

*Ю.В. ДЄЄВА, О.Д. КОШЕЛЬ*

## **ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ ЕКСПРЕСІЇ МУЦИНІВ MUC1 ТА MUC5AC У ТКАНИНІ ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОНЗИЛІТІ**

*Каф. оториноларингології (зав. – проф. Ю.В. Дєєва)  
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця  
(ректор – чл.-кор. НАМН України, проф. Ю.Л. Кучин)*

Хронічний (рекурентний) тонзиліт (ХТ), залишається однією з найпоширеніших патологій верхніх дихальних шляхів у дорослих і дітей, значно погіршуючи якість життя пацієнтів та створюючи високе соціально-економічне навантаження через часті загострення, антибіотикотерапію та потребу в хірургічному лікуванні [1-3]. Рецидивуючий перебіг захворювання характеризується частими епізодами гострого тонзиліту ( $\geq 4$ -7 епізодів на рік), формуванням стійких бактеріальних біоплівки у криптах мигдаликів та розвитком місцевої імунної дисфункції, що в кінцевому підсумку призводить до переходу в декомпенсовану форму та ускладнень [4, 5].

Порушення функціонування мукоциліарного кліренсу та цілісності захисного слизового шару на поверхні ротоглотки та мигдаликів займає центральне місце у підтримці тривалого запалення та стійкості збудників [6, 7]. Муцини, які є високоглікозильованими білками, становлять основу слизу, формуючи перший захисний рубіж між епітеліальними клітинами та мікроорганізмами. Із понад двох десятків відомих людських муцинів трансмембранний MUC1 та секреторний гелеутворюючий MUC5AC набувають особливого значення у контексті хронічних патологій верхніх респіраторних шляхів [8, 9].

MUC5AC нерідко класифікують як типовий "муцин запальної відповіді": його синтез значно посилюється під впливом

прозапальних цитокінів (таких як IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), бактеріальних токсинів, еластази нейтрофілів та стимуляторів TLR. Це спричиняє надмірне виділення густого слизу, що ускладнює мукоциліарний транспорт і сприяє формуванню біоплівки [10]. Надпродукція MUC5AC є добре вивченим явищем при бронхіальній астмі, хронічному обструктивному захворюванні легень, муковісцидозі та хронічному риносинуситі з назальними поліпами; рівень цього муцину прямо корелює з важкістю стану та частотою рецидивів [9, 10].

Натомість, MUC1, будучи інтегрованим у мембрану, виконує переважно функції передачі сигналів та запобігання адгезії. Його зовнішня частина може відщеплюватися, утворюючи розчинну форму, що перешкоджає прикріпленню патогенів. Водночас цитоплазматичний "хвіст" бере участь у протизапальній сигналізації, зокрема, через пригнічення фактора NF- $\kappa$ B [15, 16]. При хронічних запальних станах зафіксовано як посилення, так і зниження експресії MUC1, що залежить від конкретної стадії та типу патологічного процесу [17].

Попри значний обсяг досліджень муцинів при хворобах нижніх дихальних шляхів та порожнини носа, інформація про їх експресію у тканині піднебінних мигдаликів при рецидивуючому чи хронічному тонзиліті практично відсутня. Деякі роботи вказують на збільшення MUC5AC у поверхневому шарі мигдаликів під час хронічного

запалення [6, 7], проте відсутні дані стосовно одночасного аналізу MUC1 та MUC5AC у різних клінічних проявах хронічного тонзиліту (ХТ).

Таким чином, **метою** цього дослідження було вивчити рівні експресії муцинів MUC1 та MUC5AC у тканині піднебінних мигдаликів у пацієнтів із хронічним тонзилітом, порівняно з контрольною групою, застосовуючи метод вестерн-блот. Додатково планувалася оцінка їхнього потенціалу як біомаркерів активності патологічного процесу та потенційних мішеней для лікування.

