

УДК: 616.411-007.61:616.36-007.61-002-004

ДИФЕРЕНЦІАЛЬНА ДІАГНОСТИКА І КОРЕКЦІЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ З ЦИРОЗОМ ПЕЧІНКИ, УСКЛАДНЕНИМ ГЕПАТОСПЛЕНОМЕГАЛІЄЮ ТА ПОРТАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Клімова О. М., Кордон Т. І., Смачило Р. М., Белозьоров І. В.,
Биченко К. О., Мережко О. С., Кудревич О. М.

Пошта для листування: klimovalena53@gmail.com

Резюме: Дослідження ролі селезінки в патогенезі цирозу печінки має важливе значення для лікування. Наявні на сьогоднішній день дані літератури свідчать про роль змінених функцій селезінки в патогенезі цирозу печінки. Метою даної роботи було з'ясувати особливості етіології та патогенетичних порушень у пацієнтів з гепатоспленомегалією. Досліджували формені елементи і сироватка крові 58 пацієнтів з гепатоспленомегалією на тлі цирозу печінки, ускладненого портальною гіпертензією. Залежно від антигенного вантажу хворі були розділені на дві групи: I - хворі з цирозом печінки на тлі вірусів гепатиту HBV/HCV і II - хворі з автоімунним гепатитом на тлі герпетичних вірусів CMV/VEB. Лікування хворих включало застосування протигерпетичних імуноглобулінів та гемопоетичних клітин-попередників кордової крові (ГКП КК). У пацієнтів групи I виявили посилення спонтанної окисної активності нейтрофілів і виснаження окисного резерву в кисне залежному фагоцитозі, що активувало сигнальні шляхи прозапальних цитокінів ІЛ-6 (підвищення в 60 разів). Виявили збільшений вміст CD22⁺-плазматичних В-лімфоцитів, що синтезували підвищені концентрації ІgА. У пацієнтів групи II виявили підвищення активності С3- і зниження С4-компонентів комплементу; тромбоцитопенію за рахунок наявності автоантитіл до тромбоцитів; посилення синтезу імуноглобулінів ІgМ, ІgG, підвищення синтезу ІНФ-γ. У всіх пацієнтів виявили порушення обміну амінокислот в різних метаболічних циклах - орнітинового, що порушувало утворення сечовини і свідчить про накопичення аміаку, який може підсилювати цитотоксичний ефект в групі I; метіоніновий з порушенням утворення цистину з цистеїну і накопичення гомоцистеїну, що підсилює синтез ІНФ-γ, який був підвищений в групі II в 4 рази. Виявлено деякі етіологічні і патогенетичні особливості формування цирозу печінки, ускладненого портальною гіпертензією і рецидивуючими кровотечами з варикозно-розширених вен стравоходу. Верифіковані нами імунологічні та метаболічні зміни корелювали зі зникненням клінічних проявів захворювання, поліпшенням самопочуття, відсутністю рецидивів кровотечі.

Ключові слова: вірусна персистенція, гепатоспленомегалія, портальна гіпертензія, цироз печінки, автоімунний гепатит, рецидивні кровотечі, імунітет

Інформація про авторів

Клімова Олена Михайлівна, зав. діагностичної лабораторії «ДУ ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева» НАМН України, в'їзд Балакірєва, 1, Харків, 61003
klimovalena53@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4007-6806>

Кордон Тетяна Іванівна, старш. наук. співроб. діагностичної лабораторії «ДУ ІЗНХ ім. В. Т. Зайцева НАМН України», в'їзд Балакірєва, 1, Харків, 61003
kordontatiana@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5813-3656>

Смачило Ростислав Михайлович, д. мед. н., професор, завідуючий відділенням хірургії печінки та жовчовивідних шляхів «ДУ ІЗНХ ім. В. Т. Зайцева НАМН України», в'їзд Балакірєва, 1, Харків, Україна, 61103;

професор кафедри хірургії №1 Харківського національного медичного університету, проспект Науки, 4, Харків, 61022 Україна
rosmachylo@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-1237-0255>

Белозьоров Ігор Вікторович, д. мед. н., професор, декан медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4 Харків, 61022
med@karazin.ua

<https://orcid.org/0000-0002-4102-3220>

Биченко Катерина Олексіївна, мол. наук. співроб. діагностичної лабораторії «ДУ ІЗНХ ім. В. Т. Зайцева НАМН України» Адреса: в'їзд Балакірєва, 1, Харків, 61003

bichenko.katya@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7885-7715>

Мережко Ольга Сергіївна, мол. наук. співроб. діагностичної лабораторії «ДУ ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМНУ» Адреса: в'їзд Балакірєва, 1, Харків, 61003
olushka7791@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-9855-1780>

Кудревич Олександр Миколайович, к. мед. н., доцент, зав. кафедри хірургічних хвороб, оперативної хірургії та топографічної анатомії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4 Харків, 61022
o.m.kudrevych@karazin.ua

<https://orcid.org/0000-0002-2086-8822>

Вступ

Спленомегалія і гіперспленізм - це синдроми, що супроводжують цілий ряд патологічних станів, в тому числі захворювання печінки [4]. Причиною патології печінки можуть бути гепатотропні інфекції, дія екзогенних токсичних речовин, порушення метаболічних процесів, генетичні зміни, зміни імунного статусу [3]. Збільшення селезінки, що супроводжує цироз печінки, часто відбувається паралельно з гіперспленізмом, який вважається основною причиною цитопенії і тромбоцитопенії у такої категорії хворих [1]. Дослідження ролі селезінки в патогенезі цирозу печінки має важливе значення для лікування. Необхідно з'ясувати, яким чином цей найбільший орган імунної системи може приймати участь у розвитку патології печінки. Наявні на сьогоднішній день дані літератури свідчать про роль змінених функцій селезінки в патогенезі цирозу печінки [8; 10]. Можливо, активність клітин ретикулоендотеліальної системи селезінки, масивний розподіл фагоцитів, вивільнення сигнальних молекул, викликаних запаленням, зокрема цитокінів, можуть відігравати важливу роль. Можна припустити, що вірусні антигени викликають зміни функцій імунних клітин селезінки, особливо в макрофагах, моноцитах і Т-лімфоцитах, і ці клітини, здатні мігрувати з селезінки в печінку по порталному протоку, можуть бути ланками цього патологічного процесу. Всебічне розуміння молекулярних і клітинних механізмів, що контролюють гомеостаз і патофізіологію селезінки, допоможуть розробити потенційно нові терапевтичні стратегії для лікування цирозу печінки, особливо в умовах, коли можливість спленектомії виключена.

