

СПОНТАННИЙ АПОПТОЗ ЛІМФОЦИТІВ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ІЗ КОМОРБІДНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ

Ю. І. Фещенко^{A,C,F}, Л. М. Курик^{*C,D,E}, О. І. Криlach^B, І. П. Турчина^B,
О. А. Канарський^B

¹Державна установа «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», 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

Резюме. Метою даної роботи, виконаної за кошти державного бюджету України, було вивчити особливості спонтанного апоптозу лімфоцитів периферичної крові у хворих на бронхіальну астму (БА) із коморбідною патологією органів травлення (ПОТ).

Матеріали та методи дослідження. Проведено аналіз архівних даних 56 хворих на БА із розподілом на дві групи: в першу групу увійшли результати досліджень 28 хворих на БА із ПОТ в другу групу — дані 28 хворих без коморбідної ПОТ. В контрольну групу відібрано результати обстеження 11 волонтерів — осіб без клінічних ознак інфекційної та соматичної патології (умовно здорових). Визначення спонтанного апоптозу лімфоцитів проводилось методом проточної цитофлюориметрії після їх фарбування анексином 5 (An-5), кон'югованим із флуоресцеїн ізотіоціанатом (FITC).

Результати. Результати аналізу проведених досліджень підтвердили негативний вплив коморбідної ПОТ на спонтанний апоптоз лімфоцитів у хворих на БА. У групі пацієнтів із коморбідною ПОТ відзначалося виразне (на 85,5 %) зниження кількості лімфоцитів (Лф) з ознаками раннього та на 80,5 % пізнього апоптозу Лф ($p < 0,05$), яке мало місце у переважній більшості пацієнтів. У групі пацієнтів з БА без ПОТ відхилень середніх значень цього показника від референтних не відбувалося, а частота зниження апоптозу Лф не перевищувала референтні значення. Відсутність посилення спонтанного апоптозу Лф або його пригнічення у пацієнтів з БА сприяє пролонгації життя цих клітин, персистенції запалення через звільнення їх прозапального вмісту та зниженню репаративних процесів.

Отже, подовжене виживання Лф може сприяти персистенції та прогресуванню запалення дихальних шляхів при БА. Тому взаємозв'язок БА та ПОТ потребує подальших комплексних досліджень імунологічних механізмів, які пов'язують дані захворювання та здатні обтяжувати перебіг даної констеляції, а вивчення ролі апоптозу при коморбідній патології у хворих на БА дозволить не лише впливати на контрольованість перебігу захворювання, а і розробляти цілеспрямовані ефективні терапевтичні програми для пацієнтів.

Ключові слова: бронхіальна астма, коморбідна патологія, спонтанний апоптоз, лімфоцити.

Відповідно до тверджень ВООЗ, у всьому світі на бронхіальну астму (БА) страждає понад 339 мільйонів осіб [1]. БА — це гетерогенне захворювання, що характеризується хронічним запаленням дихальних шляхів, наявністю респіраторних симптомів, таких як свистячі хрипи, задишка, закладеність у грудях і кашель, які варіюють за часом і інтенсивністю, і виявляються разом із варіабельною обструкцією дихальних шляхів [2]. Важливим також є той

факт, що коморбідна патологія, в тому числі гастроентерологічна зустрічається у пацієнтів з БА значно частіше у порівнянні із популяцією в цілому [3].

Значна кількість гастроентерологічних захворювань людини пов'язана як з активацією, так і з пригніченням процесів апоптозу у різних відділах шлунково-кишкового тракту (у шлунці, тонкому кишечнику, печінці, тощо) [4]. Посилення апоптозу може бути зумовлене прямим впливом інфікуючих агентів (наприклад, вірусу гепатиту А, *Helicobacter pylori*), опосередковане імунною системою (хронічні вірусні ураження печінки, спричинені вірусами

гепатитів В та С, неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона), токсичною дією медикаментів (кортикостероїди, імунодепресант циклоспорин А, який використовують для запобігання посттрансплантаційних ускладнень, цитостатики), хімічних речовин (азиди, перекисні сполуки, вільні радикали), іонізуючого випромінювання, нестачею трофічних факторів (глюкоза, амінокислоти метіонін та глутамін, вітамін Е, фолієва та пангамова кислоти, S-метилметіонін, кобаламін) [5].

У низки інших гастроентерологічних захворювань апоптоз клітин, навпаки, не посилюється, а послаблюється. Такий антиапоптозний ефект характерний, зокрема, для так званих онкогенних вірусів (вірус Епштейна-Барра, цитомегаловірус, віруси герпесу, папіломи людини, папо- та аденовіруси). Ці віруси, втручаючись у механізми апоптозу, або блокують розвиток цього типу загибелі клітин через інактивацію проапоптозних факторів, або активують шляхи виживання клітин [6].

Helicobacter pylori є етіологічним чинником пептичної виразки шлунка і 12-палої кишки, а також викликає біля 90,0 % випадків хронічного гастриту. Цей мікроорганізм здатний безпосередньо стимулювати апоптоз оточуючих епітеліоцитів слизової оболонки шлунка, сприяючи її атрофії [7]. Для хронічних гастритів характерними є прискорення оновлення клітин, внаслідок чого новоутворені епітеліоцити не встигають пройти повну диференціацію, а місце зрілих спеціалізованих клітин займають молоді клітини, не здатні виробляти соляну кислоту та пепсиноген [8].

Ймовірно посилена загибель клітин спричиняє прискорення їх новоутворення (т. зв. «негативний зворотній зв'язок»); до того ж, сама посилена проліферація активує апоптоз, що створює замкнене коло. При тривалому переважанні процесів апоптозу над проліферацією розвивається атрофія слизової оболонки із ознаками атрофічного гастриту, а значна швидко розвинута перевага таких процесів свідчить про утворення ерозії або виразки. Якщо ж домінуючими стають процеси проліферації, це спричиняє гіпертрофію слизової оболонки шлунка із симптомами гіпертрофічного гастриту. До того ж, оскільки посилення процесів проліферації за певних умов може спричинити злоякісне переродження клітин і виникнення новоутворень, гіпертрофічний гастрит вважають передраковим станом [9].

У захворюваннях легень патогенетичним фактором може бути як посилення, так і послаблення

апоптозу. Недостатність видалення пошкоджених клітин шляхом апоптозу пролонгує запалення через звільнення токсичного вмісту цих клітин і знижує репаративні процеси. За нормального рівня апоптозу клітини з його ознаками надалі швидко впізнаються і поглинаються макрофагами чи сусідніми клітинами, що унеможливає звільнення їх шкідливих компонентів та запобігає розвитку загибелі клітин шляхом некрозу. Зростання рівня апоптозу також спричиняє патологічні стани — наприклад, інтра-трахеальний вплив Fas-L індукує гостре пошкодження епітелію альвеол та розвиток запалення легень [10]. Окрім рецепторів та лігандів смерті, в патофізіологію захворювань органів дихання включаються й інші проапоптозні чинники: ROS, O₂, прозапальні цитокіни, тощо.

Здатність епітеліальних та ендотеліальних клітин легень до виживання, а також доля клітин, збільшення вмісту яких характерне для запалення, можуть модулювати прогноз щодо перебігу хвороби [11].

За умов розвитку БА, навпаки, спостерігають зниження процесів апоптозу. Це захворювання у переважній більшості пацієнтів характеризується алергійним запаленням дихальних шляхів, їх обструкцією, акумуляцією еозинофілів та лімфоцитів (Лф) у бронхіальному слизу через знижений рівень апоптозу цих клітин, що пролонгує алергійне запалення та є критичним у патофізіології астми. Кортикостероїди, що найчастіше застосовуються з метою лікування БА, знижують тривалість життя еозинофілів та Лф шляхом індукції їх апоптозу [12–14].

На сьогодні проведені нечисленні дослідження із вивчення зв'язку БА та патології органів травлення (ПОТ), а опубліковані результати свідчать про те, що ПОТ може відігравати роль певного предиктора обтяження БА [15, 16]. Однією із можливих причин обтяження перебігу БА на фоні коморбідної ПОТ може бути стимуляція надпродукції інгібіторів апоптозу Лф, що може сприяти зниженню і так низького апоптозу Лф та персистуванню запалення із виникненням «замкненого кола» у системі саморегуляції відновлення клітин [17–20].