### **Завдання дослідження**

Визначити рівні експресії MUC1 та MUC5AC у тканині мигдаликів методом вестерн-блоттингу. Порівняти експресію між групами з компенсованою та декомпенсованою формами хронічного тонзиліту та контрольними групами. Виявити відмінності в характері змін експресії залежно від клінічного фенотипу захворювання. Проаналізувати кореляції між рівнями муцинів та клінічними показниками (частота загострень, токсико-алергічні прояви, тривалість захворювання). Обґрунтувати можливість використання MUC5AC та/або MUC1 як молекулярних біомаркерів для вибору тактики лікування.

### **Матеріали та методи**

Дослідження проведено на базі ЛОР-відділення СМЛ м. Києва у період 2021-2025 рр. Усі пацієнти (або їх законні представники) підписали інформовану добровільну згоду на участь у дослідженні.

До дослідження залучено 60 осіб, яких було розподілено на 4 групи. Контрольна група 1 (КГ1) – 19 осіб (чоловіки/жінки 10/9, середній вік –  $28,4 \pm 9,2$  роки) – пацієнти без запальних захворювань ротоглотки, яким виконували тонзилектомію з приводу хронічного тонзиллярного гіпертрофічного синдрому або хропіння (без епізодів тонзиліту протягом  $\geq 2$  років). Контрольна група 2 (КГ2) – 10 осіб (чоловіки/жінки 5/5, середній вік –  $26,8 \pm 7,5$  роки) – аналогічні критерії. Група дослідження 1 (ДГ1) – 12 пацієнтів із компенсованою/рекурентною формою хронічного тонзиліту. Група дослідження 2

(ДГ2) – 19 пацієнтів із декомпенсованою (рекурентною) формою хронічного тонзиліту ( $\geq 5$  епізодів гострого тонзиліту за останні 2 роки, наявність токсико-алергічних проявів I-II ступеня).

Критерії включення в групи дослідження: клінічно та анамнестично підтверджений хронічний тонзиліт, показання до планової двосторонньої тонзилектомії, вік – 18-55 років. Критерії виключення: гострий тонзиліт або загострення хронічного тонзиліту протягом останнього місяця, системні захворювання сполучної тканини, онкопатологія, імуносупресивна терапія, муковісцидоз, первинна циліарна дискінезія.

Групи не відрізнялися за віком та статтю ( $p > 0,05$ ). Пацієнтів-курців, осіб з ендокринними захворюваннями, вагітних, хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ), алергічний риніт, а також тих, хто приймав глюкокортикоїди, імуносупресанти або антибіотики протягом останнього місяця, було виключено з дослідження.

Дві контрольні групи сформовано для підвищення репрезентативності контрольної вибірки, враховуючи можливі відмінності в ступені гіпертрофії мигдаликів без запального компонента.

Тонзилектомію здійснювали під загальною анестезією, застосовуючи звичну екстракапсулярну методику. Одразу після видалення мигдалики розтинали, звідки відбирали шматочок тканини (15-30 мг) з ураженої ділянки та крипти, промивали холодним фізіологічним розчином та негайно заморожували у рідкому азоті. Зразки зберігалися при температурі  $-80^\circ\text{C}$  аж до початку виділення білкових сполук.

Гомогенізація зразків тканин здійснювалась у лізисному середовищі RIPA (що містить 50 мМ Трис-НСІ з рН 7,4, 150 мМ NaCl, 1 % NP-40, 0,5 % натрієвого дезоксихолату та 0,1 % SDS), доповненому інгібіторами протеаз (Complete Mini, Roche) та фосфатаз (PhosSTOP, Roche). Процес механічного подрібнення виконувався з використанням апарату TissueLyser II (фірми Qiagen) протягом трьох циклів по 2 хвилини кожен, при частоті 30 Гц. Після цього суміш витримували 30 хвилин у льодяній бані, а потім піддавали центрифугуванню протя-

гом 20 хвилин при 14 000 \*g\* та температурі 4 °C. Кількість білка визначали за методикою Бредфорда.

