротеїн суперсімейства факторів некрозу пухлин, що виконує функцію ендогенного інгібітора остеокластогенезу. Його головна біологічна роль полягає у зв'язуванні ліганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL), запобігаючи взаємодії останнього з рецептором RANK на остеокластах та їхніх попередниках. У такий спосіб остеопротегерин блокує процес диференціювання, активації та виживання остеокластів, запобігаючи надмірній резорбції кісткової тканини [27]. У контексті остеопорозу зниження експресії остеопротегерину або порушення балансу в системі RANK / RANKL / OPG спричиняє посилення резорбтивних процесів у кістковій тканині. Особливо це актуально в умовах естрогенodefіциту, коли секреція остеопротегерину знижується, а продукція RANKL посилюється під впливом прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, TNF- α). Такий дисбаланс призводить до переважання остеокластичної активності над остеобластичною, зумовлюючи втрату кісткової маси та погіршення її мікроархітектури [28].

Як один із факторів ризику розвитку остеопорозу переломів науковий інтерес привертає підвищення рівня С-реактивного білка – одного з основних

маркерів субклінічного системного запалення. С-реактивний білок синтезується гепатоцитами переважно в печінці у відповідь на стимуляцію прозапальними цитокінами, зокрема інтерлейкінами ІЛ-1 та ІЛ-6. Він може індукувати експресію RANKL – ліганда активатора рецептора NF- κ B, стимулюючи в такий спосіб остеокластогенез і спричиняючи посилення резорбції кісткової тканини [29].

Отже, проатерогенна зміна ліпідного профілю, підвищення рівня запальних маркерів і розвиток ендотеліальної дисфункції є не лише підтвердженими факторами ризику серцево-судинних захворювань, але й свідчать про імовірність порушення фізіологічних процесів ремоделювання кісткової тканини.

Неоднозначну роль у процесі мінерального обміну та розвитку остеопорозу відіграє ожиріння – хронічне захворювання, що характеризується надмірним накопиченням жиру в організмі. Ожиріння – хронічне, рецидивне і мультифакторне захворювання, розвиток якого зумовлений сукупністю генетичних, соціальних, поведінкових і нейроендокринних чинників, а також особливостями метаболізму [30].

В останні роки поглиблюється актуальність проблеми ожиріння. Пояснюється це збільшенням частоти розвитку ожиріння у зв'язку зі збільшенням тривалості життя, надлишковим харчуванням, зменшенням фізичної активності.

За оцінками ВООЗ, понад 2,5 млрд людей у світі мають надмірну масу тіла незалежно від віку, статі, регіону проживання чи соціального статусу [31]. В Україні, згідно з останніми статистичними даними, майже 20 % осіб працездатного віку мають ожиріння, 25 % – надлишкову масу тіла [32].

У клінічній практиці для оцінювання ступеня ожиріння використовують індекс маси тіла (ІМТ) як відношення маси тіла (кг) до зросту (м²). ІМТ має не лише діагностичне, але й прогностичне значення щодо розвитку супутніх метаболічних і серцево-судинних ускладнень. Про надлишкову масу тіла свідчить ІМТ 25,0–29,9 кг/м², про ожиріння – ІМТ >30,0 кг/м². Найпоширенішою є класифікація ожиріння, розроблена фахівцями ВООЗ на основі ІМТ (табл. 2) [32].

Важливе значення має тип розподілу жирової тканини в організмі: абдомінальний (у верхній половині тулуба – груди, живіт, талія), гіноїдний (у нижній половині тулуба – сідниці та стегна) чи змішаний. У чоловіків з обводом талії понад 102 см і жінок з обводом талії понад 88 см ризик розвитку кардіоваскулярної патології надзвичайно високий.

1

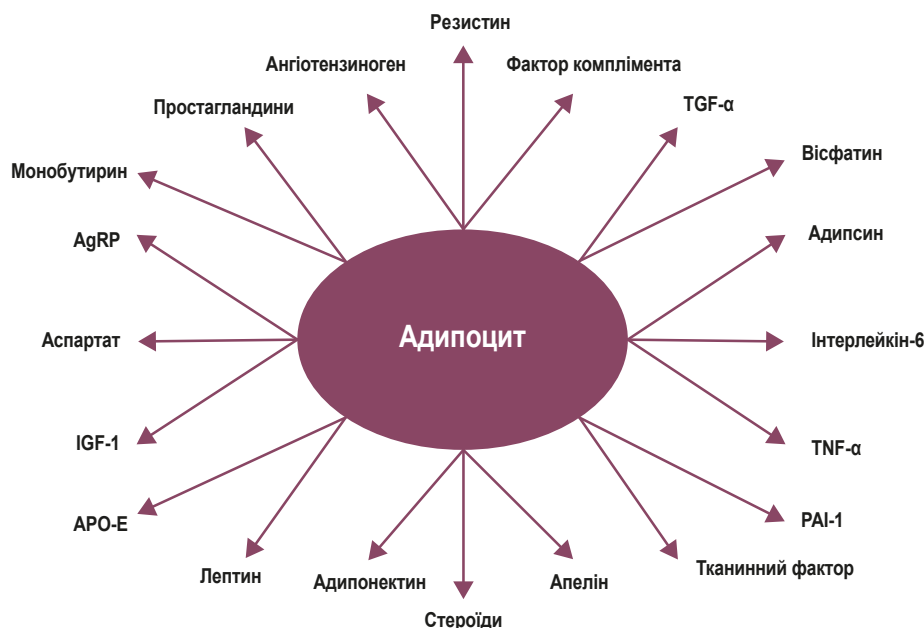


Рис. 1. Біологічно активні речовини, що продукуються адипоцитами.

Ожиріння, особливо абдомінального типу, є не лише незалежним фактором ризику розвитку ІХС, але й чинником, що впливає на процеси кісткового ремоделювання та розвитку остеопорозу внаслідок порушення гормонального гомеостазу, секреції адипокінів і хронічного низькоінтенсивного запалення. Ці ефекти особливо виражені в жінок у постменопаузальному періоді, коли одночасно зростає ризик кардіоваскулярних ускладнень і частота порушень МЩКТ [5,30,33].

Раніше остеопороз та ожиріння вважали незалежними один від одного станами, однак, за результатами найновіших досліджень, підтверджено складний багаторівневий зв'язок між станом МЩКТ, функцією жирової тканини та регуляцією енергетичного обміну [30]. Так, порушення фосфорно-кальцієвого метаболізму за участі паратиреоїдного гормону можуть впливати на синтез панкреатичних гормонів (інсулін, амілін, прептин), і це позначається на біохімічних і біомеханічних властивостях кісткової тканини [34].

Інсулін, що є системним анаболічним гормоном, стимулює диференціацію остеобластів, й у такий спосіб забезпечує нормальний ріст скелета, синтез кісткового матриксу та хряща, а також посилює всмоктування кальцію в кишечнику, спричиняє збільшення захоплення амінокислот і включення їх у кісткову тканину. На мембранах остеобластів виявлено інсулінові рецептори, через які реалізується анаболічна дія інсуліну шляхом активації сигнальних шляхів IRS-1 та IRS-2. І навпаки, такі біомаркери кальцифікації, як остеокальцин, синтезуються в скелеті, але регулюють вуглеводний обмін і секрецію інсуліну. Остеобласти й адипоцити утворюються з загальної мезенхімальної стовбурової клітини-попередника. Взаємна неузгодженість дій між остеобластами й адипоцитами у мікрооточенні кісткового мозку відіграє визначальну роль у ремоделюванні кісткової тканини [35].

Жирова тканина функціонує як активний ендокринний орган і секретує чимало гормонів, цитокінів і метаболітів (рис. 1). За умови тривалого позитивного енергетичного балансу й збільшення маси тіла виникає стан дисфункції жирової тканини, посилюється її секреторна активність, що призводить до розвитку метаболічних порушень, які супроводжують ожиріння.