Інтерес до апоптозу при БА обумовлений перш за все тим, що цей процес тісно пов'язаний із регуляцією імунної відповіді, розвитком імунодефіцитних станів, які мають патогенетичне значення при даному захворюванні. Крім того, фактори, що гальмують та індукують апоптоз, є ключовими у патогенезі БА (інтерлейкіни, інтерферони, глюкокортикостероїди, екстраклітинний матрикс) [21].

Апоптоз — це активна форма гибелі клітини, що є результатом реалізації її генетичної програми і потребує затрат енергії і синтезу білка. Морфологічно він проявляється зменшенням розмірів клітини, конденсацією та фрагментацією хроматину з подальшим розпадом клітини на оточені мембраною апоптичні тільця. У розвитку апоптозу виділяють 3 етапи: етап індукції, яка може бути викликана внутрішніми (пошкодження ДНК) чи зовнішніми (фактор некрозу пухлин, глюкокортикоїди, Fas-ліганд) факторами; етап передачі сигналу до розвитку апоптозу і ефекторний етап — деградація ДНК, зміна мембран і фрагментація клітини. Основна роль апоптозу полягає у підтриманні постійної кількості клітин, співвідношення різних клітинних субпопуляцій та елімінації дефектних клітин [22, 23]. Втрата здатності Лф у хворих на БА до апоптозу багатьма дослідниками вважається одним з основних патогенетичних імунологічних механізмів дезадаптації, який сприяє концентрації мононуклеарних клітин в зоні алергічного запалення, у том числі й Лф. Саме тому дослідженням особливостей апоптозу Лф та його механізмів у хворих з різними варіантами БА у минулі 2 десятиріччя було присвячено чимало робіт. Але їх результати досить суперечливі [24–33].

Таким чином, для повного розуміння цих механізмів все ще необхідно провести багато досліджень, що безумовно, буде корисним для удосконалення стратегії лікування пацієнтів з БА. Даних відносно стану цитоплазматичних мембран лейкоцитів, їх життєздатності, різновидів та стадій клітинної смерті лейкоцитів крові (переважання некрозу чи апоптозу) у хворих на БА із коморбідною ПОТ немає, що і визначило мету дослідження — оцінити стан цитоплазматичних мембран лейкоцитів та їхню життєздатність, визначити різновиди та стадії клітинної смерті лейкоцитів крові у хворих на бронхіальну астму із коморбідною патологією органів травлення. Робота виконана за кошти державного бюджету України.

Матеріали та методи досліджень

Було проаналізовано архівні дані комплексно-го клініко-імунологічного обстеження 56 хворих на БА, які перебували на лікуванні в ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України». Тяжкість та контрольованість БА оцінювали за рекомендаціями GINA 2014, 2022, за даними опитувальників

АСТ та АСQ-5, показниками функції зовнішнього дихання (ОФV₁), частотою загострень БА та госпіталізацій з цього приводу за попередній рік, потребою у β_2 -агоністах короткої дії, обсягом терапії, що проводилася, тощо [1, 2, 34]. В групу хворих на БА без коморбідної ПОТ було включено 28 осіб, у т. ч. 14 (50,0 %) чоловіків та 14 жінок (50,0 %) (табл. 1).

Більшість пацієнтів були працездатного віку: десять (35,7 %) — у віці 30-50 років і вісімнадцять (64,3 %) — віком від 51 до 70 років. Середній вік пацієнтів складав (43,3 ± 3,2) років. Тяжкий перебіг БА визначено у 12 (42,9 %) пацієнтів, а у 16 хворих (57,1 %) встановлена БА середньої тяжкості. У групу хворих із коморбідною ПОТ було включено 28 пацієнтів із БА, у т. ч. 12 чоловіків та (42,9 %) та 16 жінок (57,1 %) у віці 30–50 років, а середній вік пацієнтів складав (41,6 ± 3,8) років (p < 0,05). У цій групі БА середньої тяжкості діагностовано у 13 пацієнтів (46,4 %), а решта — 15 (53,6 %) хворих мали тяжкий перебіг захворювання. Контрольну групу було сформовано з 11 волонтерів — осіб без клінічних ознак інфекційної та соматичної патології (умовно здорових). Розподіл їх за статтю та віком також представлений у табл. 1.

Визначення апоптозу Лф проводили шляхом інкубації цільної гепаринізованої крові у поживному середовищі RPMI 1640 з L-глутаміном, HEPES (Gibco™) і гентаміцином (KRKA, Словенія) без будь-яких додаткових речовин. Для цього по 500 мкл цільної гепаринізованої крові вміщували у пластикові пробірки ємністю 1,5-2,0 мл, додавали 500 мкл повного поживного середовища RPMI (з L-глутаміном, HEPES і 1 % гентаміцину). Пробірки щільно закривали пробками та проводили їх інкубацію протягом 48 годин при температурі 38° С. По завершенні інкубації проби центрифугували 10 хвилин при 100 g і температурі 4° С, відмивали льодяним поживним середовищем та тримали пробірки в ємності із льодом.

Після цього для виявлення відсотку апоптичних Лф проводили їх фарбування люмінесцентними фарбниками [16, 17]: анексіном 5 (An-5), кон'югованим із флуоресцеїн ізотіоціанатом (FITC), для визначення відносного вмісту Лф з ранніми ознаками апоптозу та 7-аміно-актіноміцином-D (7-Amino Actinomycin D — 7AAD) для визначення відносного вмісту Лф з пізніми ознаками апоптозу. Для цього супернатант видаляли, з верхнього шару осаду відби-



Рисунок 1. Зміна ультраструктури клітин тварин при некрозі й апоптозі (за В. Д. Самуїловим, 2000) [37].

Примітки: 1 — нормальна клітина; 2 — апоптичне зморщування клітини з утворенням міхурцевих виростів; 3 — фрагментація клітини з утворенням апоптозних везикул.

рали 100 мкл та ресуспендували його в 200 мкл зв'язуючого буфера, розведеного у 10 разів. Після цього 50 мкл розведеної буфером крові переносили у пробірки для проточного цитофлюориметра, додавали 5 мкл An-5-FITC та 10 мкл 7AAD, проводили їх інкубацію 15 хвилин у холодильнику в ємності з льодом, після чого додавали 200 мкл зв'язуючого буфера, витримували 10 хвилин у холодильнику в ємності з льодом, лізували 2 мл стандартного лізуючого розчину 15 хвилин в темряві та проводили проточну цитофлюориметрію проб. У кожній пробі визначали відсоток Лф з ранніми ознаками апоптозу (A5+/7AAD- Лф), з ранніми та пізніми ознаками апоптозу (A5+/7AAD+ Лф) і пізніми ознаками апоптозу (A5-/7AAD+ Лф). Визначали сумарний показник (A5+ усі Лф) + (7AAD+ усі Лф) — спонтанного апоптозу Лф, розраховували частоту та виразність його змін (підвищення/зниження), спів-

відношення Лф з ознаками раннього (A5+ усі Лф) та пізнього апоптозу (7AAD+ усі Лф), а також питому кількість Лф з ранніми та пізніми ознаками апоптозу серед усіх апоптичних Лф та їхнє співвідношення [35].

Ознаки апоптозу клітини наведені на рис. 1 [31]: а) клітинна мембрана при цьому залишається збереженою; б) мембрана мітохондрій не пошкоджується, проте окисновідновні процеси порушуються в цілому за рахунок блокування мітохондріального комплексу; в) від мембрани клітини відщеплюються невеликі везикули, які наповнені вмістом цитоплазми (мітохондрії, рибосоми та ін.), оточені мембранним ліпідним бішаром — так звані апоптозні тільця; д) ядро зморщується на останніх стадіях процесу, хроматин частково конденсується, що вказує на збереження активності низки ділянок ДНК. Елементи, що залишилися від клітини, фагоцитуються тканинними макрофагами (рис. 2) без розвитку реакції запалення і формування сполучної тканини.

Отже, апоптоз має свої відмінні морфологічні та біохімічні ознаки. У результаті його збільшується синтез протеаз, які починають поступово розщеплювати внутрішньоклітинні структури.

Цифровий матеріал у кожній окремій вибірці був перевірений на нормальне розподілення величин. Для перевірки нормальності розподілу даних використовували методику Лапач С. Н. та ін. (2001) (функція NORMSAMP-1, яка вбудовується в середовище Excel). За отриманими результатами визначали вибір методу подальшої статистичної обробки даних для підтвердження вірогід-



Рисунок 2. Поглинання апоптозної клітини лейкоцитом; добре помітні «апоптозні тільця», що відщеплюються від клітини, що гине (Matessier E. 2004) [38].