Гістологічний контроль зразків (розмір крипт, наявність біоплівки, ступінь запалення) проводився на парафінових зрізах, забарвлених гематоксиліном та еозином, для підтвердження діагнозу та виключення злоякісних змін (не входило до основного аналізу).

Аліквоти білка (40-60 мкг) розділяли в 6% ПААГ для MUC1 та MUC5AC і в 10% ПААГ для  $\beta$ -актину (контрольний білок). Після перенесення на мембрану PVDF проводилось блокування 5% сухим молоком у TBS-T протягом 1 год. Первинні антитіла: anti-MUC1 (1:1000), anti-MUC5AC (1:500), anti- $\beta$ -actin (1:2000) – інкубація ніч при 4 °C. Вторинні HRP-кон'юговані антитіла (1:5000) – 1 год. при кімнатній температурі. Сигнал візуалізувався за допомогою ECL-реагенту.

Інкубація для блокування неспецифічного зв'язування тривала 1 годину при кімнатній температурі з використанням 5 % розчину сухого молока у буфері TBS-T (який містить 0,1 % Твіну-20).

Оцінка інтенсивності смуг (денситометрію) виконувалась за допомогою програмного забезпечення Image Lab 6.1 (Bio-Rad). Кількість експресованих муцинів відносили до рівня  $\beta$ -актину і виражали у довільних одиницях (arbitrary units, a.u.), нормалізуючи отримані значення до середнього показника у контрольній групі.

Статистичний аналіз проводився за допомогою t-тесту Ст'юдента (для нормального розподілу) або U-тесту Манна-Уїтні (для ненормального), Нормальність розподілу перевірялась тестом Шапіро-Вілکا. Для кореляційного аналізу застосовувався коефіцієнт Пірсона або Спірмена. Різниця вважалась значущою при  $p < 0,05$ . Дані подано як  $M \pm SD$  або медіана (25-75 перцентиль). Статистичний аналіз проводився за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення GraphPad Prism 9.0 та R-statistic.

### Результати

Загалом проаналізовано тканини піднебінних мигдаликів 60 осіб.

**Експресія MUC5AC.** Рівень гелеутворюючого муцину MUC5AC у всіх групах хворих на хронічний тонзиліт був достовірно вищим за показники у обстежених осіб обох контрольних груп. Показники ( $M \pm SD$ ) по групах становили: КГ1 (n=19) –  $2,18 \pm 0,76$ ; КГ2 (n=10) –  $2,94 \pm 0,81$ ; ДГ1 (n=12) –  $6,83 \pm 2,14$  ( $p < 0,001$  при порівнянні КГ1 та КГ2); ДГ2 (n=19) –  $9,67 \pm 2,41$  ( $p < 0,0001$  при порівнянні з КГ1 та КГ2;  $p = 0,002$  в порівнянні з ДГ1). Тобто, в середньому в групі декомпенсованого / рекурентного тонзиліту (ДГ2) рівень MUC5AC був в 4,43 рази вищим, ніж в групі КГ1, та в 3,29 рази вищим, ніж в групі КГ2. В групі ДГ1 підвищення було дещо меншим, але все одно перевищувало рівні в контрольних групах більше ніж у 3 рази (рис. 1).

**Експресія MUC1.** На відміну від MUC5AC, трансмембранний муцин MUC1 продемонстрував виражену двофазність змін залежно від клінічної форми захворювання. В групі КГ (n=19) його рівень становив  $4,67 \pm 0,89$ ; в групі КГ2 (n=10) –  $4,82 \pm 1,12$ ; в групі ДГ1 (компенсована/субкомпенсована форма) –  $7,94 \pm 1,68$  ( $p < 0,001$  порівняно з обома контрольними групами); в групі ДГ2 (декомпенсована/рекурентна форма) –  $2,81 \pm 1,03$  a.u. ( $p < 0,001$  порівняно з КГ та КГ2;  $p < 0,0001$  – порівняно з ДГ1) (рис. 2).