Лептин, що секретується жировою тканиною, регулює метаболізм кісток через центральну нервову систему, пригнічуючи утворення кісткової тканини та збільшуючи при цьому її резорбцію. Концентрація іншого адипокіну – адипонектину, знижується в разі ожиріння і збільшується в осіб похилого віку, а також стимулює остеобласт-рецептори для посилення остеобластогенезу, опосередковано гальмує остеокластогенез. Надмірна секреція лептину та знижена продукція адипонектину в разі ожиріння не лише поглиблюють запальний процес, але й впливають на транскрипційні механізми ремоделювання кістки, зокрема через вісь RANK / RANKL / OPG і NF-κB. Це підсилює резорбцію кістки та спричиняє її дегенерацію [36].

Нині в науковій літературі немає консенсусу щодо впливу супутнього ожиріння на стан мінералізації кісткової тканини у жінок з ІХС. Раніше ожиріння I-II ступенів визначали як потенційний захисний чинник щодо зниження ризику остеопоротичних змін внаслідок механічного навантаження, що має протективний ефект, але нині ці дані вважають доволі суперечливими. Так, результати епідеміологічних і клінічних досліджень дали змогу встановити, що велика частка жирової тканини може бути незалежним фактором ризику розвитку остеопорозу, зокрема не захищає від переломів у жінок у період постменопаузи [30,37]. За даними окремих досліджень, частота таких переломів вища в осіб із великим відсотком жирової тканини не-

залежно від загальної маси тіла. Як імовірні механізми цього явища визначено порушення мікроархітектури кісткової тканини, зниження її якості, а також інші фактори, пов'язані з міцністю кісток [30].

Крім того, компоненти метаболічного синдрому, що супроводжують ожиріння, як-от підвищений артеріальний тиск, гіпертригліцеридемія і низький рівень ліпопротеїнів високої щільності, можуть бути асоційовані з порушенням мінеральної щільності кісток і підвищенням частоти переломів у пацієнтів похилого віку. За даними низки досліджень, у хворих, які перенесли переломи, часто виявляли порушення толерантності до глюкози або недиагностований цукровий діабет. Ці факти обґрунтовують доцільність комплексного оцінювання метаболічного статусу в таких випадках [38].

Одна з провідних ланок, що об'єднує ці патології, – системне низькорівневе запалення, що виникає в разі ожиріння та спричиняє атеросклероз, прогресування ІХС, а також зниження активності остеобластів із втратою надалі кісткової маси. За даними Н. В. Григор'євої та співавт., надлишковий вісцеральний жир спричиняє активацію прозапальних цитокінів (ФНП- α , IL-1, IL-6), які беруть участь у порушенні рівноваги між остеобластами й остеокластами, посилюючи резорбцію кісткової тканини. Одночасно цей самий запальний фон підтримує атеросклеротичні зміни в судинах, що ускладнює перебіг ІХС [39].

Припускають, що вплив ожиріння на мінеральну щільність і метаболізм кісткової тканини також може відрізнитися в осіб різного віку. В осіб молодого віку надмірна маса тіла часто асоціюється з підвищеним навантаженням на кістки; це може стимулювати кісткове формування та забезпечувати більшу МЩКТ порівняно з обмеженими з нормальною масою тіла. Втім з віком, особливо в жінок після менопаузи, гормональні зміни (зниження естрогену) в поєднанні з хронічним запаленням, інсулінорезистентністю і саркопенією можуть нівелювати або навіть перевернути цей захисний ефект. З віком змінюється і якість кісткової тканини. Зокрема, збільшується пористість, порушується мікроархітектура, навіть якщо МЩКТ залишається стабільною або підвищеною. Це пояснює, чому в осіб похилого віку з ожирінням може зберігатися високий ризик переломів, незважаючи на нормальні показники щільності, за даними денситометрії [30].

Не менш значущим чинником є дефіцит естрогенів у постменопаузальному періоді, який має системний вплив на обмінні процеси. Зниження естрогенного фону спричиняє не лише активацію остеокластів і гальмування остеобластів, зумовлюючи втрату кісткової тканини, але й призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції та формування атеросклеротичних бляшок – основи патогенезу ІХС. Отже, дефіцит естрогенів є критичним тригером, що активує каскадні зміни одночасно у кістковій, серцево-судинній і метаболічній системах жінки в постменопаузі [40,41].

Отже, остеопороз, ІХС та ожиріння – три ключові патології, що надзвичайно поширені серед жінок у постменопаузальному періоді, мають складну й взаємопов'язану патогенетичну основу. У результаті досліджень підтверджено наявність спільних механізмів, що об'єднують ці стани, зокрема через порушення

імунного, гормонального та метаболічного гомеостазу. Аналіз відомостей наукової літератури свідчить, що попри чималу кількість досліджень низка аспектів взаємодії між остеопорозом, ожирінням та ІХС залишається недостатньо з'ясованою. Так, вплив ожиріння на кальцій-фосфорний обмін є досі суперечливим. Це може бути зумовлено розбіжностями в методології досліджень, особливостями віку, тривалістю постменопаузи, критеріями залучення та наявністю супутньої патології.

Висновки

1. Остеопороз, ішемічна хвороба серця й ожиріння – поширені та взаємно пов'язані патології, що найчастіше діагностують у жінок у постменопаузальному періоді. Зв'язок цих станів зумовлений низкою спільних патогенетичних механізмів, і ключову роль з-поміж них відіграють хронічне системне запалення, ендотеліальна дисфункція, проатерогенні зміни ліпідного профілю, метаболічні порушення та дефіцит естрогенів.

2. Хронічне низькорівневе запалення, зумовлене ожирінням, особливо вісцерального типу, спричиняє активацію остеокластів і резорбцію кісткової тканини, а також розвиток атеросклеротичних уражень судин. Важливу роль у патогенезі цього континууму відіграють адипокіни (лептин, адипонектин), прозапальні цитокіни (IL-6, TNF- α) та молекулярні механізми, пов'язані з RANK / RANKL / OPG і транскрипційним фактором NF- κ B. Така взаємодія підтверджує міцний біохімічний і фізіологічний зв'язок між остеопорозом, ожирінням та ІХС.

3. Концепція «остео-кардіо-метаболічного континууму» потребує запровадження мультидисциплінарного, стратифікованого підходу до ведення пацієнток у постменопаузальному періоді.

Перспективи подальших досліджень. З огляду на виявлену складну взаємодію між остеопорозом, ІХС та ожирінням у жінок у постменопаузальному періоді, подальші наукові дослідження мають бути спрямовані на детальніше вивчення молекулярних і клітинних механізмів, що лежать в основі остео-кардіо-метаболічного континууму.

Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

Конфлікт інтересів:

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 07.05.2025

Після доопрацювання / Revised: 30.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 04.07.2025

Відомості про авторів:

Михайловська Н. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6781-9406

Стецюк І. О., PhD, асистент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3698-0181

Мануйлов С. М., PhD, асистент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0008-3073-4538

Михайловський Я. М., PhD, асистент каф. терапії та кардіології, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1310-8585

Лісова О. О., канд. мед. наук, доцент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3894-6913

Шершньова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9675-0425

Information about the authors:

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Stetsiuk I. O., MD, PhD, Assistant of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Manuilov S. M., MD, PhD, Assistant of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Mykhailovskiy Ya. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Therapy and Cardiology, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Lisova O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Shershnyova O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.