ності результатів. Для оцінки достовірності відмінностей середніх значень показників у вибірках із нормальним розподілом використовували двохсторонній *t* — критерій Ст'юдента (для залежних та незалежних вибірок). За рівень вірогідності приймалося значення показника вірогідності (*p*) між групами, яке дорівнювало, або було меншим за 0,05; *n* — кількість одиниць досліджуваної ознаки та похибка середньої величини ($M \pm m$). При відсутності нормальності розподілу для обчислювання вірогідності різниці середніх показників застосовувався двовибірковий критерій Уїлкоксона, оцінка якого проводилась шляхом їх порівняння з максимальним та мінімальним критеріальними значеннями. При аналізі індивідуальних змін досліджуваних показників було

застосовано метод альтернативного варіювання [36]. Результати досліджень зберігалися на паперовому та електронному носіях. Статистична обробка отриманих результатів здійснювалась методами параметричної описової статистики з використанням статистичного пакету StatGraphics Plus 5.1.

Результати та їх обговорення

В результаті аналізу даних хворих на БА без коморбідної ПОТ встановлено відсутність достовірних змін порівняно із здоровими у середній кількості Лф з ранніми ознаками апоптозу (A5+/7AAD– Лф), середній кількості Лф з ранніми та пізніми (A5+/7AAD+ Лф) та пізніми (A5–/7AAD+ Лф) ознаками апоптозу. Відповідні дані наведені в таблиці 2.

Таблиця 1. Розподіл хворих на бронхіальну астму з/без коморбідної патології органів травлення за статтю та віком

Групи обстежених		Стать			Вік				всього
		чоловіки	жінки	всього	до 30	31–50	51–70	>70	
Контрольна	n	3	8	11	1	8	2	0	11
	%	27,3	72,7*	100,0	9,1	72,7°	18,2°	0,0 ^π	100,0
БА без коморбідної ПОТ	n	14	14	28	0	10	18	0	28
	%	50,0	50,0	100,0	0	35,7	64,3	0	100,0
БА з коморбідною ПОТ	n	12	16	28	0	12	16	0	28
	%	42,9	57,1	100,0	0	42,9	57,1	0	100,0
Всього	n	29	34	56	1	30	36	0	67
	%	39,3	67,9*	100,0	1,5	44,8	53,7	0	100,0

Примітки: * — гендерні відмінності статистично підтверджено ($p < 0,05$); ° — різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком до 30 років статистично підтверджено ($p < 0,05$); π — різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком 31-50 років статистично підтверджено ($p < 0,05$); ° — різницю показника у порівнянні з показником контрольної групи статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з показником групи хворих на БА без коморбідної ПОТ статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Показники спонтанного апоптозу лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму з та без коморбідної патології органів травлення

Показники спонтанного апоптозу Лф (%)	Групи обстежених		
	Здорові (n = 11)	Хворі на БА	
		без коморбідної ПОТ (n = 28)	з коморбідною ПОТ (n = 28)
	M ± m (%)	M ± m (%)	M ± m (%)
A5+/7AAD– Лф	25,7 ± 1,8	17,8 ± 1,5	2,3 ± 0,2**
A5+/7AAD+ Лф	21,4 ± 1,3	18,2 ± 1,7	3,6 ± 0,8**
A5–/7AAD+ Лф	27,3 ± 3,5	20,7 ± 5,8	5,0 ± 2,4**
A5+ усі Лф	20,2 ± 2,1	25,0 ± 4,5	2,9 ± 1,4**
7AAD+ усі Лф	27,3 ± 3,3	21,9 ± 4,2	7,1 ± 2,4**
(A5+ усі) + (7AAD+ усі) Лф	19,1 ± 2,1	28,6 ± 7,2	4,3 ± 1,2*#
Неушкоджені Лф	79,5 ± 3,8	75,3 ± 3,6	48,4 ± 2,1**

Примітки: A5+/7AAD–Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; A5–/7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; A5+/7AAD+ Лф — лімфоцити з ранніми та пізніми ознаками апоптозу; A5+ усі Лф — усі лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ усі Лф — усі лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; (A5+ усі) + (7AAD+ усі) Лф — усі лімфоцити з ознаками апоптозу; * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$); # — різницю показника у порівнянні з показником групи з БА без коморбідної патології органів травлення статистично підтверджено ($p < 0,05$).

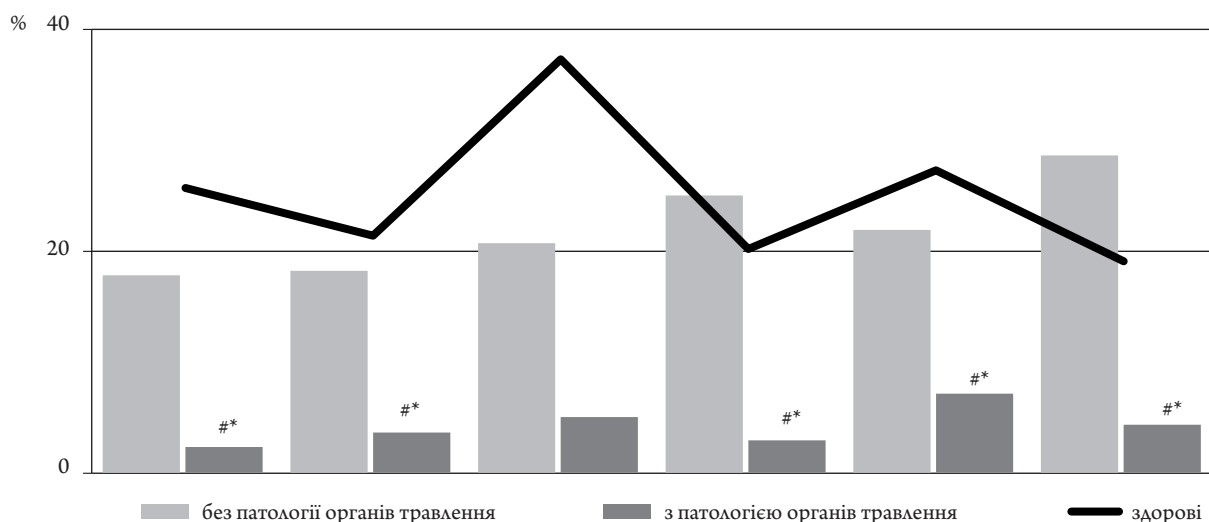


Рисунок 3. Частота підвищення спонтанного апоптозу лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму з/без коморбідної патології органів травлення.

Примітки: A5+/7AAD- Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; A5+/7AAD+ Лф — лімфоцити з ранніми та пізніми ознаками апоптозу; A5-/7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; A5+ усі Лф — усі лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ усі Лф — усі лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; (A5+ усі Лф) + (7AAD+ усі Лф) — лімфоцити з ознаками апоптозу; # — різницю показника у порівнянні з показником групи БА без коморбідної патології статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Але зовсім інша картина спостерігалася у показниках групи хворих на БА із коморбідною ПОТ, а саме: достовірно зниженими і відносно результатів здорових, і групи хворих на БА без ПОТ було в

середній кількості Лф з ранніми, з пізніми, із обома одночасно, із сумарними ознаками апоптозу, що корелювало із часткою неушкоджених Лф крові — ($48,4 \pm 2,1$) % проти ($75,3 \pm 3,6$) % при БА без