Отже, у пацієнтів із частими загостреннями та токсико-алергічними проявами (ДГ2) спостерігається достовірно зниження MUC1, тоді як у групі з переважно компенсованим перебігом (ДГ1) виявляється значна гіперекспресія цього муцину.

Встановлено сильну позитивну взаємозалежність між рівнем MUC5AC та кількістю епізодів гострого тонзиліту за останні 2 роки ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,0001$ ); сильну позитивну кореляцію між MUC5AC та наявністю токсико-алергічних проявів I-II ступеня ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,001$ ); сильну негативну кореляцію між рівнем MUC1 та кількістю загострень ( $r = -0,74$ ;  $p < 0,0001$ ); обернену кореляцію між MUC1 та MUC5AC у групі декомпенсованого тонзиліту ( $r = -0,68$ ;  $p = 0,002$ ). (рис. 3).

На представлених блятах добре видно різке посилення смуги MUC5AC (~300-500 kDa) у зразках ДГ1 та ДГ2, тоді як у групі ДГ2 інтенсивність смуги MUC1 помітно

знижена (~150-250 kDa, глікозильована форма) порівняно з контролем та групою ДГ1 (рис. 4).

Таким чином, результати демонструють чітку залежність профілю муцинів від

клінічного фенотипу хронічного тонзиліту: рекурентна/декомпенсована форма → ↑↑↑ MUC5AC + ↓ MUC1; компенсована/субкомпенсована форма → ↑↑ MUC5AC + ↑↑ MUC1.

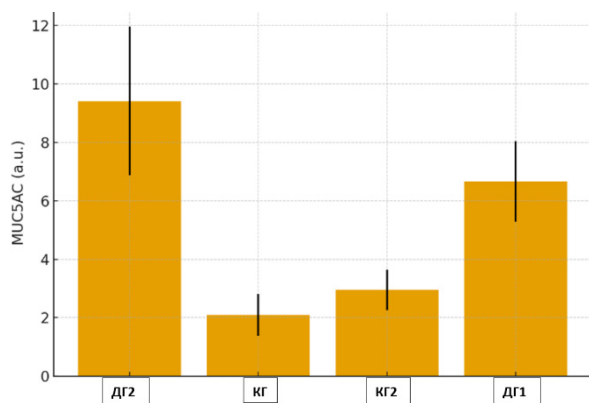


Рис. 1. Столпчиковий графік MUC5AC (mean ± SD).

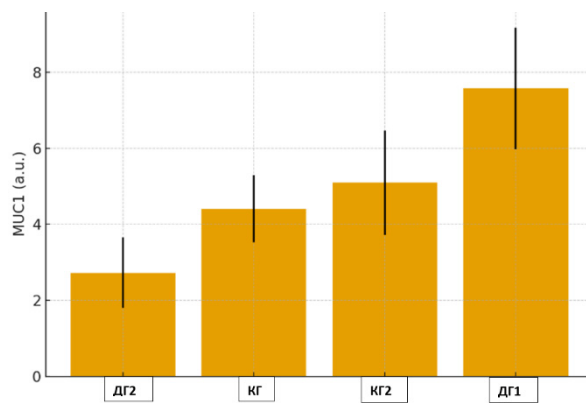


Рис. 2. Столпчиковий графік MUC1 (mean ± SD). Двофазність – ДГ1 має вищий MUC1, ДГ2 – нижчий, контролю – посередині.