Сергій Мануйлов (Serhii Manuilov)
dr.sm.manuilov@gmail.com

References

- Azeez TA. Osteoporosis and cardiovascular disease: a review. *Mol Biol Rep.* 2023;50(2):1753-63. doi: [10.1007/s11033-022-08088-4](https://doi.org/10.1007/s11033-022-08088-4)
- Tsyballiuk T, Krylova A, Dubkova A. [Features of the Course and Treatment of Osteoarthritis in Patients with Osteoporosis and Obesity]. *Family medicine. European practices.* 2021;(1):25-31. Ukrainian. doi: [10.30841/2307-5112.1.2021.231925](https://doi.org/10.30841/2307-5112.1.2021.231925)
- Khandkar C, Vaidya K, Karimi Galougahi K, Patel S. Low bone mineral density and coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2021;37:100891. doi: [10.1016/j.ijcha.2021.100891](https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2021.100891)
- Arjunan D, Prasad TN, Das L, Bhadda SK. Osteoporosis and obesity. *Indian J Orthop.* 2023;57(Suppl 1):218-24. doi: [10.1007/s43465-023-01052-9](https://doi.org/10.1007/s43465-023-01052-9)
- Qiao D, Li Y, Liu X, Zhang X, Qian X, Zhang H, et al. Association of obesity with bone mineral density and osteoporosis in adults: a systematic review and meta-analysis. *Public Health.* 2020;180:22-8. doi: [10.1016/j.puhe.2019.11.001](https://doi.org/10.1016/j.puhe.2019.11.001)
- Povoroznyuk V, Grygorieva N, Johansson H, Lorentzon M, Harvey NC, McCloskey EV, et al. FRAX-Based Intervention Thresholds for Osteoporosis Treatment in Ukraine. *J Osteoporos.* 2021;2021:2043479. doi: [10.1155/2021/2043479](https://doi.org/10.1155/2021/2043479)
- Litovka IG. [Effect of obesity on bone metabolism]. *Fiziolohichniy zhurnal.* 2021;67(2):67-75. Ukrainian. doi: [10.15407/fz67.02.067](https://doi.org/10.15407/fz67.02.067)
- Clynes MA, Harvey NC, Curtis EM, Fuggle NR, Dennison EM, Cooper C. The epidemiology of osteoporosis. *Br Med Bull.* 2020;133(1):105-17. doi: [10.1093/bmb/ldaa005](https://doi.org/10.1093/bmb/ldaa005)
- Gao Y, Patil S, Jia J. The Development of Molecular Biology of Osteoporosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15):8182. doi: [10.3390/ijms22158182](https://doi.org/10.3390/ijms22158182)
- Pylypchuk IS, Pylypchuk II. Osteoporoz ta yakist zhyttia zhinky u XXI stolitti [Osteoporosis and the quality of life of women in the XXI century]. In: *Challenges and achievements of medical science and education. Izdavnictva "Baltija Publishing";* 2020. p. 253-75. Ukrainian. doi: [10.30525/978-9934-26-024-7-13](https://doi.org/10.30525/978-9934-26-024-7-13)
- Walker MD, Shane E. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2023;389(21):1979-91. doi: [10.1056/nejmcp2307353](https://doi.org/10.1056/nejmcp2307353)
- Uddenberg ER, Safwan N, Saadedine M, Hurtado MD, Faubion SS, Shufelt CL. Menopause transition and cardiovascular disease risk. *Maturitas.* 2024;185:107974. doi: [10.1016/j.maturitas.2024.107974](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2024.107974)
- Aibar-Almazán A, Voltes-Martínez A, Castellote-Caballero Y, Afanador-Restrepo DF, Carcelén-Fraile MD, López-Ruiz E. Current Status of the Diagnosis and Management of Osteoporosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):9465. doi: [10.3390/ijms23169465](https://doi.org/10.3390/ijms23169465)
- Rozenberg S, Bruyère O, Bergmann P, Cavalier E, Gielen E, Goemaere S, et al. How to manage osteoporosis before the age of 50. *Maturitas.* 2020;138:14-25. doi: [10.1016/j.maturitas.2020.05.004](https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2020.05.004)
- Schini M, Johansson H, Harvey NC, Lorentzon M, Kanis JA, McCloskey EV. An overview of the use of the fracture risk assessment tool (FRAX) in osteoporosis. *J Endocrinol Invest.* 2024;47(3):501-11. doi: [10.1007/s40618-023-02219-9](https://doi.org/10.1007/s40618-023-02219-9)
- Syu DK, Hsu SH, Yeh PC, Kuo YF, Huang YC, et al. The association between coronary artery disease and osteoporosis: a population-based longitudinal study in Taiwan. *Arch Osteoporos.* 2022;17(1):91. doi: [10.1007/s11657-022-01128-3](https://doi.org/10.1007/s11657-022-01128-3)
- Liu X, Chen F, Liu L, Zhang Q. Prevalence of osteoporosis in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Endocr Disord.* 2023;23(1):1. doi: [10.1186/s12902-022-01260-8](https://doi.org/10.1186/s12902-022-01260-8)
- Honigberg MC, Zekavat SM, Niroula A, Griffin GK, Bick AG, Pirruccello JP, et al. Premature Menopause, Clonal Hematopoiesis, and Coronary Artery Disease in Postmenopausal Women. *Circulation.* 2021;143(5):410-23. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.120.051775](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.051775)
- Chuang TL, Chuang MH, Koo M, Lin CH, Wang YF. Association of bone mineral density and trabecular bone score with cardiovascular disease. *Tzu Chi Med J.* 2020;32(3):234-9. doi: [10.4103/tcmj.tcmj_234_19](https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_234_19)
- Stein PK, Buzkova P, Fink HA, Robbins JA, Mukamal KJ, Cauley JA, et al. Cardiovascular autonomic nervous system function and hip fracture risk: the Cardiovascular Health Study. *Arch Osteoporos.* 2021;16(1):163. doi: [10.1007/s11657-021-01028-y](https://doi.org/10.1007/s11657-021-01028-y)
- Värrö M, Niskanen L, Tuomainen TP, Honkanen R, Kröger H, Tuppurainen MT. Metabolite Profiling of Osteoporosis and Atherosclerosis in Postmenopausal Women: A Cross-Sectional Study. *Vasc Health Risk Manag.* 2020;16:515-24. doi: [10.2147/VHRM.S279028](https://doi.org/10.2147/VHRM.S279028)
- Mishra BH, Mishra PP, Raitoharju E, Marttila S, Mononen N, Sievänen H, et al. Modular genome-wide gene expression architecture shared by early traits of osteoporosis and atherosclerosis in the Young Finns Study. *Sci Rep.* 2021;11(1):7111. doi: [10.1038/s41598-021-86536-0](https://doi.org/10.1038/s41598-021-86536-0)
- Zhang J, Hu W, Zou Z, Li Y, Kang F, Li J, et al. The role of lipid metabolism in osteoporosis: Clinical implication and cellular mechanism. *Genes Dis.* 2023;11(4):101122. doi: [10.1016/j.gendis.2023.101122](https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.101122)
- Martini N, Streckwall L, McCarthy AD. Osteoporosis and vascular calcifications. *Endocr Connect.* 2023;12(11):e230305. doi: [10.1530/EC-23-0305](https://doi.org/10.1530/EC-23-0305)
- Singh P, Singh M, Khinda R, Valecha S, Kumar N, Singh S, et al. Genetic Scores of eNOS, ACE and VEGFA Genes Are Predictive of Endothelial Dysfunction Associated Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(3):972. doi: [10.3390/ijerph18030972](https://doi.org/10.3390/ijerph18030972)
- Seeto AH, Tadrous M, Gebre AK, Lewis JR, Fink HA, Ebeling PR, et al. Evidence for the cardiovascular effects of osteoporosis treatments in randomized trials of post-menopausal women: A systematic review and Bayesian network meta-analysis. *Bone.* 2023;167:116610. doi: [10.1016/j.bone.2022.116610](https://doi.org/10.1016/j.bone.2022.116610)
- Chi G, Qiu L, Ma J, Wu W, Zhang Y. The association of osteoprotegerin and RANKL with osteoporosis: a systematic review with meta-analysis. *J Orthop Surg Res.* 2023;18(1):839. doi: [10.1186/s13018-023-04179-5](https://doi.org/10.1186/s13018-023-04179-5)
- Huang X, Ni B, Li Q, Liu M, Zhao M, Zhang Y, et al. Association between Postmenopausal Osteoporosis and IL-6/TNF-α: A Systematic Review and A Meta-analysis. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2024;27(15):2260-6. doi: [10.2174/0113862073262645231121025911](https://doi.org/10.2174/0113862073262645231121025911)
- Mun H, Liu B, Pham TH, Wu Q. C-reactive protein and fracture risk: an updated systematic review and meta-analysis of cohort studies through the use of both frequentist and Bayesian approaches. *Osteoporos Int.* 2021;32(3):425-35. doi: [10.1007/s00198-020-05623-6](https://doi.org/10.1007/s00198-020-05623-6)
- Liu Y, Liu Y, Huang Y, Le S, Jiang H, Ruan B, et al. The effect of overweight or obesity on osteoporosis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr.* 2023;42(12):2457-67. doi: [10.1016/j.clnu.2023.10.013](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2023.10.013)
- Sørensen TI, Martínez AR, Jørgensen TS. Epidemiology of obesity. In: *Eckel J, Clément K, editors. From Obesity to Diabetes. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol 274. Springer, Cham; 2022. p. 3-27. doi: 10.1007/164_2022_581*
- Kalmykova YS. [Prevalence of obesity and metabolic syndrome in young people: current state of the problem]. *Rehabilitation and Recreation.* 2023;(14):49-55. Ukrainian. doi: [10.32782/2522-1795.2023.14.5](https://doi.org/10.32782/2522-1795.2023.14.5)
- Mykhailovska NS, Stetsiuk IO. [Clinical efficiency of combined pharmacotherapy of coronary artery disease associated with postmenopausal