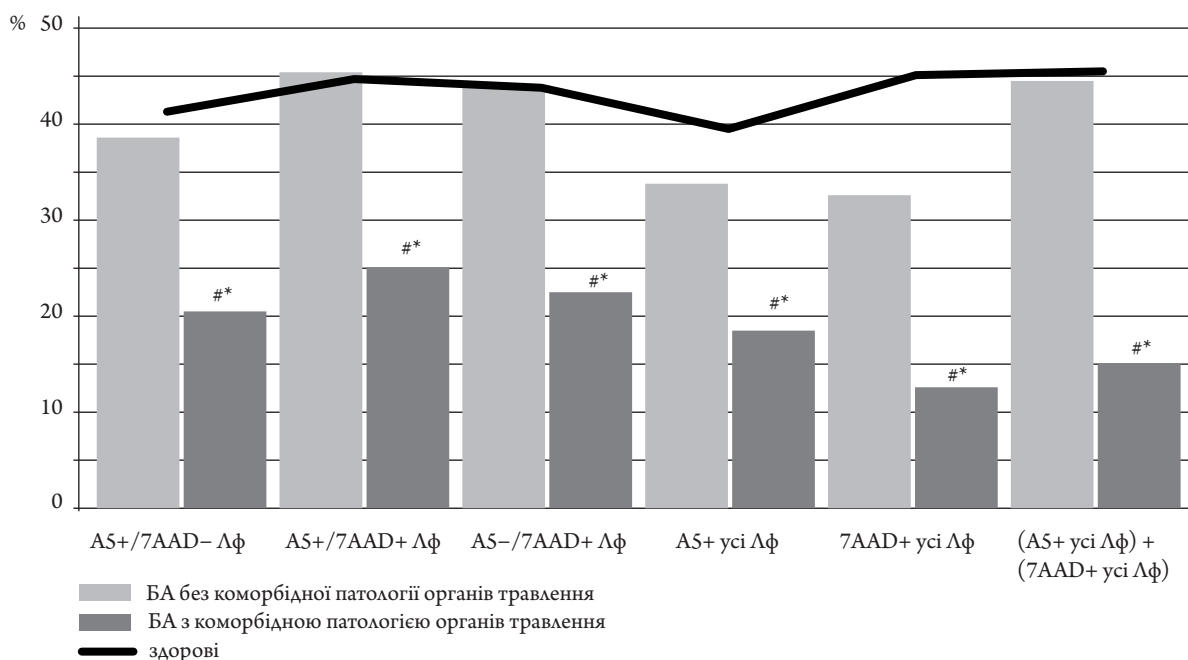


Рисунок 4. Частота зниження спонтанного апоптозу лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму з/без коморбідною патологією органів травлення.

Примітки: A5+/7AAD- Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; A5+/7AAD+ Лф — лімфоцити з ранніми та пізніми ознаками апоптозу; A5-/7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; A5+ усі Лф — усі лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ усі Лф — усі лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; (A5+ усі Лф) + (7AAD+ усі Лф) — лімфоцити з ознаками апоптозу; # — різницю показника у порівнянні з показником групи БА без коморбідної патології статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$).

коморбідної ПОТ (на 20,2 % менше), в контрольній групі — (79,5 ± 3,8) %.

Аналіз індивідуальних змін показників спонтанного апоптозу Лф підтвердив представлені вище дані. Лише у (17,8 ± 1,5) % хворих на БА без ПОТ Лф мали ранні ознаки апоптозу, (18,2 ± 1,6) % — пізні, а одночасно обидві ознаки — у (20,7 ± 1,4) % пацієнтів (рис. 3). У хворих на БА із ПОТ знижувалось число Лф із ознаками ранньої стадії апоптозу (2,3 ± 0,2) %, проти (25,7 ± 1,8) % контрольної групи та (17,8 ± 1,5) % у групі БА без ПОТ, так і Лф із ознаками пізньої стадії апоптозу — (3,6 ± 0,8) % проти (21,4 ± 1,3) % здорової групи та (18,2 ± 1,7) % групи БА без ПОТ, що вказувало на зниження активного лейкоцитарного пулу у хворих на БА із супутньою ПОТ.

Відсоток хворих на БА без ПОТ з ознаками раннього, пізнього, одночасно обох ознак апоптозу Лф був однаковим із групою здорових (рис. 4). Усього лише у (20,5 ± 1,2) % осіб з БА із коморбідною ПОТ визначались ранні ознаки апоптозу Лф, що достовірно менше у порівнянні із здоровими та хворими на БА без ПОТ — (38,6 ± 1,9) % та (41,3 ± 2,5) % ($p < 0,05$). Пізні ознаки апоптозу Лф визначались тільки у (25,1 ± 1,4) % хворих на БА із ПОТ у порівнянні із (45,4 ± 2,3) % хворих на БА без ПОТ та (44,7 ± 2,1) % здорових ($p < 0,05$). Так

само, лише у (22,5 ± 1,8) % хворих на БА із ПОТ проти (43,8 ± 2,5) % хворих без ПОТ та (55,6 ± 2,8) % групи здорових у Лф периферичної крові були присутні одночасно обидві ознаки

Виразність підвищення числа Лф із ранніми ознаками спонтанного апоптозу була найменшою в групі БА із ПОТ — на 5,0 % ($p < 0,05$) у 65,0 % хворих, найбільшою у групі БА без ПОТ та здорових: на 35,0 % у 85,5 % хворих та на 47,8 % у 90,0 % здорових обстежених відповідно (рис. 5). Найменш виразним зростання Лф із пізніми ознаками спонтанного апоптозу було в групі БА із ПОТ — на 11,5 % у 50,0 % хворих ($p < 0,05$), найвищим у осіб з БА без ПОТ та здорових: на 55,5 % у 90,0 % хворих та 64,1 % у 80,0 % здорових обстежених. Невиразним було зростання Лф одночасно із ранніми та пізніми ознаками апоптозу в групі хворих на БА із ПОТ — на 15,0 % у 50,0 % ($p < 0,05$), найкращим — на 45,6 % у 85,0 % хворих без ПОТ (на 65,5 % у 90,0 % здорових осіб). Виразним було зростання усіх Лф із ознаками апоптозу в групі осіб з БА без ПОТ (на 35,5 % у 90,0 % хворих), невиразним — на 12,0 % у 50,0 % хворих на БА з ПОТ.

Виразним було у групі осіб з БА із ПОТ зниження числа Лф із ознаками раннього апоптозу: на 85,5 % ($p < 0,05$) у 91,7 % обстежених, у хворих на

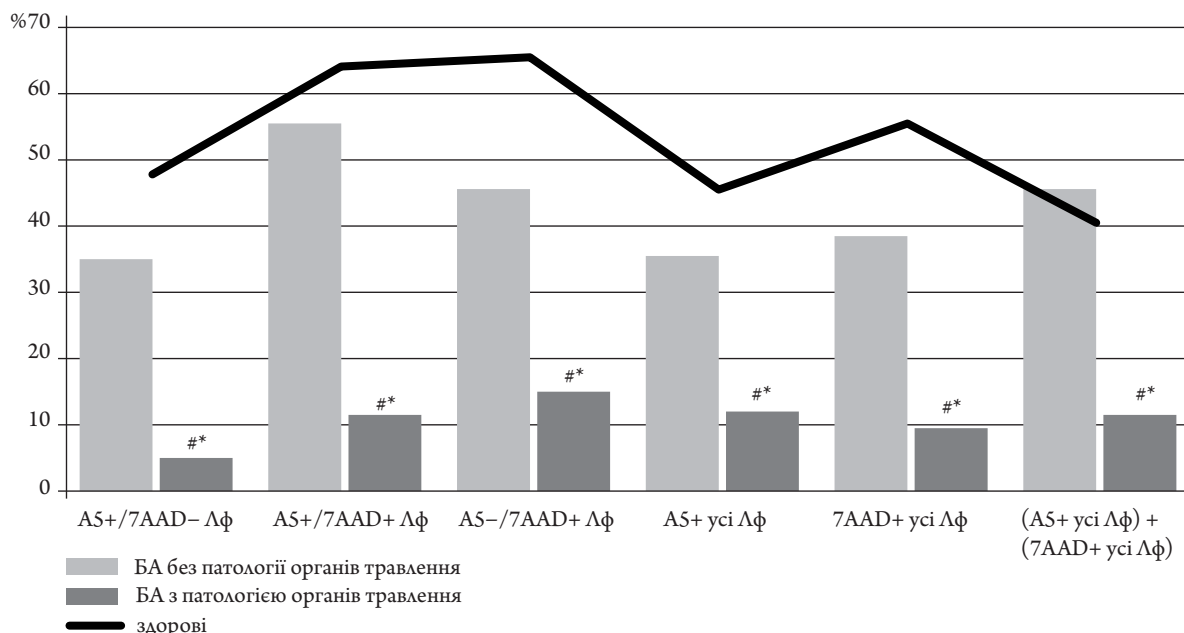


Рисунок 5. Виразність підвищення спонтанного апоптозу лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму з/без коморбідної патології органів травлення.