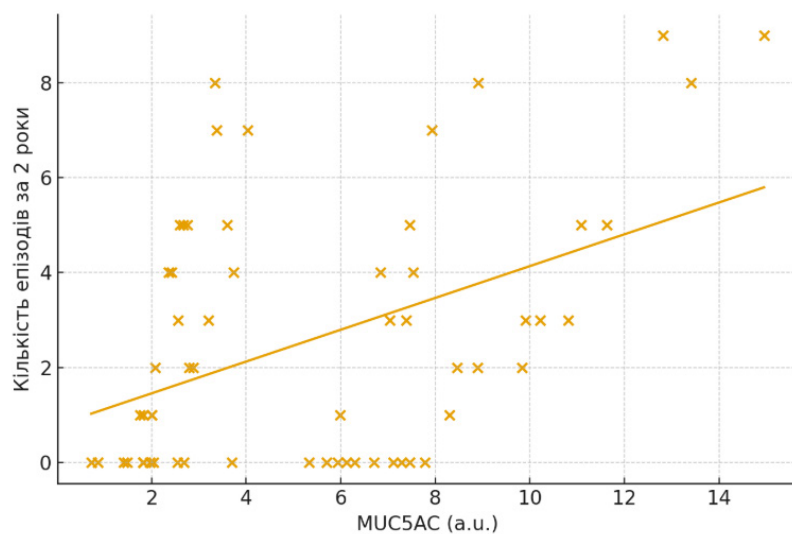


Рис. 3. Scatterplot MUC5AC проти епізодів. Позитивна кореляція; лінія регресії вказує на пряму залежність.

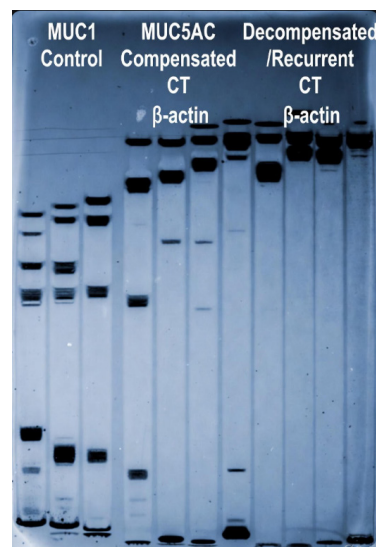


Рис. 4. Вестерн-блот MUC1, MUC5AC та β-актину в гомогенатах піднебінних мигдаликів.

### Висновки та їх обговорення

Дослідження виявило значне підвищення експресії MUC5AC у тканині мигдаликів при хронічному тонзиліті (у 3,1-4,4 рази порівняно з контролем), з прямою

кореляцією з частотою загострень та токсико-алергічними проявами. Це підтверджує роль MUC5AC як індикатора гіперсекреції слизу та порушення мукоциліарного кліренсу.

Експресія MUC1 демонструє двофазний характер: гіперекспресія (на 70-90 %) при компенсованій формі та зниження (на 38-42 %) при декомпенсованій, що вказує на різні стани бар'єрного захисту епітелію. Зворотна кореляція MUC5AC/MUC1 ( $r=-0,68$ ) у групі з декомпенсованою формою хронічного тонзиліту робить це співвідношення потенційним комплексним маркером тяжкості.

Практичні перспективи: рівень MUC5AC >8-9 у.о. – критерій для тонзилектомії; зниження MUC1 <3,0-3,5 у.о. – ознака декомпенсації. Неінвазивне визначення муцинів у слині/змивах – перспективний напрям для моніторингу.

Терапевтичні імплікації: інгібіція надпродукції MUC5AC (макролідами або блокаторами EGFR/IL-13 шляхів); збереження

MUC1 (інгібітори ADAM17); комбінована дія на біоплівки та в'язкість вмісту крипт.

У довготривалій перспективі, профіль муцинів MUC5AC/MUC1, визначений як у тканині мигдаликів, так і в біологічних рідинах ротоглотки, може стати частиною індивідуалізованого плану ведення пацієнтів із рецидивуючим тонзилітом, дозволяючи чітко розмежувати тих, кому необхідна рання тонзилектомія, від тих, для кого можливе ефективне консервативне чи комбінованого лікування з тривалим контролем та профілактикою загострень.