В останні роки в результаті чисельних досліджень показано, що кордова кров є багатим джерелом гемопоетичних і мезенхімальних стовбурових клітин, а застосування цих клітин для корекції метаболічних порушень при цирозі печінки покращує результати комплексного лікування [7].

Мета дослідження

З'ясувати особливості етіології та патогенетичних порушень у пацієнтів з гепатоспленомегалією

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження служили формені елементи і сироватка крові 58 пацієнтів з гепатоспленомегалією на тлі цирозу печінки, ускладненого порталною гіпертензією. Всі пацієнти були розділені на дві групи. До групи I включили 22 пацієнта: 14 жінок від 49 до 64 років, середній вік яких склав 59 років, і 8 чоловіків від 24 до 47 років, середній вік яких склав 38 років. У всіх пацієнтів групи I діагностували цироз печінки на тлі вірусів HBV / HCV. До групи II було включено 36 осіб: 17 жінок від 23 до 70 років, середній вік яких склав 46 років, і 19 чоловіків від 28 до 81 року, середній вік яких склав 54 роки. У пацієнтів цієї групи діагностували цироз печінки нез'ясованої етіології, у яких виявили персистенцію вірусів герпетичної групи - цитомегаловірусу (CMV) і вірусу Епштейна-Барра (VEB). У подальших дослідженнях в даній групі нами були виявлені автоімунні порушення, в зв'язку з чим групу характеризували як пацієнти з автоімунним гепатитом з етіологічним чинником вірусів герпетичної групи.

Про наявність вірусної персистенції судили за збільшеним змістом в сироватці крові антитіл класу IgG до вірусу гепатиту B (HBV), вірусу гепатиту C (HCV), цитомегаловірусу (CMV), вірусу Епштейна-Барра (VEB). Вміст противірусних антитіл різної специфічності визначали методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів для ІФА виробництва АТ «Вектор-Бест». Спектрофотометричне визначення зразків проводили на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 3200 (США).

Функціональну активність нейтрофілів периферичної крові оцінювали за показниками киснезалежного фагоцитозу в тесті поглинання нітросинього тетразолію (НСТ-тест). За співвідношенням числа стимульованих зимозаном і клітин, що спонтанно окислювали діформазан, оцінювали окислювально-відновний резерв фагоцитів. Розраховували такі показники як СП (%) - кількість диформазанпозитивних клітин в спонтанному тесті; СТ (%) - кількість диформазанпозитивних клітин в стимульованому зимозаном тесті; ІС - індекс

стимуляції, що відображає співвідношення СП / СТ.

Визначення концентрації С3 і С4-фрагментів комплементу в сироватці крові проводили турбідиметричним методом з використанням наборів Dialab. Оптичну щільність зразків визначали фотометричним при довжині хвилі - 340 нм на біохімічному аналізаторі Stat-Fax 1904 (США).

Визначення вмісту сироваткових імуноглобулінів (Ig) класів А, М і G здійснювали методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів для ІФА виробництва АТ «Вектор-Бест». Спектрофотометричне вимірювання зразків проводили на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 3200 (США).

Аналіз амінокислотного складу сироватки крові включав виділення білків із зразку, дериватизацію з фенілізотіоціанатом (ФІТЦ), розділення ФІТЦ-похідних методом рідинної хроматографії, детекцію і кількісний розрахунок отриманих даних.

Підрахунок тромбоцитів периферичної крові проводили за методом Фоніо з використанням сульфату магнію. За допомогою імерсійної мікроскопії одночасно підраховували 1000 еритроцитів і тромбоцитів, що знаходились серед них. За співвідношенням еритроцитів і тромбоцитів в 1 л крові вираховували абсолютну їх кількість.

Визначення антитромбоцитарних автоантитіл проводили методом непрямой імунофлуоресценції на склі, що містило

біочіпові реакційні зони, вкриті мазками тромбоцитів (набір реактивів EUROIMMUN, Німеччина).

Визначення концентрації прозапальних цитокінів ІЛ - 1 β , ІЛ - 6, ФНО- α , протизапального ІЛ-10 та ІНФ- γ в сироватці крові визначали за допомогою тест-систем твердофазного імуноферментного аналізу з використанням специфічних МКАТ різної специфічності (набір реагентів АТ «Вектор-Бест»).

Для оцінки експресії кластерів диференціювання CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ на субпопуляціях Т- і В-лімфоцитів застосовували імунофлуоресцентний метод з використанням моноклональних антитіл, мічених ФІТЦ - барвником. Кількість клітин, що експресували молекули CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ оцінювали за допомогою люмінесцентної мікроскопії (мікроскоп Olympus BX53).

Результати та їх обговорення

В усіх групах відзначали підвищення спонтанної окисної реакції, яка в групі з цирозом печінки перевищувала референтні значення в 4 рази, що свідчить про недостатність НАДФ-Н-оксидазної системи фагоцитів у пацієнтів з гепатоспленомегалією. Такі зміни можуть бути причиною зниженого ендцитозу і завершеності фагоцитозу нейтрофілів (табл. 1).

У групі II пацієнтів з автоімунним гепатитом цей показник перевищував референтні значення в 2,9 рази (табл. 1).

Таблиця 1. Показники спонтанної та індукованої окислювальної НАДФ-Н реакції нейтрофільних гранулоцитів у пацієнтів з гепатоспленомегалією різної етіології

($M \pm m$)

Показники НСТ-тесту	Референтні значення	I група - пацієнти з цирозом печінки на тлі HBV/HCV	II група - пацієнти з цирозом печінки на тлі CMV/VEB
СП,%	10,1 \pm 1,1	44,48 \pm 4,3*	29,23 \pm 5,6*
СТ,%	65,2 \pm 3,2	66,69 \pm 7,2	68,39 \pm 5,9
ІС	7,1 \pm 0,9	1,39 \pm 0,4*	3,82 \pm 0,6*

Примітка*- різниця достовірна порівняно з референтними значеннями ($p < 0,05$)

Показники стимульованої реакції киснезалежного фагоцитозу в досліджуваних групах достовірно не відрізнялися від референтних значень.