Примітки: AS+/7AAD- Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; AS+/7AAD+ Лф — лімфоцити з ранніми та пізніми ознаками апоптозу; AS-/7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; AS+ усі Лф — усі лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ усі Лф — усі лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; (AS+ усі Лф) + (7AAD+ усі Лф) — лімфоцити з ознаками апоптозу; # — різницю показника у порівнянні з показником групи БА без коморбідної патології статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$).

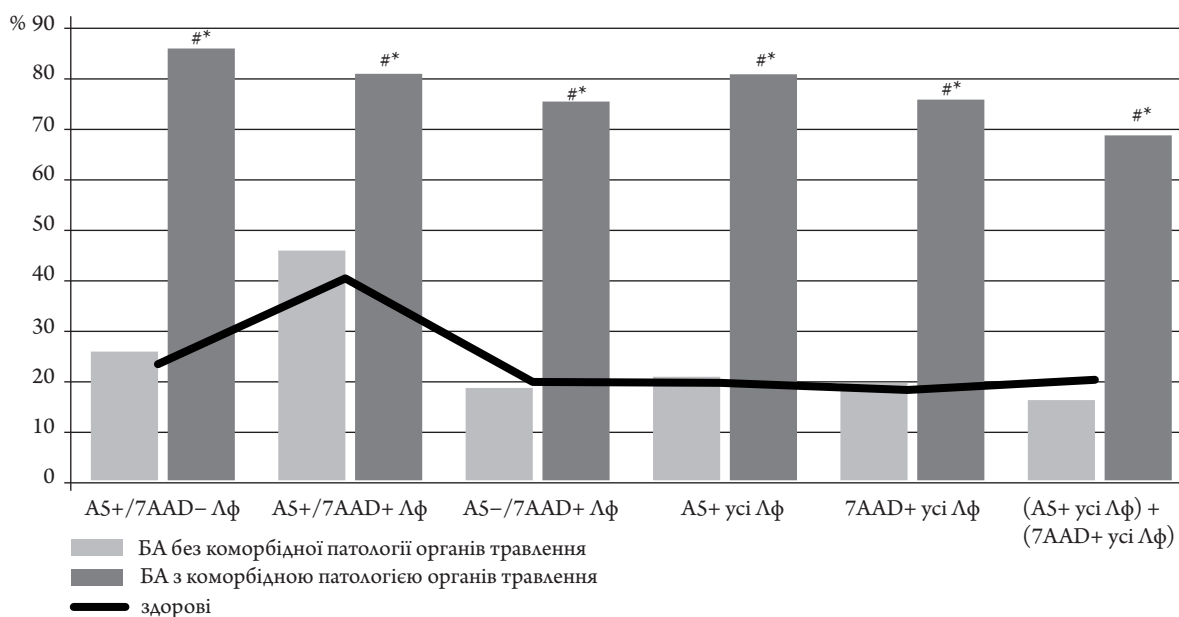


Рисунок 6. Виразність зниження спонтанного апоптозу лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму з/без коморбідної патології органів травлення.

Примітки: A5+/7AAD- Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; A5+/7AAD+ Лф — лімфоцити з ранніми та пізніми ознаками апоптозу; A5-/7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; A5+ усі Лф — усі лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ усі Лф — усі лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; (A5+ усі Лф) + (7AAD+ усі Лф) — лімфоцити з ознаками апоптозу; # — різницю показника у порівнянні з показником групи БА без коморбідної патології статистично підтверджено ($p < 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$).

БА без ПОТ — на 25,5 % у 75,2 % осіб, а в групі здорових на 23,5 % у 50,0 % обстежених (рис 6). Виразність зниження числа Лф із ознаками пізньо-

го апоптозу в групі хворих на БА із ПОТ зростала на 80,5 % ($p < 0,05$) у 80,6 % хворих, на 45,5 % – у 68,7 % обстежених без ПОТ та на 40,5 % – у 85,8 % здорових осіб. Виразність зниження числа Лф із одночасно ранніми та пізніми ознаками спонтанного апоптозу Лф збільшувалась на 80,0 % у 80,5 %

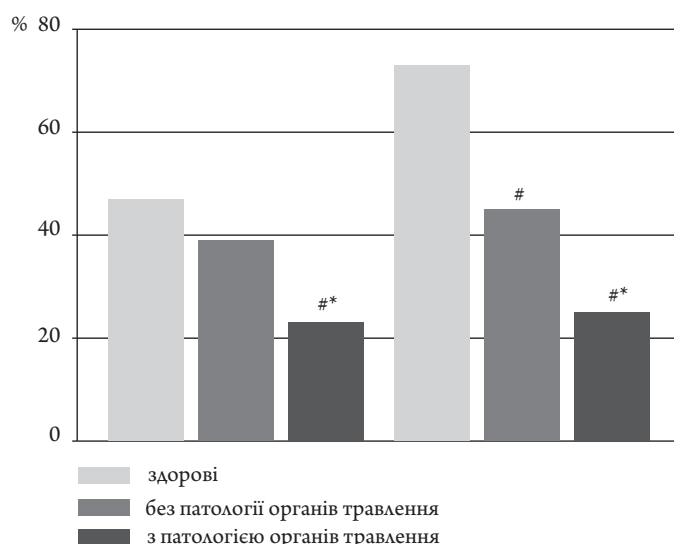


Рисунок 7. Питома кількість лімфоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу серед усіх апоптичних Лф у хворих на БА з/без коморбідної патології органів травлення.

Примітки: A5+ Лф — лімфоцити з ранніми ознаками апоптозу; 7AAD+ Лф — лімфоцити з пізніми ознаками апоптозу; # — різницю показника у порівнянні з показником групи з здорових осіб статистично підтверджено ($p > 0,05$); * — різницю показника у порівнянні з референтними статистично підтверджено ($p < 0,05$).

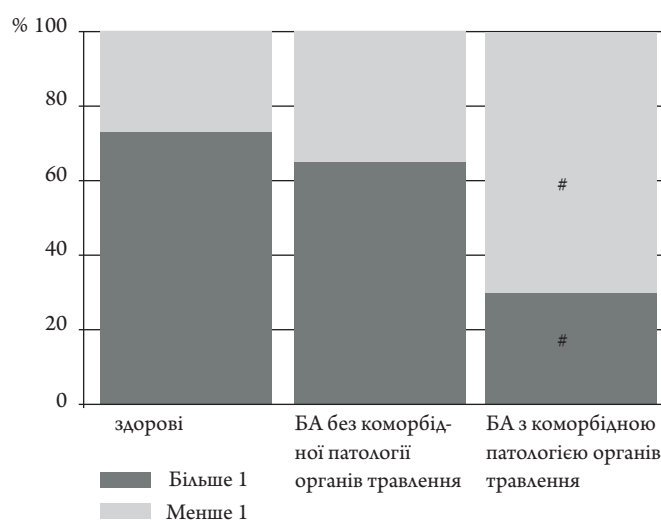


Рисунок 8. Відсоток осіб з різним співвідношенням ранніх та пізніх ознак спонтанного апоптозу лімфоцитів у групах здорових осіб та хворих на бронхіальну астму з коморбідною патологією органів травлення та без неї.

Примітка. # — різницю показника у порівнянні з показником групи з здорових осіб статистично підтверджено ($p > 0,05$).

хворих на БА із ПОТ ($p < 0,05$), на 20,5 % у 90,0 % осіб з БА без ПОТ та на 20,0 % у 90,0 % здорових обстежених.

При порівнянні питомої кількості Лф із одночасно ранніми та пізніми ознаками апоптозу серед усіх апоптичних Лф у хворих на БА без ПОТ та у групі здорових встановлено достовірне зростання питомої кількості Лф з ранніми ознаками апоптозу (відповідно 70,0 % та 65,3 % у порівнянні з 47,0 % у групі хворих на БА із ПОТ ($p > 0,05$)) (рис. 7). Зміни питомої кількості лімфоцитів з пізніми ознаками апоптозу мали протилежний характер (рис. 5). Так, у хворих на БА без ПОТ та хворих на БА із ПОТ їх кількість складала 56,4 % та 44,6 % відповідно у порівнянні з 75,0 % у групі здорових осіб ($p > 0,05$).