- osteoporosis]. Bukovinian medical herald. 2020;24(4):65-74. Ukrainian. doi: [10.24061/2413-0737.xxiv.4.96.2020.104](https://doi.org/10.24061/2413-0737.xxiv.4.96.2020.104)
34. Mohammad Rahimi GR, Bijeh N, Rashidlamir A. Effects of exercise training on serum preptin, undercarboxylated osteocalcin and high molecular weight adiponectin in adults with metabolic syndrome. *Exp Physiol*. 2020;105(3):449-59. doi: [10.1113/EP088036](https://doi.org/10.1113/EP088036)
 35. Greere DI, Grigorescu F, Manda D, Lautier C, Poiană C. Insulin resistance and postmenopausal osteoporosis. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2023;19(3):349-63. doi: [10.4183/aeb.2023.349](https://doi.org/10.4183/aeb.2023.349)
 36. Mohammadi SM, Saniee N, Borzoo T, Radmanesh E. Osteoporosis and Leptin: A Systematic Review. *Iran J Public Health*. 2024;53(1):93-103. doi: [10.18502/ijph.v53i1.14686](https://doi.org/10.18502/ijph.v53i1.14686)
 37. Palacios S, Chedraui P, Sánchez-Borrego R, Coronado P, Nappi RE. Obesity and menopause. *Gynecol Endocrinol*. 2024;40(1):2312885. doi: [10.1080/09513590.2024.2312885](https://doi.org/10.1080/09513590.2024.2312885)
 38. Greere D, Grigorescu F, Manda D, Voicu G, Lautier C, Nitu I, et al. Relative Contribution of Metabolic Syndrome Components in Relation to Obesity and Insulin Resistance in Postmenopausal Osteoporosis. *J Clin Med*. 2024;13(9):2529. doi: [10.3390/jcm13092529](https://doi.org/10.3390/jcm13092529)
 39. Grygorieva N, Kovalenko V, Korzh M, Tatarchuk T, Dedukh N, Strafun S, et al. [Guideline for diagnostic, prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis]. *Pain, Joints, Spine*. 2023;13(3):128-54. Ukrainian. doi: [10.22141/pjs.13.3.2023.378](https://doi.org/10.22141/pjs.13.3.2023.378)
 40. Cheng CH, Chen LR, Chen KH. Osteoporosis Due to Hormone Imbalance: An Overview of the Effects of Estrogen Deficiency and Glucocorticoid Overuse on Bone Turnover. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1376. doi: [10.3390/ijms23031376](https://doi.org/10.3390/ijms23031376)
 41. Xiang D, Liu Y, Zhou S, Zhou E, Wang Y. Protective Effects of Estrogen on Cardiovascular Disease Mediated by Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:5523516. doi: [10.1155/2021/5523516](https://doi.org/10.1155/2021/5523516)

Interdisciplinary approach to the management of patients with perforating dermatosis (clinical case)

V. A. Vizir^{id} A,C,E,F, H. I. Makurina^{id} A,B,C,E,F, O. V. Demidenko^{id} D,E, L. O. Horodokina^{id} A,B,D

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

Keywords:
acquired perforating dermatosis, multimorbidity, histological examination, treatment.

Pathologia.
2025;22(2):168-174

The aim of this work is to describe a clinical case of acquired perforating dermatosis within the context of an interdisciplinary approach to patient management, taking into account a comprehensive therapeutic and dermatological diagnostic and therapeutic algorithm.

Materials and methods. A personal observation is described of a 70-year-old patient with clinical manifestations of acquired perforating dermatosis and multimorbid somatic pathology, the verification of which was carried out taking into account the results of laboratory and instrumental diagnostic methods. The dermatological diagnosis was established based on the morphological assessment of a skin biopsy.

Results. A clinical case of a patient with skin lesions of the trunk and upper extremities is described. Visual manifestations of dermatosis are represented by a papular rash with a central depression, erosions, hyperkeratotic changes, and pronounced itching, which in general mimic a wide range of nosologies: from lichen planus, prurigo to multiple keratoacanthomas. Given such clinical non-specificity of the pathological process on the skin, only morphological diagnostics can contribute to the final verification of the dermatological diagnosis. In addition, an important aspect was the assessment of the patient's somatic status, which revealed the presence of multimorbidity, in particular concomitant cardiovascular pathology, chronic kidney disease, cryptogenic liver cirrhosis, and portal hypertension. The general therapeutic direction of this disease is to compensate for the underlying somatic pathology. That is why, given the clinical complexity of the condition, patients in this category require the mandatory involvement of physicians from related specialties. In this case, the patient requires constant therapeutic support, including in the conditions of an inpatient ward. Given the severe general status of the patient, it was decided, in parallel with the treatment of somatic pathology, to have a rather gentle effect on the efflorescence, only with the use of systemic antihistamines and topical therapy with glucocorticosteroids. The positive dynamics within the skin justify the expediency of continuing the planned comprehensive therapeutic tactics.

Conclusions. Morphological examination is the gold standard for verifying pathological processes in the skin. Considering the rather variable nosologies in the context of multimorbidity in one patient, as well as the clear dependence of the course of dermatosis on somatic pathology, a mandatory stage in the management of such patients is the joint interdisciplinary work of specialists of both dermatological and therapeutic profiles.

Ключові слова:
набутий перфоративний дерматоз, мультиморбідність, гістологічне дослідження, лікування.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 2(64).
С. 168-174

Міждисциплінарний підхід до ведення пацієнтів із перфоративним дерматозом (клінічний випадок)

В. А. Візір, Г. І. Макуріна, О. В. Демиденко, Л. О. Городокіна

Мета роботи – описати клінічний випадок набутого перфоративного дерматозу в контексті міждисциплінарного підходу до ведення пацієнтів, враховуючи комплексний терапевтичний і дерматологічний діагностично-лікувальний алгоритм.

Матеріали і методи. Описано власне спостереження за пацієнтом віком 70 років із клінічними проявами набутого перфоративного дерматозу та мультиморбідною соматичною патологією, яку верифікували за результатами лабораторних та інструментальних методів дослідження. Дерматологічний діагноз встановлено на підставі морфологічного оцінювання біоптату шкіри.

Результати. Описано клінічний випадок пацієнта з ураженнями шкіри тулуба та верхніх кінцівок. Візуальні прояви дерматозу представлені папульозною висипкою з центральним западінням, явищами ерозуювання, гіперкератотичними змінами та виразним свербіжем, що загалом імітують великий спектр нозологій – від червоного плоского лишая, пруріго до множинних кератоакантом. Враховуючи таку клінічну неспецифічність патологічного процесу на шкірі, лише морфологічна діагностика може сприяти остаточній верифікації дерматологічного діагнозу. Крім того, важливим аспектом стало оцінювання соматичного статусу пацієнта, що дало змогу встановити мультиморбідність – супутню серцево-судинну патологію, хронічну хворобу нирок, криптогенний цироз печінки, синдром портальної гіпертензії.

Загальний терапевтичний напрям полягає в компенсації основної соматичної патології. Саме тому, зважаючи на клінічну складність стану, такі пацієнти потребують обов'язкового залучення фахівців суміжних спеціальностей. В описаному клінічному випадку пацієнт потребував постійної терапевтичної підтримки, зокрема в умовах стаціонарного відділення. Враховуючи тяжкий загальний стан хворого, вирішено паралельно із лікуванням соматичної патології досить щадно впливати на ефлорисценції – лише із застосуванням системних антигістамінних засобів і топічної терапії глюкокор-

тикостероїдами. Позитивна динаміка в межах шкірних покривів обґрунтовує доцільність продовження запланованої комплексної терапевтичної тактики.