Індекс стимуляції (ІС), який свідчить про інтегральну бактерицидну активність фагоцитів, був значно знижений (в 5 разів) в групі I, і свідчив про виснаження окисного резерву нейтрофілів.

Таким чином, у пацієнтів з цирозом печінки на тлі вірусів HBV/HCV виявили високий рівень спонтанної генерації ферментного комплексу НАДФ·Н і низький окисний резерв фагоцитів за рахунок хронічної персистенції вірусних антигенів.

У обстежених пацієнтів виявили різноспрямовані зміни концентрації компонентів комплементу в сироватці крові. Концентрація С3-компоненту комплементу - основного фактора альтернативного шляху активації комплементу і одного з основних природних опсонинів у пацієнтів з цирозом печінки на тлі HBV/HCV (група I) була збільшена незначно (на 10%) відносно референтного рівня. При наявності автоімунного гепатиту на тлі CMV/VEB (група II) виявили достовірне (в 1,5 разів) збільшення концентрації С3-компоненту комплементу, що може вказувати на недостатнє його споживання в реакціях елімінації імунних комплексів (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст С3 та С4-компонентів комплементу в сироватці крові пацієнтів з гепатоспленомегалією різної етіології

Досліджувані групи	<i>(M ± m)</i>	
	С3-компонент комплементу, мг/дл	С4-компонент комплементу, мг/дл
Референтні значення	105,0±7,1	25,0±1,12
I група - пацієнти з цирозом печінки на тлі HBV/HCV	117±14,1	15,7±3,11*
II група - пацієнти з цирозом печінки на тлі CMV/VEB	153±6,3*	19,9±4,07

Примітка*- різниця достовірна порівняно з референтними значеннями (p<0,05).

Концентрація С4-компоненту комплементу - показника захисної функції організму, що приймає участь в класичному шляху активації системи комплементу, була значно знижена (в 1,6 рази в порівнянні з референтним рівнем) в групі пацієнтів з наявністю вірусів гепатиту HBV/HCV. У 2-й групі пацієнтів з вірусною герпетичною персистенцією рівень С4-компоненту комплементу був знижений на 20% відносно референтного рівня (табл. 2). Зниження концентрації С4-компоненту комплементу свідчить про недостатній опсонізуючий його ефект, що приймає участь у взаємодії рецептору першого компоненту комплементу С1 з Fc-фрагментами антитіл [9].

Вміст IgA в сироватці крові був підвищеним у всіх обстежених, однак найзначніше - у пацієнтів групи I на тлі персистенції вірусів гепатитів HBV/HCV. Концентрація імуноглобулінів M і G була

вищою у пацієнтів групи II на тлі герпетичної інфекції CMV/VEB (табл. 3)

Достовірне 2-кратне підвищення вмісту IgA у пацієнтів з цирозом печінки на тлі HBV/HCV і в 1,5 рази у пацієнтів з аутоімунним гепатитом може бути зумовлено посиленням його синтезом, індукованим як екзогенними інфекційними антигенами (віруси, бактерії), так і кишковими ендogenous антигенами, що потрапляють в системний кровотік як по портосистемним анастомозам, так і через уражену печінку. Вищі значення концентрації IgM - маркера гострого інфекційного процесу були виявлені в групі пацієнтів з аутоімунним гепатитом [6].

У всіх пацієнтів групи I з цирозом печінки виявили підвищену концентрацію валіну та фенілаланіну, у 75% - метіоніну, аргініну, глутамату, аспарагіну, ізолейцину, у 50% - орнітину, лейцину та серину, у 75% - знижену концентрацію цистину.

Таблиця 3. Концентрація імуноглобулінів IgA, IgM, IgG в сироватці крові пацієнтів з гепатоспленомегалією різної етіології

Показник	Референтні значення	$(M \pm m)$	
		I група - пацієнти з цирозом печінки на тлі HBV/HCV	II група - пацієнти з цирозом печінки на тлі CMV/VEB
Імуноглобулін А, г/л	1,91±0,11	3,84±0,96*	2,96±0,08*
Імуноглобулін М, г/л	0,95±0,08	1,61±0,56*	2,08±0,07*
Імуноглобулін G, г/л	11,55±2,35	14,09±0,94	15,95±2,11*

Примітка*- різниця достовірна порівняно з референтними значеннями ($p < 0,05$)

В групі II пацієнтів з автоімунним гепатитом виявили підвищення концентрації орнітину у 81%, фенілаланіну – у 63%, валіну – у 54%, метіоніну, серину і лізину – у 45%. Зниження вмісту цистину виявили у 81%, глютаміну – у 63% обстежених даної групи.

Підвищення концентрації аргініну і орнітину, більш виражене в групі I, свідчить про порушення циклу синтезу сечовини, в якому ці амінокислоти є субстратами. Так, вміст сечовини у обстежених пацієнтів з цирозом печінки був зниженим відносно референтного рівня. Окрім цього, зниження вмісту сечовини в сироватці крові пацієнтів з гепатоспленомегалією може бути обумовлено дефіцитом води в організмі на тлі кровотеч з ВРВ [2].

У всіх пацієнтів з гепатоспленомегалією, ускладненою кровотечею з ВРВ на тлі портальної гіпертензії, відзначали тромбоцитопенію різного ступеню вираженості.

У пацієнтів першої групи абсолютний вміст тромбоцитів в периферичній крові склав

(132,5 ± 22,5) 10^9 /л, у другій групі – (102,0 ± 18,8) 10^9 /л при референтному значенні (250,0 ± 35,0) 10^9 /л (рис. 1).