Ці результати підтверджувались розрахунковими даними співвідношення Лф із ранніми та пізніми ознаками апоптозу (рис. 8). Установлено, що у 28,4 % обстежених групи здорових ознаки раннього апоптозу (апоптичної готовності) Лф превалювали над пізніми (співвідношення більше 2,0), що також мало місце у 64,6 % хворих на БА без коморбідної ПОТ та у 63,5 % пацієнтів із БА та ПОТ ($p > 0,05$). Превалювання пізніх ознак спонтанного апоптозу над ранніми (співвідношення менше 1,0) достовірно відзначалося у 15,8 % здорових обстежених, у 28,4 % хворих на БА без коморбідної ПОТ та у 67,5 % з ПОТ ($p > 0,05$).

Вищевказані параметри корелювали із числом Лф периферичної крові із незворотними некротичними змінами. Найвища їх кількість визначалась в периферичній крові у хворих на БА із ПОТ — 9,4 % проти 2,2 % в групі здорових та 3,7 % у хворих на БА без ПОТ (рис. 9).

Варто зазначити, що зростання спонтанного апоптозу Лф при БА можна віднести до адаптаційних імунологічних механізмів. В той же час відсутність або пригнічення спонтанного апоптозу Лф є елементом дезадаптації, що підтримує персистенцію алергійного запалення в легенях та бронхах, зростання числа некротизованих Лф периферичної крові, що призводить в кінцевому результаті до втрати контрольованості та обтя-

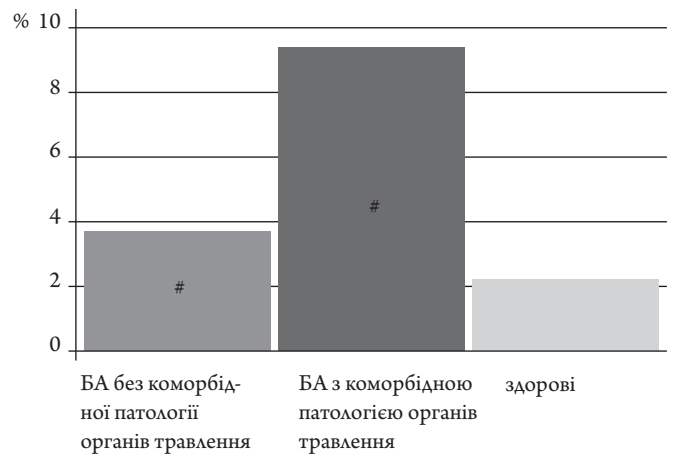


Рисунок 9. Відсоток некротизованих Лф периферичної крові у хворих на БА із/без коморбідної патології органів травлення.

Примітка. # – різницю показника у порівнянні з показником групи з здорових осіб статистично підтверджено ($p > 0,05$).

ження перебігу БА, зниження ефекту від отриманого лікування, зниження якості життя пацієнтів.

Підсумок. Результати проведених досліджень підтвердили негативний вплив коморбідної ПОТ на спонтанний апоптоз Лф у хворих на БА. У групі пацієнтів із коморбідною ПОТ відзначалося виразне (на 85,5 %) зниження кількості Лф з ознаками раннього та на 80,5 % пізнього апоптозу Лф ($p < 0,05$), яке мало місце у переважній більшості пацієнтів. У групі пацієнтів з БА без ПОТ відхилень середніх значень цього показника від референтних не відбувалося, а частота зниження апоптозу Лф не перевищувала референтні значення.

У патофізіології астми пролонгація життя гранулоцитів призводить до запалення, що ушкоджує легені. З іншого боку, в епітеліальних клітинах дихальних шляхів також може відбуватися апоптоз, що призводить до ремоделювання дихальних шляхів. Таким чином, порушення регуляції апоптозу сприяє прогресуванню астми. Тому проблема поєднання коморбідної ПОТ та БА потребує подальшого дослідження, що дозволить не лише позитивно впливати на контрольованість перебігу захворювання, а і розробляти цілеспрямовані ефективні терапевтичні програми для пацієнтів.

SPONTANEOUS APOPTOSIS OF LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA WITH COMORBID PATHOLOGY OF DIGESTIVE ORGANS

Yu. I. Feshchenko, L. M. Kuryk, O. I. Krylach, I. P. Turchyna, O. A. Kanarskyi

State institution «Yanovsky National Scientific Center of Phthysiology, Pulmonology and Allergology National Academy of Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Abstract. The aim of this work was to study the features of spontaneous apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with bronchial asthma (BA) with comorbid pathology of the digestive organs (PDO).

Materials and methods. In each analysis group, the results of the studies of 56 patients with BA were selected, 28 patients in each group (with and without comorbid PDO). The control group was formed from 11 volunteers — persons without clinical signs of infectious and somatic pathology (conditionally healthy). Spontaneous apoptosis of lymphocytes was determined by flow cytometry after staining with annexin 5 (An-5) conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITS).

Results. The results of the analysis of the follow-up studies confirmed the negative impact of comorbid PDO on the spontaneous apoptosis of lymphocytes in patients with asthma. In the group of patients with comorbid PDO was significantly (by 85.5 %) decrease in the number of lymphocytes with signs of early and by 80.5 % late apoptosis of the lymphocytes ($p < 0.05$), in an important majority of patients. The average value of this indicator did not exceed the reference values in the group of patients with BA without PDO. The frequency of decreased apoptosis of lymphocytes did not exceed the reference values. The frequency of increased spontaneous apoptosis of lymphocytes was suppressed. Patients with asthma experience prolongation of cell life, persistence of inflammation through the release of substances from these cells and a decrease in reparative processes. Increased survival of lymphocytes in blood can lead to persistence and progression of allergic inflammation airways in asthma. Therefore, the relationship between BA and PDO will require further comprehensive investigation of common immunological mechanisms, which will lead to apoptosis. This will allow to influence the control of the progression of illness, and develop targeted, effective therapeutic programs.

Key words: bronchial asthma, comorbid pathology, spontaneous apoptosis, lymphocytes.

ЛІТЕРАТУРА

1. Global Initiative for Asthma. Workshop Report (2014). Available from: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/> (last accessed 08.07.2023).
2. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2023). Available from: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/04/GINA-2023-full-report_final_wms.pdf (last accessed 08.04.2023).
3. Havemann BD, Henderson CA, El-Serag HB. The association between gastro-oesophageal reflux disease and asthma: a systematic review. *Gut*. 2007;56(12):1654-64. doi: 10.1136/gut.2007.122465.
4. Zergham A, Sekhon A, Mebasher A, Tserenpil G, Malik B. Inflammatory bowel disease and obstructive pulmonary disease: a two-way association? *Cureus*. 2020;12:68-76. doi: 10.7759/cureus.6836.
5. Roussos A, Koursarakos P, Patsopoulos D, Gerogianni I, Philippou N. Increased prevalence of irritable bowel syndrome in patients with bronchial asthma. *Respir Med*. 2003;97(1):75-79. doi: 10.1053/rmed.2001.1409.
6. Dang A, Marsland B. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol*. 2019;12:843-850. doi: <https://doi.org/10.1038/s41385-019-0160-6>.
7. Doganci A, Neurath M, Finotto S. Mucosal immunoregulation: transcription factors as possible therapeutic targets. *Curr Drug Targets*. 2005;4:565-575. doi: 10.2174/156801005774322153.
8. Nepomnyashchikh G, Chernyavskaya G, Aidagulova S, Korabelnikov D. Ultrastructural changes in cells of the gastric and small intestinal mucosa during bronchial asthma. *Bull Exp Biol Med*. 2004;137:341-346. doi: 10.1023/b:bebm.0000031576.29807.82.
9. Warren A, Etheresia P. The impact of asthma on the gastrointestinal tract (GIT). *J Asthma Allergy*. 2010;3:123-130. doi: 10.2147/JAA.S10592.
10. Shah R, Freuer D, Linseisen J. Asthma and the risk of gastrointestinal disorders: a Mendelian randomization study. *BMC Med*. 2022;20:82. doi:10.1186/s12916-022-02283-7.
11. Potapinska O, Demkow U. T lymphocyte apoptosis in asthma. *Eur J Med Res*. 2009;14:192-195. doi: 10.1186/2047783X14S4-192.