Висновки. Морфологічне дослідження є золотим стандартом верифікації патологічного процесу на шкірі. Враховуючи досить варіабельні нозології в контексті мультиморбідності в одного пацієнта, а також чітку залежність перебігу дерматозу від соматичної патології, обов'язковим етапом в менеджменті таких хворих є спільна міждисциплінарна робота фахівців дерматологічного та терапевтичного профілю.

Perforating dermatosis is a general term for rare skin lesions, some variants of which are associated with somatic pathology. According to research, the incidence is 2.53 per 100,000 population per year [1]. However, these indicators may vary and depend on the comorbid background. The sample of hemodialysis patients in the study by S. E. Roldan-Contreras et al. with manifestations of acquired perforating dermatosis was 11 % [2]. While in the work of Z. Gao et al., among patients with this dermatosis, concomitant chronic renal failure was recorded in 18.9 % of people [3]. Not only is kidney damage seen in this condition, acquired perforating dermatosis can be associated with diabetes mellitus, thyroid disease, HIV infection, and malignant neoplasms [3,4,5].

Given the limited prevalence of these skin manifestations in the general population, their classification lacks a clearly defined structure. Therefore, "perforating dermatosis" is represented by a heterogeneous group that includes the following nosologies: serpiginous perforating elastosis, Kirlé's disease, perforating folliculitis, and acquired reactive perforating collagenosis. Integrative in this case may be both potentially similar clinical manifestations in the form of papular efflorescences with a central depression, and histological parameters due to the transepidermal elimination of dermal structures. The latter, according to T. Kawakami et al., stands out as a separate differential aspect between clinical variants in the group of perforating dermatoses, taking into account the type of material involved in the pathological process: elastic, collagen fibers, or keratin [6]. In earlier works, A. J. García-Malinis et al. even reported the possibility of involving both types of fibers in pathomorphological evaluation [7].

Such visual and morphological similarity provides the logic of combining the above-mentioned skin manifestations under a unified definition of "Perforating dermatosis". At the same time, the interpretation of "acquired" additionally indicates the appearance in adulthood and the association with systemic pathology [8,9].

The key pathogenetic mechanisms of manifestation and progression of skin lesions that meet the criteria for acquired perforating dermatosis are also not fully defined, demonstrating multi-vector nature: ranging from microcirculatory disorders and oxidative stress to increased accumulation of glycation end products in the skin or excessive expression of transforming growth factor beta 3 (TGF- β 3) [1,4,9]. Particular attention should be given to the study by B. Liu et al., which addresses the effective treatment of acquired reactive perforating collagenosis with dupilumab, a therapy targeting the IL-4 and IL-13 signaling pathways. The observed clinical outcome, manifested by the resolution of efflorescences and reduction of pruritus, opens new diagnostic and therapeutic perspectives regarding the potential involvement of Th2-type inflammation in the pathological process [10].

Therefore, considering the infrequent occurrence of this dermatosis, the diversity of classification criteria, the complexity of clinical and morphological verification, as well as its association with systemic pathology, such skin lesions require a comprehensive evaluation not only by dermatologists but also by specialists in internal medicine. Accordingly, broader awareness of the common "problematic aspects" of perforating dermatoses will facilitate their timely assessment and appropriate further management.

Aim

The aim of this work is to describe a clinical case of acquired perforating dermatosis within the context of an interdisciplinary approach to patient management, taking into account a comprehensive therapeutic and dermatological diagnostic and therapeutic algorithm.

Materials and methods

The assessment of visual manifestations of dermatosis was carried out at the Department of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. A general examination and analysis of the severity of the patient, taking into account comorbid somatic pathology, was carried out with the involvement of specialists from the Department of Internal Medicine No. 2 of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

The final verification of the dermatological diagnosis was determined by morphological assessment of the skin biopsy. A punch biopsy with a diameter of 5 mm was performed. The material was immediately placed in 10 % buffered formalin solution (pH 7.4) with subsequent fixation for 24 hours, preparation of paraffin blocks, and sections 4 μ m thick. Determination of histological patterns of dermatosis was carried out when evaluating sections stained with hematoxylin and eosin.

This work was performed in accordance with the ethical standards of IGH/GCP, the Declaration of Helsinki (1964 with amendments), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine, and the legislation of Ukraine. The study was approved by the Bioethics Commission of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (protocol No. 8 dated 19.06.2025).

Clinical case

A patient born in 1955 presented to a dermatologist with complaints of a rash primarily affecting the skin of the trunk and upper limbs. According to the patient, the first efflorescences on the back were noticed approximately four months before seeking specialized medical care.

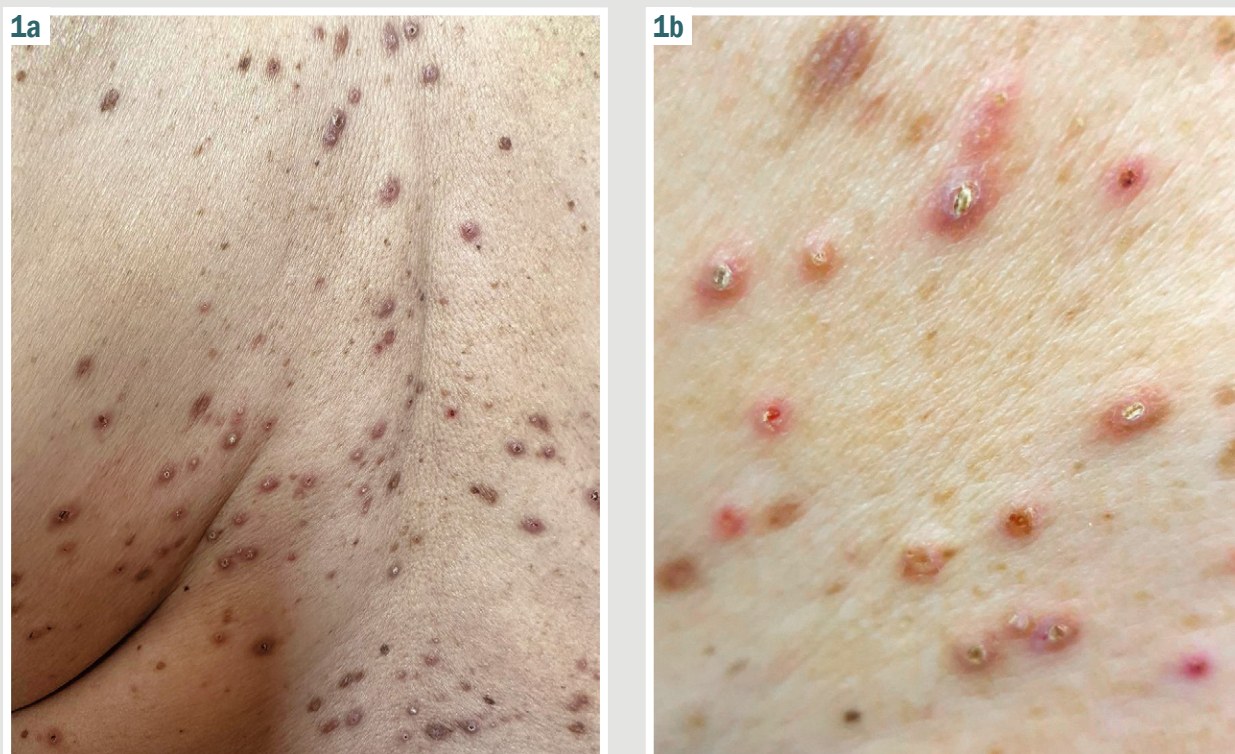


Fig. 1. Dermatosis manifestations observed during the baseline clinical assessment before initiating treatment.

However, in addition to the rash, which became widespread, the dominant complaint was unbearable itching. This feeling accompanied the patient throughout the day, significantly disrupting both sleep and subsequent high-quality daytime functioning.

Objectively: the maximum concentration of rash elements is observed on the skin of the back, to a lesser extent, on the shoulders and forearms, where single morphological elements are present. Clinically, efflorescences are represented by hemispherical papules with a tendency to perifollicular formation, pink in color, some with a lilac-brown tint. Also noteworthy is the presence within the papular elements of a central depression, which is represented by erosion or hyperkeratotic changes (Fig. 1). On the skin of the forearms, excoriations and the appearance in these places of new, but corresponding to the above description, elements are observed. The latter thesis meets the criteria of the Koebner phenomenon, which additionally indicates the activity and progression of the process. While the presence of scratching is an objective marker of itching, as one of the leading phenomena of this pathological condition on the skin.