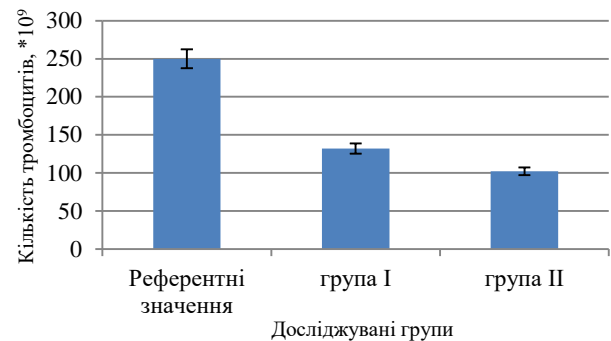
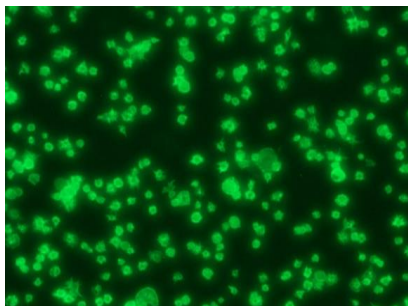
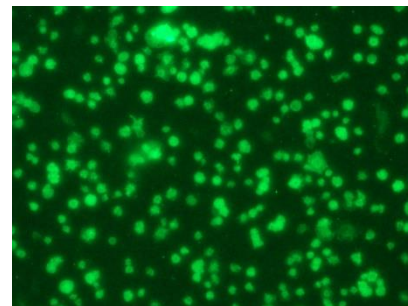


Рис. 1. Абсолютна кількість тромбоцитів у хворих з гепатоспленомегалією різної етіології

Однією з причин тромбоцитопенії може бути лізуюча дія антитромбоцитарних антитіл (ААТ), які ми виявили в сироватці крові всіх пацієнтів з гепатоспленомегалією. У першій групі пацієнтів з цирозом печінки ААТ до тромбоцитів виявляли у 50% обстежених; у другій групі хворих з автоімунним гепатитом - у 100% обстежених пацієнтів (рис. 2).



А



В

Рис. 2. Антитромбоцитарні автоантитіла у сироватці крові, виявлені методом імунофлуоресценції: А – у пацієнта С. (ж., 54 роки) з цирозом печінки на тлі HBV/HCV; В- у пацієнта М. (ч., 63 роки) з автоімунним гепатитом на тлі CMV/VEB

Визначення вмісту прозапальних цитокінів концентрації ІЛ-6 в обох обстежених групах дозволило встановити значне підвищення (табл.4).

Таблиця 4. Вміст прозапальних цитокінів ІЛ – 1 β , ІЛ-6, ФНП- α , ІНФ- γ та протизапального ІЛ-10 у пацієнтів з гепатоспленомегалією різної етіології

($M \pm m$)

Показник	Референтні значення	I група - пацієнти з цирозом печінки на тлі HBV/HCV	II група - пацієнти з цирозом печінки на тлі CMV/VEB
ІЛ – 1 β , пг/мл	1,6 \pm 0,3	0,67 \pm 0,04*	2,6 \pm 0,1*
ІЛ-6, пг/мл	2,0 \pm 0,2	128,4 \pm 35,6*	102,1 \pm 8,6*
ФНП- α , пг/мл	1,5 \pm 0,1	1,57 \pm 0,2	18,9 \pm 2,2*
ІЛ-10, пг/мл	5,2 \pm 0,8	17,9 \pm 1,5*	25,6 \pm 3,4*
ІНФ- γ , пг/мл	9,4 \pm 2,3	14,1 \pm 3,5	37,6 \pm 4,2*

Примітка*- різниця достовірна порівняно з референтними значеннями ($p < 0,05$)

У пацієнтів групи виявили достовірне зниження концентрації ІЛ-1 β , - первинного індуктора сигнального шляху прозапальних цитокінів тоді як в групі II даний показник був вище референтних значень. Зміст фактора ФНО- α в I групі не відрізнявся від рівня референтних величин, а в групі з автоімунним гепатитом був підвищений в 13 разів (табл. 4). Концентрація противірусного ІНФ- γ була 4-кратно підвищена у пацієнтів з автоімунним гепатитом на тлі CMV/VEB.

Вміст протизапального цитокіну ІЛ-10 був підвищений в обох групах, однак максимальний рівень даного цитокіну виявили в II групі - у 5 разів перевищував референтні значення (табл. 4).

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові у пацієнтів з цирозом печінки мав знижену експресію CD3+ і CD4+ клітин диференціювання Т-лімфоцитів. Виявили зниження експресії CD3+, CD4+, CD8+ Т-лімфоцитів у пацієнтів з автоімунним гепатитом (табл. 5).

Таблиця 5. Вміст субпопуляцій T- і B-лімфоцитів у пацієнтів з гепатоспленомегалією різної етіології

($M \pm m$)

Показник	Референтні значення	I група - пацієнти з цирозом печінки на тлі HBV/HCV	II група - пацієнти з цирозом печінки на тлі CMV/VEB
CD3+, %	54,9 \pm 1,3	44,5 \pm 3,9*	38,1 \pm 4,2*
CD4+, %	34,8 \pm 2,6	22,3 \pm 3,5*	24,3 \pm 2,7*
CD8+, %	21,1 \pm 2,9	22,5 \pm 2,1	13,7 \pm 1,9*
CD22+, %	15,4 \pm 1,8	26,4 \pm 4,0*	19,6 \pm 3,3

Примітка*- різниця достовірна порівняно з референтними значеннями ($p < 0,05$)

Вміст субпопуляції CD22+ плазматичних В-лімфоцитів була підвищений в обох групах, однак максимальне значення цього показника було в групі пацієнтів з цирозом печінки HBV/HCV етіології.

Таким чином, антигенний вантаж у вигляді хронічної вірусної персистенції різної етіології, виявлений нами у пацієнтів з гепатоспленомегалією, тягне за собою виснаження функціонального резерву

фагоцитуючих клітин і зниження імунорезистентності. Виражений дисбаланс білків системи комплементу в сироватці крові у пацієнтів з автоімунним гепатитом, який характеризувався посиленням продукції С3-компоненту, може бути обумовлений дефектом утворення імунних комплексів, а зниження концентрації С4 компонента комплементу - його споживанням в реакціях опсонізації, що сприяє альтерації тканини,

поряд з протиінфекційними імуноглобулінами і аутоантитілами [1].