REFERENCES

1. Global Initiative for Asthma. Workshop Report (2014). Available from: <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/> (last accessed 08.07.2023).
2. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2023). Available from: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/04/GINA-2023-full-report_final_wms.pdf (last accessed 08.04.2023).
3. Havemann BD, Henderson CA, El-Serag HB. The association between gastro-oesophageal reflux disease and asthma: a systematic review. *Gut*. 2007;56(12):1654-64. doi: 10.1136/gut.2007.122465.
4. Zergham A, Sekhon A, Mebasher A, Tserenpil G, Malik B. Inflammatory bowel disease and obstructive pulmonary disease: a two-way association? *Cureus*. 2020;12:68-76. doi: 10.7759/cureus.6836.
5. Roussos A, Koursarakos P, Patsopoulos D, Gerogianni I, Philippou N. Increased prevalence of irritable bowel syndrome in patients with bronchial asthma. *Respir Med*. 2003;97(1):75-79. doi: 10.1053/rmed.2001.1409.
6. Dang A, Marsland B. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol*. 2019;12:843-850. doi: <https://doi.org/10.1038/s41385-019-0160-6>.
7. Doganci A, Neurath M, Finotto S. Mucosal immunoregulation: transcription factors as possible therapeutic targets. *Curr Drug Targets*. 2005;4:565-575. doi: 10.2174/156801005774322153.
8. Nepomnyashchikh G, Chernyavskaya G, Aidagulova S, Korabelnikov D. Ultrastructural changes in cells of the gastric and small intestinal mucosa during bronchial asthma. *Bull Exp Biol Med*. 2004;137:341-346. doi: 10.1023/b:bebm.0000031576.29807.82.
9. Warren A, Etheresia P. The impact of asthma on the gastrointestinal tract (GIT). *J Asthma Allergy*. 2010;3:123-130. doi: 10.2147/JAA.S10592.
10. Shah R, Freuer D, Linseisen J. Asthma and the risk of gastrointestinal disorders: a Mendelian randomization study. *BMC Med*. 2022;20:82. doi:10.1186/s12916-022-02283-7.
11. Potapinska O, Demkow U. T lymphocyte apoptosis in asthma. *Eur J Med Res*. 2009;14:192-195. doi: 10.1186/2047783X14S4-192.

12. Liu L, Zhou L, Wang LL, Zheng PD, Zhang FQ, Mao ZY, et al. Programmed Cell Death in Asthma: Apoptosis, Autophagy, Pyroptosis, Ferroptosis, and Necroptosis. *J Inflamm Res.* 2023;16:2727–2754. doi: 10.13548/2047-783X-14-S4-1924.
13. Agache I, Palmer E, Sanver D. Molecular allergology approach to allergic asthma. *Mol Aspects Med.* 2022;85:1010-1027. doi: /10.1016/j.mam.2021.101027.
14. Arteaga-Badillo D, Portillo-Reyes J, Vargas-Mendoza N. Asthma: new integrative treatment strategies for the next decades. *Medicina.* 2020;56:438. doi: 10.3390/medicina56090438.
15. James BN, Oyeniran C, Sturgill JL, Newton J, Martin RK, Bieberich E, et al. Ceramide in apoptosis and oxidative stress in allergic inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(5):1936-1948.e9. doi: 10.1016/j.jaci.2020.10.024.
16. Duncan C, Lawrie A, Blaylock M, Douglas J, Walsh G. Reduced eosinophil apoptosis in induced sputum correlates with asthma severity. *Eur Respir J.* 2003;22:484–490. doi: 10.1183/09031936.03.00109803a.
17. Kankaanranta H, Lindsay M, Giembycz M, Zhang X, Moilanen E, Barnes P. Delayed eosinophil apoptosis in asthma. *Allergy Clin Immunol.* 2000;106:77–83. doi: 10.1067/mai.2000.107038.
18. Ільїнська ІФ. Апоптоз, апоцитоз та їх роль в імунній відповіді. *Лаб діагностика.* 2002;3:66–72.
19. McDowell P, Heaney L. Different endotypes and phenotypes drive the heterogeneity in severe asthma. *Allergy.* 2020;75:302-310. doi:10.1111/all.13966.
20. Kaur R, Chupp G. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(1):1-12. doi: 10.1016/j.jaci.2019.05.031.
21. Хламанова Л, Северилова М, Ткаченко Ю. Морфофункціональні особливості апоптозу: проблеми та перспективи застосування апоптозу в сучасній медицині. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2017;2(4):185–191.
22. Shogenova M. The effectiveness of targeted therapy of various genetically engineered biological drugs in the treatment of bronchial asthma. *Terapevticheskii arkhiv.* 2005;12:112-118. doi:10.26442/00403660.2023.12.202491.
23. Takahashi K. «T2-high» in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin. *Eur Respir J.* 2018;53:180-190. doi: 10.1183/13993003.00938-2018.
24. Syabbalo N. Neutrophilic asthma: a complex phenotype of severe asthma. *J Lung Pulm Respir Res.* 2020;7(1):18-24. doi:https://doi.org/10.31579/2693-2156/030.
25. Ferraro V, Carraro S, Bozzetto S, Zanconato S, Baraldi E. Exhaled biomarkers in childhood asthma: old and new approaches. *Asthma Res Pract.* 2018;4:1-7. doi: 10.1186/s40733-018-0045-6.
26. Roth M, Stolz D. Biomarkers and personalised medicine for asthma. *Eur Respir J.* 2019;53(1):180-204. doi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30606766.
27. Akiki Z, Andrianjafimasy M, Zerimech F, Le Moual N, Siroux V, Dumas O, et al. High level of fluorescent oxidation products and worsening of asthma control over time. *Respir Med.* 2019;20:203. doi: 10.1186/s12931-019-1173-0.
28. Vermeulen K, Van Bockstaele D, Berneman Z. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Ann Hematol.* 2005;84:627–639. doi: 10.1007/s00277-005-1065-x.
29. Zamaraev A. Post-translational Modification of Caspases: The Other Side of Apoptosis Regulation. *Trends in cell biology.* 2017;315. doi:10.1016/j.tcb.2017.01.003 13.
30. Fadok V, Chimini G. The phagocytosis of apoptotic cells. *Semin Immunol.* 2001;13:365-372. doi:https://doi.org/10.1006/smim.2001.0333.
31. Asahina H. A phase II trial of gefitinib as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutations. *Br J Cancer.* 2006;95:998–1004. doi: 10.1038/sj.bjc.6603393.
32. Ciepiela O, Ostafin M, Demkow U. Neutrophils in asthma-a review. *Respir Physiol Neurobiol.* 2015;209:13–16. doi:10.1016/j.resp.2014.12.004.
33. Hamzaoui A, Hamzaoui K, Salah H, Chabbou A. Lymphocytes apoptosis in patients with acute exacerbation of asthma. *Mediators Inflamm.* 1999:243. doi:10.1080/09629359990405.
34. Наказ МОЗ України від 08.10.2013 № 868 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі». Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Бронхіальна астма». Київ: МОЗ України. 54 с.
12. Liu L, Zhou L, Wang LL, Zheng PD, Zhang FQ, Mao ZY, et al. Programmed Cell Death in Asthma: Apoptosis, Autophagy, Pyroptosis, Ferroptosis, and Necroptosis. *J Inflamm Res.* 2023;16:2727–2754. doi: 10.13548/2047-783X-14-S4-1924.
13. Agache I, Palmer E, Sanver D. Molecular allergology approach to allergic asthma. *Mol Aspects Med.* 2022;85:1010-1027. doi: /10.1016/j.mam.2021.101027.
14. Arteaga-Badillo D, Portillo-Reyes J, Vargas-Mendoza N. Asthma: new integrative treatment strategies for the next decades. *Medicina.* 2020;56:438. doi: 10.3390/medicina56090438.
15. James BN, Oyeniran C, Sturgill JL, Newton J, Martin RK, Bieberich E, et al. Ceramide in apoptosis and oxidative stress in allergic inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(5):1936-1948.e9. doi: 10.1016/j.jaci.2020.10.024.
16. Duncan C, Lawrie A, Blaylock M, Douglas J, Walsh G. Reduced eosinophil apoptosis in induced sputum correlates with asthma severity. *Eur Respir J.* 2003;22:484–490. doi: 10.1183/09031936.03.00109803a.
17. Kankaanranta H, Lindsay M, Giembycz M, Zhang X, Moilanen E, Barnes P. Delayed eosinophil apoptosis in asthma. *Allergy Clin Immunol.* 2000;106:77–83. doi: 10.1067/mai.2000.107038.
18. Ільїнська ІФ. Апоптоз, апоцитоз та їх роль в імунній відповіді (Apoptosis, apocytosis and their role in the immune response). *Lab diagnostics.* 2002;3:66–72.
19. McDowell P, Heaney L. Different endotypes and phenotypes drive the heterogeneity in severe asthma. *Allergy.* 2020;75:302-310. doi:10.1111/all.13966.
20. Kaur R, Chupp G. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(1):1-12. doi: 10.1016/j.jaci.2019.05.031.
21. Khlamanova L, Severylova M, Tkachenko YU. Morfofunktsionalni osoblyvosti apoptozu: problemy ta perspektyvy zastosuvannya apoptozu v suchasnyi medytsyni (Morphofunctional features of apoptosis: problems and prospects of the application of apoptosis in modern medicine). *Ukrayinskyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu.* 2017;2(4):185–191.
22. Shogenova M. The effectiveness of targeted therapy of various genetically engineered biological drugs in the treatment of bronchial asthma. *Terapevticheskii arkhiv.* 2005;12:112-118. doi:10.26442/00403660.2023.12.202491.
23. Takahashi K. «T2-high» in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin. *Eur Respir J.* 2018;53:180-190. doi: 10.1183/13993003.00938-2018.
24. Syabbalo N. Neutrophilic asthma: a complex phenotype of severe asthma. *J Lung Pulm Respir Res.* 2020;7(1):18-24. doi:https://doi.org/10.31579/2693-2156/030.
25. Ferraro V, Carraro S, Bozzetto S, Zanconato S, Baraldi E. Exhaled biomarkers in childhood asthma: old and new approaches. *Asthma Res Pract.* 2018;4:1-7. doi: 10.1186/s40733-018-0045-6.
26. Roth M, Stolz D. Biomarkers and personalised medicine for asthma. *Eur Respir J.* 2019;53(1):180-204. doi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30606766.
27. Akiki Z, Andrianjafimasy M, Zerimech F, Le Moual N, Siroux V, Dumas O, et al. High level of fluorescent oxidation products and worsening of asthma control over time. *Respir Med.* 2019;20:203. doi: 10.1186/s12931-019-1173-0.
28. Vermeulen K, Van Bockstaele D, Berneman Z. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Ann Hematol.* 2005;84:627–639. doi: 10.1007/s00277-005-1065-x.
29. Zamaraev A. Post-translational Modification of Caspases: The Other Side of Apoptosis Regulation. *Trends in cell biology.* 2017;315. doi:10.1016/j.tcb.2017.01.003 13.
30. Fadok V, Chimini G. The phagocytosis of apoptotic cells. *Semin Immunol.* 2001;13:365-372. doi:https://doi.org/10.1006/smim.2001.0333.
31. Asahina H. A phase II trial of gefitinib as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutations. *Br J Cancer.* 2006;95:998–1004. doi: 10.1038/sj.bjc.6603393.
32. Ciepiela O, Ostafin M, Demkow U. Neutrophils in asthma-a review. *Respir Physiol Neurobiol.* 2015;209:13–16. doi:10.1016/j.resp.2014.12.004.
33. Hamzaoui A, Hamzaoui K, Salah H, Chabbou A. Lymphocytes apoptosis in patients with acute exacerbation of asthma. *Mediators Inflamm.* 1999:243. doi:10.1080/09629359990405.
34. Nakaz MOZ Ukraini vid 08.10.2013 № 868 «Pro zatverdjenjnya ta vprovadjenjnya mediko-tehnologichnih dokumentiv zi standartizatsii