The clinical manifestations observed gave rise to a broad range of potential differential diagnoses, including lichen planus, prurigo, and multiple keratoacanthomas. That is why the next diagnostic step in the context of the final verification of dermatological nosology was morphological examination. Thus, when evaluating a skin biopsy, the epidermis is identified with hyperkeratosis, hypergranulosis, and focal invagination of the epidermis is observed, which is filled with keratin masses and accumulations of neutrophils. In this area,

transepidermal elimination of collagen and elastic fibers is observed. Moderate diffuse spongiosis is identified in the epidermis. In the adjacent dermis, there are cicatricial changes and focal moderate lymphohistiocytic infiltration. After performing additional sections of the material from the paraffin block, the histological picture did not change. When staining for elastic fibers, transepidermal elimination of elastic fibers is observed. Thus, this morphological picture, taking into account the clinical manifestations, most closely corresponds to acquired perforating dermatosis (Fig. 2).

While awaiting the morphological assessment of the skin biopsy, the patient was urgently hospitalized in the internal medicine department with complaints of general weakness, inhibition, intermittent nosebleeds, shortness of breath on minimal physical exertion, abdominal distension, and lower limb edema.

From the patient's somatic history, it is known that he has been suffering from hypertension for over fifteen years, with maximum blood pressure spikes reaching 230/100 mmHg (with a baseline of 130/80 mmHg). However, in recent times, he has shown a tendency toward hypotension, with episodes of blood pressure dropping to 90/60 mmHg. Since 2023, the patient has exhibited clinical signs of heart failure stages IIB–III, including ascites and hydrothorax. He underwent inpatient treatment courses 2–3 times per year. Recently, there has been a marked increase in the frequency of hospitalizations due to decompensated heart failure. Critical aortic stenosis was detected on echocardiography, ascending aortic aneurysm with an ejection fraction of 27 %. Also in February 2024, coronary angiography was performed: right

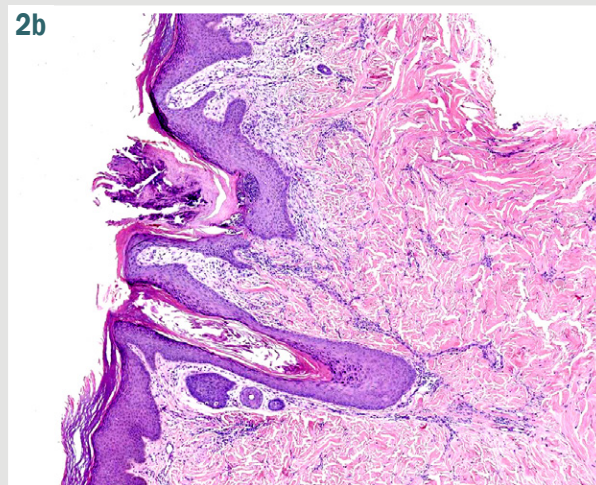
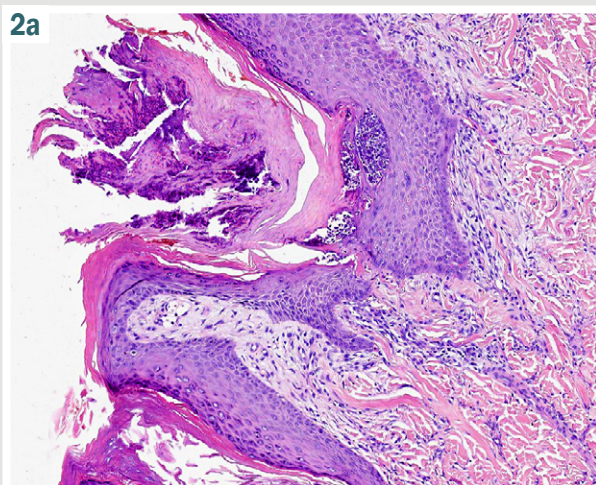


Fig. 2. Morphological features of acquired perforating dermatosis, H & E, Mag.: $\times 50$.



Fig. 3. Clinical manifestations of dermatosis one week after the start of topical therapy.

coronary artery – stenosis 50–70 %, circumflex branch of the left coronary artery – stenosis 30–70 %, anterior interventricular branch – stenosis 60 %.

In August 2024, he was consulted by a cardiac surgeon with recommendations for further conservative therapy, taking into account the existing associated risks. In January 2025, he had erysipelas of the left lower limb, erythematous form against the background of obliterating atherosclerosis of the lower limbs. He takes empagliflozin, torasemide, xipamide, rivaroxaban and rosuvastatin on an outpatient basis.

At the time of the most recent hospitalization, the patient's general condition was severe. Height – 170 cm, body weight – 110 kg. Respiratory rate – 18 breaths per minute. Heart rate – 70 beats per minute, with an irregular rhythm. Blood pressure – 100/70 mmHg. Body temperature – 36.8 °C. There is lower legs edema to the level of the upper third of the anterior abdominal wall. Irregular heart sound, the tones are significantly muffled, a rough

aortic systolic murmur and the accentuated pulmonary component of the second heart sound. Breath sounds are harsh over the lungs, without wheezing. There is abdominal distension due to ascites, and palpation of the internal organs is difficult.

The most clinically significant laboratory test results are listed below. In the general blood test: Hb – 106 g/L, erythrocytes – $3.6 \times 10^{12}/L$, platelets – $127 \times 10^9/L$, ESR – 12 mm/h, total protein – 57.7 g/L, albumin – 30.1 g/L, creatinine – 292.0 $\mu\text{mol}/L$, urea – 53.3 mmol/L, total bilirubin – 52.4 $\mu\text{mol}/L$, direct bilirubin – 30.8 $\mu\text{mol}/L$, uric acid – 752.7 $\mu\text{mol}/L$, prothrombin index – 52 %. General urine test: specific gravity – 1010, proteinuria – 0.108 g/L. According to electrocardiography data: voltage is normal, heart rate – 71 beats/min. Atrial fibrillation. Left bundle branch block. According to abdominal and renal ultrasound: echographic signs of hepatomegaly, ascites, portal hypertension, chronic cholecystitis, hepatic fibrosis, slight reduced kidney size, moderate thinning of the parenchyma.

Thus, the somatic condition is represented by the following diagnosis: Ischemic heart disease: stable angina pectoris, functional class III. Obstructive coronary artery atherosclerosis (Coronary angiography dated 14.02.2024: right coronary artery – 50–70 % stenosis; circumflex branch of the left coronary artery – 30–70 % stenosis; anterior interventricular branch – 60 % stenosis). Critical aortic stenosis. Tricuspid regurgitation III, pulmonary arterial hypertension III, permanent atrial fibrillation with controlled ventricular rate. CHA2DS2-VASc 3 point, HAS-BLED 4 point. Ascending aortic aneurysm. Essential hypertension, stage III, grade III with very high cardiovascular risk, left ventricular hypertrophy. Chronic kidney disease stage IV (glomerular filtration rate 26 ml/min/1.73 m²). Hypertensive nephropathy. Heart failure stage D with reduced ejection fraction (38 %). Chronic heart failure III. Cryptogenic liver cirrhosis, Child–Pugh class C, portal hypertension. Ascites. Peripheral arterial disease. Encephalopathy of mixed genesis (metabolic, hypertensive, atherosclerotic). Anemia of chronic disease. Received inpatient treatment for a comorbid somatic condition: human albumin, empagliflozin, xipamid, rosuvastatin, pantoprazole, furosemide, enoxaparin, citicoline sodium.