Утворені аутоантитіла, зокрема до тромбоцитів, які ми виявили у всіх пацієнтів з аутоімунним гепатитом і частини пацієнтів з цирозом печінки, можуть бути не тільки причиною тромбоцитопенії, але і мати різну антигенну специфічність, обумовлюючи перехресні патогенетичні механізми [5].

Імунні реакції, що лежать в основі тромбоцитопеній, є складним багатоетапним процесом, в якому беруть участь імунокомпетентні клітини і цитокіни. Аутоантитіла до тромбоцитів прискорюють їх кліренс із циркуляції шляхом їх опсонізації з подальшим фагоцитозу, а також шляхом цитотоксичного і комплементзалежного лізису. Руйнування патологічних комплексів відбувається в основному в селезінці, рідше - в печінці. Відомо, що у формуванні аутоагресії істотну роль відіграють Т-лімфоцити з переважанням Т-хелперів 2 типу та зниженням регуляторних CD4 + CD25 + Т-лімфоцитів [5].

Як відомо, метіонін є сірковмісною амінокислотою, що ініціює трансляцію в процесі синтезу білка, взаємодіючи з першим кодоном мРНК, і утворення першого пептидного зв'язку.

Метіонін містить метильну групу, яка приєднуючись до аденозину, утворює S-аденозилметіонін (SAM). Щоб стати джерелом СН₃-групи, метіонін піддається активації за участю АТФ. При перенесенні метильної групи на субстрати утворюються такі сполуки як адреналін, мелатонін, креатин, холін глікозоамінглікани, 7-метілгуанозин для мРНК. Низька витрата метіоніну, що виконує функцію знешкодження біогенних амінів, детоксикації ліків в печінці, знижує синтез В₁₂-метилкобаламіну – проміжного переносника метильної групи SAM-СН₃-SA, що зумовлює надмірне утворення гомоцистеїну [2, 3].

Порушення шляхів метаболізму метіоніну може бути наслідком змін процесів його деметилування, або гідроксилування серина, який був 2-кратно підвищений в групі I та 4-кратно в групі II. Накопичення гомоцистеїну, що характерне для такого порушення, може викликати підвищену ініціацію апоптозу в клітині, а також призводити до зниження активності мієлопероксидази і як наслідку

пригнічення дихального вибуху фагоцитів, яке ми спостерігали в групі II. Також в цій групі виявили дворазове підвищення глутамату, що може бути обумовлено дефіцитом в мітохондріях клітин печінки глутаматдегідрогенази - регуляторного ферменту амінокислотного обміну, який активують високі концентрації АДФ.

Концентрація ІЛ-6 у хворих на цироз печінки була значно підвищена, при цьому зміст прозапальних цитокінів ФНП-α не виходило за межі верхньої межі референтного інтервалу, що пов'язано з регуляторною дією ІЛ-6, який регулює проліферацію епітеліальних клітин жовчних проток, клітин печінки, утворення гранульом, формування фіброзу при цирозі печінки.

Одночасне підвищення ІЛ-1β, ІЛ-6 і ФНП-α групи II пацієнтів з аутоімунним гепатитом може свідчити про розвиток atopічних реакцій.

Зміна вмісту прозапальних цитокінів корелювала з високим рівнем субпопуляції CD22 + -В-лімфоцитів. ІЛ-1β пригнічує розвиток В-лімфоцитів, беручи участь у виборі напрямку гемопоєзу між мієло- і В-лімфопоєзом на користь першого. За нашими даними у пацієнтів першої групи при низькому вмісті ІЛ-1β спостерігається високий рівень CD22 + -В-лімфоцитів. Так само в диференціюванні і дозріванні В-лімфоцитів приймає участь ІЛ-6, який є фактором-2, що стимулює В-лімфоцити. За нашими даними підвищений рівень ІЛ-6 у пацієнтів обох груп узгоджувався з високим рівнем субпопуляції CD22 + В-лімфоцитів [8, 10].

Вибір тактики лікування хворих з гепатоспленомегалією, ускладненою портальною гіпертензією, обумовлений наявністю різного антигенного вантажу.

Для лікування хворих з цирозом печінки, ускладненим портальною гіпертензією, з метою профілактики подальших ускладнень і для корекції вищеописаних метаболічних розладів в групі I використовували одноразове внутрішньовенне введення гемопоетичних клітин-попередників кордової крові (ДКП КК). У групі II для корекції вираженого аутоімунного компоненту використовували 5-кратне внутрішньовенне введення специфічних протигерпетичних

імуноглобулінів в кількості 25 мл імуноглобуліну на 100 мл фізіологічного розчину.

Застосовували клітини кордової крові, збагачену моноклеарами в ефективній кількості, достатній для спрямованого трансдиференціювання.

факторів мікрооточення. Перед кріоконсервацією проводили попереднє тестування клітинного матеріалу. Сателітні зразки КК перевіряли на стерильність; наявність відповідних еритроцитарних антигенів за системою АВ і Rh; визначали фенотип і щільність лейкоцитарних рецепторів HLA I класу ABC і II класу DR; визначали кластери диференціювання CD90+, CD34+, CD38+, CD45+, CD33+.

Безпосередньо перед введенням клітинних трансплантатів проводили реконсервацію препаратів КК при температурі 38⁰ С. В сателітних зразках визначали життєздатність клітин-попередників. Зразки вважали придатними для використання, перевіривши в тесті КУО-ГМ на життєздатність і проліферативну активність.

Ефективність застосування противірусних імуноглобулінів і ГСК КК оцінювали за показниками гуморального і клітинного імунітету, профілем прозапальних цитокінів, показниками білкового обміну. Верифіковані нами імунологічні та метаболічні зміни корелювали з усуненням клінічних проявів захворювання (знижувався і усувався асцитичний випіт), спостерігалось поліпшення самопочуття, були відсутні рецидиви кровотечі, усувався дискомфорт в системі травлення, збільшувалася працездатність.

Висновки

1. Пацієнти з цирозом печінки відрізняються особливостями формування ускладнень у вигляді гепатоспленомегалії, які залежать від етіологічного чинника (HВV, HСV, СМV, VЕВ), що призводить до індукування специфічних механізмів патологічного процесу.