35. Moreira M, Barcinski M. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2004;76(1):93–115. doi:10.1590/S0001-37652004000100009.
36. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К: МОРИОН. 2000. 320 с.
37. Самуїлов ВЕ, Олескин АМ, Лагунова ЕН. Программируемая клеточная смерть. *Биохимия*. 2000;8:1029-1046.
38. Mamessier E, Botturi K, Vervloet D, Magnan A. T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions. *Rev Mal Respir*. 2005;22:305-311. doi: 10.1016/s0761-8425(05)85482-8.
- medichnoi dopomogi pri bronhialniy astmi». Unifikovaniy klinichniy protokol pervinnoi, vtorinnoi (spetsializovanoi) medichnoi dopomogi «Bronhialna astma» (Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 08.10.2013 № 868 «On Approval and Implementation of Medical-Technological Documents for the Standardization of Medical Aid in Bronchial Asthma»). Unified clinical protocol for primary, secondary (specialized) medical care «Bronchial asthma». Kyiv: MOZ Ukraini. 2013. 54 p.
35. Moreira M, Barcinski M. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2004;76(1):93–115. doi:10.1590/S0001-37652004000100009.
36. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metody v medicobiologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel (Statistical methods in biomedical research using Excel). Kiev: Morion. 2001. 320 p.
37. Samulov VE, Oleskin AM, Lagunova YEN. Programmiryuemaya kletochnaya smert' (Programmed cell death). *Biokhimiya*. 2000;8:1029-1046.
38. Mamessier E, Botturi K, Vervloet D, Magnan A. T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions. *Rev Mal Respir*. 2005;22:305-311. doi: 10.1016/s0761-8425(05)85482-8.

Цитування: Фещенко ЮІ, Курик ЛМ, Криlach ОІ, Турчина ІП, Канарський ОА. Спонтанний апоптоз лімфоцитів у хворих на бронхіальну астму із коморбідною патологією органів травлення. *Астма та алергія*. 2024;3:22–33. DOI: 10.31655/2307-3373-2024-3-22-33.

Cited: Feshchenko YuI, Kuryk LM, Krylach OI, Turchyna IP, Kanarskyi OA. Spontaneous apoptosis of lymphocytes in patients with bronchial asthma with comorbid pathology of digestive organs (Ukraine). 2024;3:22–33. DOI: 10.31655/2307-3373-2024-3-22-33. Ukrainian.

Відомості про авторів

Ю. І. Фещенко

Академік НАМН України,
Доктор мед. наук, професор.
Директор ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології імені Ф. Г. Яновського НАМН України».
10, М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна.
ORCID ID: orcid.org/0000-0002-4505-8287

Л. М. Курик*

докторка мед. наук, провідний науковий співробітник відділення
пульмонології ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії,
пульмонології та алергології імені Ф.Г. Яновського
Національної академії медичних наук України»,
10, М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-7873-8951>

О. І. Криlach

молодший науковий співробітник відділення пульмонології
ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології
імені Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України»,
10, М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-5293-7936>

І. П. Турчина

канд. мед. наук, науковий співробітник відділення пульмонології ДУ
«Національний науковий центр фтизіатрії, пульмонології та алергології
імені Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України»,
10, М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-5293-7936>

О. А. Канарський

канд. мед. наук, завідувач відділення бронхообструктивних хвороб легень у
хворих на туберкульоз ДУ «Національний науковий центр фтизіатрії,
пульмонології та алергології імені Ф.Г. Яновського
Національної академії медичних наук України»,
10, М. Амосова, м. Київ, 03038, Україна
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-0668-6149>

Відомості про авторів

Yu. I. Feshchenko

Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine,
Dr. Med. Sci., Professor.
Director of the SO “Yanovskyi National scientific center of phthysiatry, pulmonology and allergology NAMS of Ukraine”,
10, M. Amosova, Kyiv, 03038, Ukraine.

L. M. Kuryk

leading researcher pulmonology department,
SO “Yanovskyi National scientific center of phthysiatry, pulmonology and allergology NAMS of Ukraine”, MD, Dr. Med. Sci
10, M. Amosova, Kyiv, 03038, Ukraine

O. I. Krylach

junior research associate
SO “Yanovskyi National scientific center of phthysiatry, pulmonology and allergology NAMS of Ukraine”, MD, Cand.Sc.
10, M. Amosova, Kyiv, 03038, Ukraine

I. P. Turchyna

Scientific worker pulmonology department,
SO “Yanovskyi National scientific center of phthysiatry, pulmonology and allergology NAMS of Ukraine”, MD, Cand.Sc.
10, M. Amosova, Kyiv, 03038, Ukraine

A. A. Kanarskyi

head of department bronchoobstructive lung
disease in patients with tuberculosis
SO “Yanovskyi National scientific center of phthysiatry, pulmonology and allergology NAMS of Ukraine”, MD, Cand.Sc.
10, M. Amosova, Kyiv, 03038, Ukraine

Надійшла до редакції / Received: 21.06.2024 р.

Прийнято до друку / Accepted: 02.09.2024 р.