Somatic compensation of comorbid pathology plays a key role both in the overall stabilization of the patient's condition and in the course of the potential resolution of the skin manifestations of perforating dermatosis. Therefore, the treatment of skin lesions, which serve as an additional burden and complicate the patient's overall condition, requires decisive yet gentle therapeutic measures. For this patient, the management algorithm for perforating dermatosis included the use of a second-generation non-sedating systemic antihistamine (fexofenadine 180 mg) once daily, along with a topical glucocorticosteroid – specifically, betamethasone valerate cream applied twice daily. Figure 3 shows the clinical manifestations of the dermatosis one week after the initiation of topical therapy: flattening of most rash elements is noted, and the patient reports a significant reduction in pruritus intensity. The use of topical therapy resulted in positive clinical dynamics, which allows further continuation of the application of corticosteroid cream, but once a day. However, taking into account the chronic relapsing course of acquired perforating dermatosis and its pathogenetic association with severe somatic comorbidity, such therapy should be considered only as one of the components of a comprehensive treatment strategy.

Long-term maintenance of the clinical effect and prevention of further progression of dermatosis are possible only under conditions of a multimodal approach, which includes targeted correction of concomitant somatic pathology, in particular, cardiovascular, nephrological, endocrine, and hepatobiliary. Systemic monitoring of the patient's general condition over time, combined with individualized dermatological management, is critically important for achieving sustained remission and improving disease prognosis.

Discussion

Acquired perforating dermatosis is a nosology that satisfies the professional interest not only of dermatol-

ogists but also of general practitioners. After all, on the one hand, there is a skin lesion, on the other hand, a comorbid pathology that does not claim to be secondary and stereotyped in management. Considering perforating dermatosis from the point of view of changes in the skin, it is worth focusing on the diagnostic complexity, starting with a visual assessment of the pathological process. Thus, the clinical pattern of papules with a centrally located depression and the formation of an erosive or keratotic surface is not pathognomonic for only one group of dermatoses. These visual characteristics may correspond to prurigo nodularis, folliculitis, keratoacanthoma, lichen planus, or pityriasis rubra pilaris. Whereas clinical manifestations with a tendency towards an annular, serpiginous arrangement mimic granuloma annulare, porokeratosis, or sarcoid-like changes [11]. On the other hand, the presence of intense itching and excoriations meets the criteria for both papulosquamous dermatoses and infectious skin lesions. The clinical case described by A. Agrawal et al. demonstrates the high mimicking potential among the aforementioned conditions: the visual manifestations during the differentiation between perforating dermatosis, nodular prurigo, and papulonecrotic tuberculid ultimately masked scabies upon final verification [12].

Acquired perforating dermatosis typically develops in the context of severe systemic disease, supporting its interpretation not only as an isolated dermatological entity but also as a clinical marker of systemic pathology characterized by marked metabolic or vascular disturbances.

According to the data presented in the study by Y. C. Edek et al., 65.26 % of the patients included in the cohort were verified to have a comorbidity in the form of diabetes mellitus, while arterial hypertension and cardiovascular diseases were recorded in 56.84 % and 45.26 % of those examined, respectively. In addition, there is a distinct emphasis on kidney and hepatobiliary system damage [9]. Comparing the above-mentioned data with our clinical case, the patient also presents with cardiovascular pathology, renal involvement, and hepatobiliary system disorders, which are consistent with the literature. However, such multimorbidity complicates the timely differential diagnosis of both somatic and dermatological conditions, affecting the scope of further diagnostic evaluation.

Acquired perforating dermatosis can occur in patients with a history of malignancy and may also represent an early clinical manifestation of a neoplastic process. Thus, N. Imran presented a clinical case of a patient with diabetes mellitus and end-stage chronic renal failure, in whom skin lesions phenotypically consistent with perforating dermatosis preceded the registration of regionally disseminated renal cell carcinoma [13]. This thesis emphasizes the potential role of various nosological forms from the heterogeneous group of perforating dermatoses as dermatological markers of paraneoplastic transformation, which expands the clinical significance of these conditions and requires their mandatory analysis in the differential diagnostic algorithm.

In light of current post-pandemic trends, it is important to consider the possible impact of coronavirus infection as a potential trigger for the emergence of cutaneous efflorescences of diverse etiology. Thus, S. Wang et al.

described a case of an asymmetric, unilateral skin process in the form of acquired reactive perforating collagenosis 3 weeks after recovery from COVID-19 [14]. The occurrence of exacerbation of dermatosis has also been demonstrated, but already after SARS-CoV-2 vaccination in a patient with comorbid but compensated background: renal failure, hypertension, diabetes mellitus, and a history of pulmonary tuberculosis [15].

Acquired perforating dermatosis can also be considered in the context of drug-induced pathological process, often through molecular targeted therapy [16,17,18]. In general, there are no gender preferences in perforating dermatoses; however, for nosologies associated specifically with taking medications, there is an emphasis on the male population over 50 years of age [15].

Special attention is required to discuss acquired perforating dermatosis within the framework of Wolf's isotopic response, which is characterized by the manifestation of efflorescences directly at the site of regression of the previous dermatosis, but of a completely different origin. Thus, the case described by X. H. Du et al. demonstrates the appearance of clinical manifestations of acquired perforating dermatosis within the area of herpes zoster resolution in a patient who, in accordance with the general trend, also had a more than 10-year history of comorbidity, namely diabetes mellitus [19].

The general therapeutic direction of this disease management is to compensate for the underlying somatic pathology. That is why, given the clinical complexity of the condition, patients in this category require the obligatory involvement of physicians from related specialties. In this case, the patient demonstrates a characteristic multimorbid condition necessitating ongoing therapeutic management, including periods of hospitalization for adequate medical support. Accordingly, restoring functional capacity through compensatory mechanisms is essential not only for the healing of skin lesions but also for sustaining the patient's overall life activity and systemic stability. If this condition is considered solely from the perspective of the pathological process affecting the skin, there is a specific arsenal of therapeutic agents available, ranging from topical corticosteroids and keratolytics to the systemic use of antihistamines, allopurinol, tetracyclines, retinoids, or phototherapy [20,21].

Understanding the pathogenetic mechanisms of this dermatosis contributes to the integration of both classical drugs, taking into account new approaches, emphases, and modern means of immunobiological therapy into treatment protocols. Taking into account the literature, individual cases of successful treatment of acquired perforating dermatosis with colchicine are described, suggesting a potential anti-inflammatory and antifibrotic activity [22,23]. Ye B. et al., one of the first to demonstrate the positive effect of itraconazole on acquired reactive perforating collagenosis, considering both its anti-inflammatory and antiangiogenic effects [24]. On the other hand, the active use of targeted biological therapy continues [25,26].

Thus, given the severe general condition of the patient in this study, it was decided to treat the efflorescences gently, in parallel with the treatment of somatic pathology, using only a systemic antihistamine and a topical corticosteroid. Positive dynamics within the skin allow us to

continue the planned treatment regimen with an emphasis on a comprehensive approach to the management of this patient.

Conclusions

1. The diagnosis of acquired perforating dermatosis is often challenging due to the nonspecific clinical manifestations and the need for extensive differential diagnosis with other dermatoses. For this reason, morphological examination remains the "gold standard" for verifying the pathological process in the skin.

2. Familiarization with the clinical manifestations of rare skin lesions within the spectrum of perforating dermatoses by specialists from various medical fields, as well as recognition of their visual mimicking potential, contributes to a deeper understanding of dermatological pathology in the context of systemic body function.

3. Considering the rather variable nosologies in the context of multimorbidity in one patient, as well as the clear dependence of the course of dermatosis on somatic pathology, a mandatory stage in the management of such patients is the joint interdisciplinary work of specialists of both dermatological and therapeutic profiles.

Funding

The description of this clinical case is a fragment of the research project of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University: "Development of personalized approaches to the treatment of inflammatory dermatoses, hair diseases, STIs, and correction of age-related skin changes, taking into account comorbid pathology, aesthetic, and psychopathological factors", state registration No. 0124U003220 (2024–2029).

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 22.04.2025

Після доопрацювання / Revised: 30.06.2025

Схвалено до друку / Accepted: 03.07.2025

Information about the authors:

Vizir V. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Internal Medicine No. 2, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-5486-2963

Makurina H. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Dermatovenereology and Aesthetic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3293-2748

Demidenko O. V., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Internal Medicine 2, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

ORCID ID: 0000-0001-8431-037X

Horodokina L. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Dermatovenereology and Aesthetic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3057-8685

Відомості про авторів:

Візір В. А., д-р мед. наук, професор каф. внутрішніх хвороб 2, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Макуріна Г. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дерматовенерології та естетичної медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Деміденко О. В., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. внутрішніх хвороб 2, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Городокіна Л. О., д-р філософії, асистент каф. дерматовенерології та естетичної медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.