2. У пацієнтів групи I з цирозом печінки на тлі персистенції вірусів гепатиту HВV/HСV відмінності полягали у порушенні бар'єрної функції фагоцитів, які

Гемопоетичні клітини кордової крові після розморожування безпосередньо перед введенням реципієнту короточасно інокулювали (5 хв) з автоплазменними факторами даного пацієнта для трансдиференціювання клітин під дією певних

проявлялися посиленням спонтанної окисної активності нейтрофілів і виснаження окисного резерву в киснезалежному фагоцитозі; активацією Т-хелперзалежного антитілоутворення CD22+-В-лімфоцитами, та підвищенням концентрації IgA.

3. У пацієнтів групи II з автоімунним гепатитом на тлі персистенції герпесвірусів СМV/VEB виявили домінування комплементзалежних порушень бар'єрної функції вродженого імунітету - підвищення активності С3- і зниження С4-компонентів комплементу, посилення синтезу IgM, IgG. Виявили тромбоцитопенію за рахунок наявності автоантитіл до тромбоцитів; підвищення синтезу ІНФ-γ, ФНП-α на тлі підвищення ІЛ-1β свідчать про високий ступінь активації фагоцитуючих макрофагів.

4. Лікування хворих, що включало застосування протигерпетичних імуноглобулінів та гемопоетичних клітин-попередників кордової крові (ГКП КК), покращувало імунологічні та метаболічні показники, що узгоджувалось зі зникненням клінічних проявів захворювання, поліпшенням самопочуття, відсутністю рецидивів кровотечі.

Список літератури

1. Губский Ю. И. Биологическая и биоорганическая химия / Ю. И. Губский. Киев: ВСИ «Медицина», 2017. - 582с.
2. Лисенко С. А., Мельник А. В., Церковнюк Р. Г. Активність лужної фосфатази як маркер паранеопластичного ревматологічного синдрому у хворих на рак легені. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2012. №4. С.48-51.
3. Скубицька Л. Д., Севериновська О. В. Комплексний аналіз показників крові та кислотоутворююча функція шлунка при захворюваннях гепатобілярної системи з супутніми патологіями. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія»*. 2016. №27. С.139-149.
4. Янович Д. О., Янович Н. Є. Біотрансформація ксенобіотиків і механізми її *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. 2011. Т.13, №2 (48), Частина 2. С.305-311.

5. Abdallah C. Acute epiglottitis: Trends, diagnosis and management. *Saudi J Anaesth.* 2012 Jul-Sep; 6(3): 279–281.
6. Chroboczek T, Cour M, Hernu R, Baudry T, Bohé J, Piriou V, Allaouchiche B, Disant F, Argaud L. Long-term outcome of critically ill adult patients with acute epiglottitis. *PLoS One.* 2015 May 6;10(5):e0125736. doi: 10.1371/journal.pone.0125736. eCollection 2015.
7. Новый подход к выбору метода хирургического лечения гиперспленизма у больных циррозом печени / В. В.Бойко, Е. М.Климова, Ю. В.Авдосьев и др. *Харківська хірургічна школа.* 2011. №2. С.130-132.
8. Звягинцева Т.Д., Чернобай А.И., Глушенко С.В. Роль адеметионина в развитии и прогрессировании хронических заболеваний печени. *Укр. мед. Часопис.* 2014. Ч. 3. №101. С. 56-60.
9. Звягинцева Т.Д., Глушенко С.В. Хронические диффузные заболевания печени: патогенетические подходы к лечению. *Здоров'я України.* 2010. С.46-47.
10. Практические навыки по внутренним болезням. Дифференциальный диагноз гепатоспленомегалии: учеб.-метод. пособие / Корнелюк И. В., Макаревич А. Э., Алексейчик Д. С., Никулина Н. А., Крумкачева А. Ю. Минск: БГМУ. 2015. 27с.
11. Минеева Н. В., Кробинец И. И., Блинов М. Н. и др Антигены и антитела к тромбоцитам. *Онкогематология.* 2013. №3. С.60-68.
12. Рачковский М. И., Белобородова Э. И., Белобородова Е. В., Алексеева А. С., Синичева Ю. И. и др. Прогностическое значение сывороточных уровней IgA и IgM при циррозе печени вирусной и алкогольной этиологии. *Пермский медицинский журнал.* 2009. Т. XXVI. № 1. С.88-92.
13. Патент України № 37688 А 61К 45/00, Спосіб лікування хворих з циррозом печінки та профілактики його ускладнень / Бойко В.В., Клімова О.М., Василювська С.В., Сушков С.В., Кордон Т.І., Шакіна Л.О. від 10.12.2008. Бюл. №23.
14. Bolognesi M. Role of spleen enlargement in cirrhosis with portal hypertension / Bolognesi M., Merkel C., Sacerdoti D. et al. *Dig Liver Dis.* 2002. V. 34(2). P.144 – 150.
15. Homann C. Acquired C3 deficiency in patients with alcoholic cirrhosis predisposes to infection and increased mortality / C.Homann, K.Varming, K.Høgåsen, T.E.Mollnes, N.Graudal, A.C. Thomsen et al. *Gut.* 1997. Vol. 40. P. 544–549.
16. Liangpunsakul S., Ulmer B. J., Chalasani N. Predictors and implications of severe hypersplenism in patients with cirrhosis. *Liangpunsakul. Am J Med Sci.* 2003. V. 326(3). P.111 – 116.
1. Gubskiy, U. (2017) Biological and bioorganic chemistry. Kiev: Medicine. (in Ukrainian)
2. Lysenko, S. A., Melnik, A. V., Tserkovniuk, R. G. (2012). Activity of alkaline phosphatase as a marker of paraneoplastic rheumatological syndrome in lung cancer patients. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal.* 4. P. 48-51. (in Ukrainian)
3. Skubitska, L. D., Severynovska, O.V. (2016), Complex analysis of blood indices and acid production function of stomach at diseases of hepatobiliary system with concomitant lesions. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University Series "Biology".* 27. P. 139-149. (in Ukrainian)
4. Yanovych, D., Yanovych, N. (2011). Biotransformation of xenobiotics and mechanisms of its regulation. *Scientific Scientific messenger of Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj series "Veterinary sciences".* 12(3). Part 2. P. 305-311. (in Ukrainian)
5. Abdallah, C. (2012). Acute epiglottitis: Trends, diagnosis and management. *Saudi J Anaesth.* 6(3). P. 279–281.
6. Chroboczek, T., Cour, M., Hernu, R., Baudry, T., Bohé, J., Piriou, V., Allaouchiche, B., Disant, F., Argaud, L. (2015). Long-term outcome of critically ill adult patients with acute I. *PLoS One.* 6; 10(5):e0125736. doi: 10.1371/journal.pone.0125736.
7. Boyko, V. V., Klimova, Ye. M., Avdosyev, Yu. V., Grechikhin, G. V. (2011). A new approach to the selection of surgical treatment method of hypersplenism in patients with liver cirrhosis. *Kharkiv surgical school.* 2(47). P. 130-132. (in Russian)
8. Zviahintseva, T. D., Chernobai, A. I., Glushchenko, S. V. (2014). The role of ademetionine in the development and progression of chronic liver diseases. *Ukrainian Medical Journal.* 101. Part 3. P. 56-60. (in Russian)
9. Zviahintseva, T. D., Glushchenko, S. V. (2010). Chronic diffuse liver disease: pathogenetic approaches to treatment. *Zdorovie Ukrainy.* 2. P. 46–47. (in Russian)
10. Kornelyuk I.V., Makarevich, A. E. Alekseychik, D. S., Nikulina, N.A., Krumkacheva A. Yu. (2015). Practical skills in internal medicine. Differential diagnosis of hepatosplenomegaly: textbook.-method. allowance. Minsk, BSMU.P. 27. (in Russian)
11. Mineeva, N. V., Krobinec, I. I., Blinov, M. N. Kapustin, S. I. (2013). Platelet antigens and antibodies. Literature review. *Oncohematology.* 8(3). P. 60-68. (in Russian). <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2013-8-3-60-68>
12. Rachkovsky M. I., Beloborodova, E. I., Beloborodova, E. V., Alekseev, A. S., Sinicheva, Yu. I. (2009). Prognostic value of serum levels of IgA and IgM in cirrhosis of the liver of viral and alcoholic etiology. *Perm medical journal.* T. XXVI. № 1. P. 88-92. (in Russian)
13. Boiko, V., Klymova, O. M., Vasylovska, S. V., Sushkov, S. V., Kordon. T. I., Shakina, L. O. (2008) Ukrainian Patents № 37688 А 61К 45/00, №23. Method for treatment of patients with the hepatocirrhosis and prevention of its complications. (in Ukrainian)
14. Bolognesi, M. Merkel, C., Sacerdoti, C. D. (2002). Role of spleen enlargement in cirrhosis with portal hypertension. *Dig Liver Dis.* 34(2). P.144 – 150.
15. Homann, C., Varming, K., Høgåsen, K., Mollnes, T. E., Graudal, N. Thomsen, A. C., Homann C. (1997). Acquired C3 deficiency in patients with alcoholic cirrhosis predisposes to infection and increased mortality. *Gut.* 40. P. 544–549.
16. Liangpunsakul, S., Ulmer, B J., Chalasani, N. Liangpunsakul, S. (2003). Predictors and implications of severe hypersplenism in patients with cirrhosis. *Am J Med Sci.* 326(3). P.111 – 116.

DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS AND CORRECTION OF METABOLIC AND IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN PATIENTS WITH HEPATIC CIRRHOSIS, COMPLICATED HEPATOSPLENOMEGALIA AND PORTAL HYPERTENSION

Klimova Olena, Kordon Tetiana, Smachylo Rostyslav, Belozorov Igor, Bychenko Ekaterina, Merezko Olga, Kudrevych Oleksandr

Mail for correspondence: klimovalena53@gmail.com

Summary: *The study of the role of the spleen in the pathogenesis of liver cirrhosis is important for treatment. Currently available literature data indicate the role of altered spleen functions in the pathogenesis of liver cirrhosis. The aim of this study was to clarify the features of the etiology and pathogenetic disorders in patients with hepatosplenomegaly. Materials and methods. We investigated the uniform elements of blood and blood serum from 58 patients with hepatosplenomegaly amid cirrhosis, portal hypertension complicated. Patients were divided into two groups depending on the antigenic load: I - patients with liver cirrhosis against the background of hepatitis viruses HBV/HCV and II - patients with autoimmune hepatitis against the background of herpes viruses CMV/VEB. Treatment of patients included the use of antiherpetic immunoglobulins and hematopoietic cord blood progenitor cells. Results. In patients of group I was detected an increase in the spontaneous oxidative activity of neutrophils and depletion of the oxidative reserve in oxygen-dependent phagocytosis. It activated the signaling pathways of pro-inflammatory cytokines IL-6 (an increase of 60 times). We found an increased content of CD22+ -plasma B-lymphocyte that elevated synthesized concentrations of IgA. In patients of group II were found an increase in the activity of C3 and a decrease in the C4-components of complement; thrombocytopenia due to the presence of platelet autoantibodies; increased synthesis of immunoglobulins IgM, IgG, increased synthesis of IFN- γ . All patients showed disturbances in the metabolism of amino acids in various metabolic cycles - ornithine, which disrupted the formation of urea and indicates the accumulation of ammonia, which can enhance the cytotoxic effect in group I; methionine with a violation of the formation of cystine from cysteine and the accumulation of homocysteine, which enhances the synthesis of IFN- γ , which was increased in group II by 4 times. Conclusions. Some etiological and pathogenetic features of the formation of liver cirrhosis complicated by portal hypertension and recurrent bleeding from varicose veins of the esophagus were revealed. The immunological and metabolic changes verified by us correlated with the disappearance of the clinical manifestations of the disease, improved well-being, and the absence of recurrence of bleeding.*

Key words: viral persistence, hepatosplenomegaly, portal hypertension, cirrhosis, autoimmune hepatitis, recurrent bleeding, immunity

Information about author

Klimova Olena, Head of Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V. T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Balakireva vyizd, 1, Kharkiv, 61103,
<https://orcid.org/0000-0002-4007-6806>