Таким чином, профіль муцинів MUC5AC/MUC1 може стати об'єктивним біомаркером для стратифікації хворих, оптимізації показань до тонзилектомії та персоналізації тактики ведення при хронічному (рецидивуючому) тонзиліті.

### ***Конфлікт інтересів***

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

### ***Дотримання етичних норм***

Автори рукопису свідомо засвідчують, що дослідження проводилось з використанням даних первинної медичної документації та включало клінічні спостереження за пацієнтами. Дослідження проведено відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини, директиви Європейського товариства 86/609 про участь людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказу Міністерства охорони здоров'я України № 690 від 23.09.2009 р. Усі обстежені пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні та оприлюднення його результатів.

### ***Використання штучного інтелекту***

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів

генеративного штучного інтелекту для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного штучного інтелекту, виключно авторами.

### ***Первинні дані та матеріали***

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

### ***Інформація про фінансування***

Дане дослідження не отримувало зовнішнього фінансування.

## References

1. Chatterjee M, van Putten JPM, Strijbis K. Defensive Properties of Mucin Glycoproteins during Respiratory Infections – Relevance for SARS-CoV-2. *mBio*. 2020 Nov 12;11(6):e02374-20. doi: 10.1128/mBio.02374-20.
2. Esin Ozkan, Livengood SS, Ford AA, Macdonald JK, Samir S, Klevans IW, Kesimer M. Analytical validation of total mucin concentration assay using SEC MALLS dRI for diagnosing and monitoring mucoobstructive lung diseases. *Sci Rep*. 2025 Dec; 15(1):1. doi: 10.1038/s41598-025-51234-5.
3. Hanif T, Ivaska LE, Ahmad F, Tan G, Mikola E, Puhakka T, Palomares O, Akdis CA, Toppila-Salmi S, Jartti T. Tonsillar transcriptional profiles in atopic and non-atopic subjects. *Allergy*. 2023 Feb;78(2):522-536. doi: 10.1111/all.15458.
4. Kato K, Chang EH, Chen Y, Lu W, Kim MM, Niihori M, Hecker L, Kim KC. MUC1 contributes to goblet cell metaplasia and MUC5AC expression in response to cigarette smoke in vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020 Jul 1;319(1):L82-L90. doi: 10.1152/ajplung.00049.2019.
5. Li Y. The expression of MUC5AC in patients with rhinosinusitis: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Allergy*. 2024 Nov;14(11):e70003. doi: 10.1002/clt2.70003.
6. Lu W, Liu X, Wang T, Liu F, Zhu A, Lin Y, Luo J, Ye F, He J, Zhao J, Li Y, Zhong N. Elevated MUC1 and MUC5AC mucin protein levels in airway mucus of critically ill COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2021 Feb;93(2):582-584. doi: 10.1002/jmv.26406.
7. Roe T, Talbot T, Terrington I, et al. Physiology and pathophysiology of mucus and mucolytic use in critically ill patients. *Crit Care*. 2025 Dec;29(1):68. doi: 10.1186/s13054-025-05286-x.
8. Shah SA, Ishinaga H, Takeuchi K. Distinct Secretion of MUC5AC and MUC5B in Upper and Lower Chronic Airway Diseases. *Open Access Maced J Med Sci*. 2022 Jan 25;10(F):215-23. doi: 10.3889/oamjms.2022.8060.
9. Voynow JA. What does mucin have to do with lung disease? *Paediatr Respir Rev*. 2002 Jun;3(2):98-103. doi: 10.1016/s1526-0550(02)00007-0.
10. Yiyang Chen, Zhenghong Liu, Bin Zheng, Chenkai Wang, Xintao Hua, Pu Zhang, Dahong Zhang. The enhanced surface permeability and retention effect of topically administrated nanoparticles. *J Drug Target*. 2025 Dec;33(0):1-12. doi: 10.1080/1061186X.2025.2304567.