Liliia Horodokina (Лілія Городокіна)
lilgrdkn@gmail.com

References

- Harbaoui S, Litaïem N. Acquired Perforating Dermatitis. [Updated 2023 Feb 13]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539715/>
- Roldan-Contreras SE, Mendoza Martínez JR, Marin-Hernandez E, Coronado-Malagón M. Acquired Perforating Dermatitis and Dermatology Life Quality Index in Patients Receiving hemodialysis. *Nefrologia (Engl Ed)*. 2024;44(2):251-5. doi: [10.1016/j.nefro.2024.03.006](https://doi.org/10.1016/j.nefro.2024.03.006)
- Gao Z, Lu SJ, Shan SJ. Acquired perforating dermatosis: A clinicopathologic study, and the features of dermoscopy and reflective confocal microscopy of 37 cases. *Skin Res Technol*. 2023;29(7):e13416. doi: [10.1111/srt.13416](https://doi.org/10.1111/srt.13416)
- Mima Y, Ohtsuka T, Ebato I, Nishie R, Uesugi S, Sumi M, et al. A Case of Acquired Reactive Perforating Dermatitis with Complete Resolution of Eruptions on Upper and Lower Limbs During the Treatment of Diabetes Mellitus and Peripheral Artery Disease. *Medicina*. 2025;61(1):36. doi: [10.3390/medicina61010036](https://doi.org/10.3390/medicina61010036)
- Garido PM, Queirós C, Borges-Costa J, Soares-Almeida L, Filipe P. Acquired perforating dermatosis: clinicopathologic study of a 10-year period at a tertiary teaching hospital. *Int J Dermatol*. 2020;59(4):445-50. doi: [10.1111/ijd.14760](https://doi.org/10.1111/ijd.14760)
- Kawakami T, Akiyama M, Ishida-Yamamoto A, Nakano H, Mitoma C, Yoneda K, et al. Clinical practice guide for the treatment of perforating dermatosis. *J Dermatol*. 2020;47(12):1374-82. doi: [10.1111/1346-8138.15647](https://doi.org/10.1111/1346-8138.15647)
- García-Malinis AJ, Del Valle Sánchez E, Sánchez-Salas MP, Del Prado E, Coscojuela C, Gilaberte Y. Acquired perforating dermatosis: clinicopathological study of 31 cases, emphasizing pathogenesis and treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(10):1757-63. doi: [10.1111/jdv.14220](https://doi.org/10.1111/jdv.14220)
- Wang MF, Mei XL, Wang L, Lin-Feng L. Clinical characteristics and prognosis of acquired perforating dermatosis: A case report. *Exp Ther Med*. 2020;19(6):3634-40. doi: [10.3892/etm.2020.8651](https://doi.org/10.3892/etm.2020.8651)
- Edek YC, Aypek Y, Ögüt B, Erdem Ö, Adışen E. Acquired Perforating Dermatitis: Clinical and Histopathological Analysis of 95 Patients From One Center. *Dermatol Pract Concept*. 2024;14(2):e2024100. doi: [10.5826/dpc.1402a100](https://doi.org/10.5826/dpc.1402a100)
- Liu B, Wu Y, Wu X, Zhong X, Xue R, Zhang Z. Dupilumab improve acquired reactive perforating collagenosis characterized by type 2 inflammation. *Front Immunol*. 2023;14:1240262. doi: [10.3389/fimmu.2023.1240262](https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1240262)
- Metterle L, Magro CM, Zang JB. Giant variant of acquired perforating dermatosis in a renal dialysis patient. *JAAD Case Rep*. 2017;3(1):42-4. doi: [10.1016/j.jdc.2016.10.004](https://doi.org/10.1016/j.jdc.2016.10.004)
- Agrawal A, Singal A, Devanda R, Arora VK. Scabies surreptitious masquerading as perforating dermatosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2024;1-4. doi: [10.25259/IJDVL_834_2023](https://doi.org/10.25259/IJDVL_834_2023)
- Imran N. Acquired Perforating Dermatitis as a Paraneoplastic Feature: A Case Report, Literature Review, and Novel Association. *Case Rep Nephrol Dial*. 2023;13(1):36-44. doi: [10.1159/000530756](https://doi.org/10.1159/000530756)
- Wang S, Min X, Wang X, Cheng L, Qiu L. A case of acquired reactive perforating collagenosis after COVID-19 infection. *Postepy Dermatol Alergol*. 2024;41(5):536-7. doi: [10.5114/ada.2024.142575](https://doi.org/10.5114/ada.2024.142575)
- Sciamarrelli N, Siliquini N, Mastorino L, Senetta R, Dapavo P, Ribero S, et al. Exacerbation of acquired perforating dermatosis following SARS-CoV-2 vaccination. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2023;37(9):e1091-3. doi: [10.1111/jdv.19137](https://doi.org/10.1111/jdv.19137)
- Mądrzak L, Staniszevska I, Moskwa A, Kalińska-Bienias A. Drugs as a cause of perforating dermatoses – a literature review. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*. 2024;111(3):209-21. doi: [10.5114/dr.2024.144652](https://doi.org/10.5114/dr.2024.144652)
- Fisher RM, Hadley G, Ieremia E, Moswela O, Zaki F, DeLuca GC, et al. Natalizumab-induced acquired perforating dermatosis. *Clin Exp Dermatol*. 2021;46(7):1373-5. doi: [10.1111/ced.14699](https://doi.org/10.1111/ced.14699)
- Liu X, Wang H, Wan Y, Guo Y, Shan SJ. Acquired Perforating Dermatitis Induced by PD-1 Inhibitor: A Case Report. *Am J Dermatopathol*. 2021;43(12):942-4. doi: [10.1097/DAD.0000000000002026](https://doi.org/10.1097/DAD.0000000000002026)
- Du XH, Huang SY, Zeng XF, Lu SJ, Gao Z. Acquired Perforating Dermatitis After Herpes Zoster: Wolf Isotopic Response. *J Cutan Pathol*. 2025;52(1):16-9. doi: [10.1111/cup.14728](https://doi.org/10.1111/cup.14728)
- Tai A, Prakash S, Lade S, McCormack CJ, Goh MS. Two cases of acquired perforating dermatosis successfully treated with allopurinol. *Australas J Dermatol*. 2022;63(1):121-4. doi: [10.1111/ajd.13712](https://doi.org/10.1111/ajd.13712)
- Schremser V, Tittes J, Tanew A, Radakovic S. Sustained clearance of acquired perforating dermatosis after narrowband UVB phototherapy: A retrospective cohort study on seven patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2023;37(6):e747-8. doi: [10.1111/jdv.18904](https://doi.org/10.1111/jdv.18904)
- Kharghoria G, Grover C. Treatment of acquired perforating dermatosis with colchicine. *Indian Dermatol Online J*. 2022;13(1):131-2. doi: [10.4103/idoj.IDOJ_163_21](https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ_163_21)
- Gil F, Cardoso JC, Gil J. Successful Treatment of Acquired Perforating Dermatitis with Colchicine. *Indian Dermatol Online J*. 2021;12(2):355-6. doi: [10.4103/idoj.IDOJ_504_20](https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ_504_20)
- Ye B, Cao Y, Liu Y. Successful treatment of acquired reactive perforating collagenosis with itraconazole. *Eur J Med Res*. 2021;26(1):74. doi: [10.1186/s40001-021-00542-6](https://doi.org/10.1186/s40001-021-00542-6)
- Gori N, De Luca E, Chiriccozi A, Sfregola S, Di Stefani A, Peris K. Successful Use of Dupilumab in the Treatment of Acquired Perforating Dermatitis Associated with Atopic Dermatitis. *Case Rep Dermatol Med*. 2024;2024:6265608. doi: [10.1155/2024/6265608](https://doi.org/10.1155/2024/6265608)
- Alsebayel MM, Alzaid T, Alobaida SA. Dupilumab in acquired perforating dermatosis: A potential new treatment. *JAAD Case Rep*. 2022;28:34-36. doi: [10.1016/j.jdc.2022.08.013](https://doi.org/10.1016/j.jdc.2022.08.013)