Kordon Tetiana, s.r. Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V. T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Balakireva vyizd, 1, Kharkiv, 61103
kordontatiana@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-5813-3656>

Smachylo Rostyslav, MD, PhD, Full Professor, Head of the Surgery Department of the Liver and Bile Ducts, V. T. Zaytsev Institute of General and

Urgent Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, professor of Department of Surgery N1 of Kharkiv National Medical University, Balakireva vyizd, 1, Kharkiv, 61103, Ukraine, Science Avenue, 4, Kharkiv, Ukraine, 61103, rosmachylo@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-1237-0255>

Belozorov Igor, MD, PhD, Full Professor, Dean of the School of Medicine of V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody sq., Kharkiv, Ukraine, 61022 med@karazin.ua,
<https://orcid.org/0000-0002-4102-3220>

Bychenko Ekaterina, r, Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V. T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine», Balakireva vyizd, 1, Kharkiv, Ukraine, 61103

bichenko.katya@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7885-7715>

Merezko Olga, r. Diagnostic laboratory with immunoenzym and immunofluorescence analysis of State institution «Zaycev V.T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine»,

Balakireva vyizd, 1, Kharkiv, 61103
olushka7791@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-9855-1780>

Kudrevych Oleksandr, MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Surgical Diseases, Operative Surgery and Topographic Anatomy of V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody sq. 4, Kharkiv, Ukraine, 61022

o.m.kudrevych@karazin.ua,

<https://orcid.org/0000-0002-2086-8822>

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА И КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ, ОСЛОЖНЕННЫМ ГЕПАТОСПЛЕНОМЕГАЛИЕЙ И ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

*Климова Е. М., Кордон Т. И., Смачило Р. М., Белозеров И. В.,
Биченко К. О., Мережко О. С., Кудревич А. Н.*

Почта для переписки: klimovalena53@gmail.com

Резюме: Исследование роли селезенки в патогенезе цирроза печени имеет важное значение для лечения. Имеющиеся на сегодняшний день данные литературы свидетельствуют о роли измененных функций селезенки в патогенезе цирроза печени. Целью данной работы было выяснить особенности этиологии и патогенетических нарушений у пациентов с гепатоспленомегалией. Материалы и методы. Исследовали форменные элементы и сыворотку крови 58 пациентов с гепатоспленомегалией на фоне цирроза печени, осложненного портальной гипертензией. В зависимости от антигенного груза больные были разделены на две группы: I - больные с циррозом печени на фоне вирусов гепатита HBV/HCV и II - больные с аутоиммунным гепатитом на фоне герпетических вирусов CMV/VEB. Для лечения больных использовали противогерпетические иммуноглобулины и гемопоэтические клетки-предшественники кордовой крови. У пациентов группы I обнаружили усиление спонтанной окислительной активности нейтрофилов и истощения окислительного резерва в кислородзависимом фагоцитозе, что активировало сигнальные пути провоспалительных цитокинов ИЛ-6 (повышение в 60 раз). Обнаружили увеличенное содержание CD22+-плазматических В-лимфоцитов, которые синтезировали повышенные концентрации IgA. У пациентов группы II обнаружили повышение активности С3- и снижение С4-компонентов комплемента; тромбоцитопения за счет наличия аутоантител к тромбоцитам; усиление синтеза иммуноглобулинов IgM, IgG, повышение синтеза ИФН- γ . У всех пациентов выявили нарушения обмена аминокислот в различных метаболических циклах - орнитинового, что нарушало образования мочевины и свидетельствует о накоплении аммиака, который может усиливать цитотоксический эффект в группе I; метиониновых с нарушением образования цистина из цистеина и накопление гомоцистеина, что усиливает синтез ИФН- γ , который был повышен в группе II в 4 раза. Выявлены некоторые этиологические и патогенетические особенности формирования цирроза печени, осложненного портальной гипертензией и рецидивирующими кровотечениями из варикозно-расширенных вен пищевода. Верифицированные нами иммунологические и метаболические изменения коррелировали с исчезновением клинических проявлений заболевания, улучшением самочувствия, отсутствием рецидивов кровотечения.

Ключевые слова: вирусная персистенция, гепатоспленомегалия, портальная гипертензия, цирроз печени, аутоиммунный гепатит, рецидивирующие кровотечения, иммунитет

Информация об авторах

Климова Елена Михайловна, зав. диагностической лаборатории «ГУ ИОНХ им. В.Т. Зайцева» НАМН Украины», въезд Балакирева, 1, Харьков, 61003

klimovalena53@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-4007-6806>

Кордон Татьяна Ивановна, старш. науч. сотр. диагностической лаборатории «ГУ ИОНХ им. В. Т. Зайцева» НАМН Украины» въезд Балакирева, 1, Харьков, 61003

kordontatiana@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-5813-3656>

Смачило Ростислав Михайлович, д. мед. н., профессор, заведующий отделением хирургии печени и желчевыводящих путей, «ГУ ИОНХ

им. В.Т. Зайцева» НАМН Украины» въезд Балакирева, 1, Харьков, 61003;

профессор кафедры хирургии №1 Харьковского национального медицинского университета проспект Науки, 4, Харьков, 61022

rosmachylo@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-1237-0255>

Белозеров Игорь Викторович, д. мед. н. профессор, декан медицинского факультета Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022

med@karazin.ua

<https://orcid.org/0000-0002-4102-3220>

Биченко Екатерина Алексеевна, м.н.с. диагностической лаборатории «ДУ ИОНХ им. В. Т. Зайцева НАМН

Украины», въезд Балакирева, 1, Харьков, 61003

bichenko.katya@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7885-7715>

Мережко Ольга Сергеевна, мл. науч. сотр. диагностической лаборатории «ДУ ИОНХ

им. В. Т. Зайцева НАМН Украины»

въезд Балакирева, 1, Харьков, 61003

olushka7791@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-9855-1780>

Кудревич Александр Николаевич, к. мед. н., доцент, зав. кафедрой хирургических болезней, оперативной хирургии и топографической анатомии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина, 61022 м. Харьков, пл. Свободы, 4,

o.m.kudrevych@karazin.ua,

<https://orcid.org/0000-0002-2086-8822>

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Конфликт интересов: отсутствует.