Надійшла до редакції 05.12.2025

© Ю.В. Деєва, О.Д. Кошель

## ДИФЕРЕНЦІОВАННЯ ЕКСПРЕСІЇ МУЦИНІВ MUC1 ТА MUC5AC У ТКАНИНІ ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОНЗИЛІТІ

Деєва ЮВ, Кошель ОД

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Email: deevanmu@gmail.com

### А н о т а ц і я

**Мета:** Вивчити особливості експресії муцинів MUC1 та MUC5AC у тканині піднебінних мигдаликів при хронічному тонзиліті та оцінити їх потенціал як біомаркерів активності захворювання.

**Матеріали та методи:** Досліджено зразки тканини піднебінних мигдаликів, отримані під час тонзилектомії у 31 пацієнта з хронічним тонзилітом (компенсована форма – ДГ1, n=12; декомпенсована форма – ДГ2, n=19) та 29 осіб контрольних груп (КГ n=19, КГ2 n=10). Експресію муцинів визначали методом вестерн-блоттингу з денситометрією, нормалізуючи до β-актину (у.о.).

**Результати:** Експресія гелеутворюючого муцину MUC5AC статистично значуще підвищена в обох групах порівняно з контролем (ДГ1:  $6,83 \pm 2,14$ ; ДГ2:  $9,67 \pm 2,41$ ; контроль:  $2,18 \pm 2,94$ ;  $p < 0,001$ ). Експресія трансмембранного муцину MUC1 мала двофазний характер: підвищення на 70-90 % у компенсованій формі та зниження на 38-42 % у декомпенсованій ( $p < 0,001$ ).

**Висновки:** Підвищення експресії MUC5AC свідчить про активацію гіперсекреції слизу та порушення мукоциліарного кліренсу. Диференційовані зміни MUC1 відображають різні клінічні фенотипи захворювання. MUC5AC є перспективним біомаркером активності запального процесу при хронічному тонзиліті.

**Ключові слова:** хронічний тонзиліт, піднебінні мигдалики, MUC1, MUC5AC, муцини, вестерн-блоттинг, біомаркери.

## DIFFERENTIATION OF MUC1 AND MUC5AC MUCIN EXPRESSION IN PALATINE TONSIL TISSUE IN CHRONIC TONSILLITIS

*Deeva YuV, Koshel OD*  
*Bogomolets National Medical University*  
*Email: deevanmu@gmail.com*

### *Abstract*

**Aim:** To investigate the expression patterns of MUC1 and MUC5AC mucins in palatine tonsil tissue in chronic tonsillitis and assess their potential as biomarkers of disease activity.

**Materials and methods:** Palatine tonsil tissue samples obtained during tonsillectomy from 31 patients with chronic tonsillitis (compensated form – DG1, n=12; decompensated form – DG2, n=19) and 29 control subjects (CG n=19, CG2 n=10) were examined. Mucin expression was determined by Western blotting followed by densitometry, normalized to  $\beta$ -actin (arbitrary units, a.u.).

**Results:** Gel-forming MUC5AC expression was significantly elevated in both tonsillitis groups compared to controls (DG1:  $6.83 \pm 2.14$ ; DG2:  $9.67 \pm 2.41$ ; controls: 2.18–2.94;  $p < 0.001$ ). Transmembrane MUC1 showed a biphasic pattern: 70–90% increase in the compensated form and 38–42% decrease in the decompensated form ( $p < 0.001$ ).

**Conclusions:** Elevated MUC5AC expression indicates mucus hypersecretion and impaired mucociliary clearance. Differentiated MUC1 changes reflect distinct disease phenotypes. MUC5AC holds promise as a biomarker of inflammatory activity in chronic tonsillitis.

**Keywords:** chronic tonsillitis, palatine tonsils, MUC1, MUC5AC, mucins, Western blotting, biomarkers.