

# Патологія



Том 17, № 2(49), травень – серпень 2020 р.

## Редакційна колегія

Головний редактор – проф. В.О. Туманський  
Заст. гол. редактора – проф. А.В. Абрамов  
Відповідальний секретар – проф. С.І. Тертишний

чл.-кор. РАМН, проф. Н.М. Анічков (Санкт-Петербург, РФ)  
д.м.н. С.І. Воротинцев (Запоріжжя)  
проф. О.В. Ганчева (Запоріжжя)  
проф. С.Г. Гичка (Київ)  
проф. А.І. Гоженко (Одеса)  
проф. О.А. Григор'єва (Запоріжжя)  
проф. І.С. Давиденко (Чернівці)  
проф. О.О. Дядик (Київ)  
проф. М. Єлень (Вроцлав, Польща)  
проф. С. М. Завгородній (Запоріжжя)  
чл.-кор. НАМН України, проф. Т.Д. Задорожна (Київ)  
проф. К.Д. Захаровскі (Франкфурт, ФРН)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. Д.Д. Зербіно (Львів)  
чл.-кор. РАМН, проф. Л.В. Кактурський (Москва, РФ)  
проф. О.М. Камишний (Запоріжжя)  
проф. С.М. Киселев (Запоріжжя)  
проф. А.В. Клименко (Запоріжжя)  
проф. М.Ю. Колесник (Запоріжжя)  
проф. Д. Контогеоргос (Афіни, Греція)  
проф. Г.О. Леженко (Запоріжжя)  
проф. Н.С. Михайловська (Запоріжжя)  
проф. М.К. Недзьведь (Мінськ, Республіка Білорусь)  
проф. С.В. Петров (Казань, РФ)  
проф. Ю.О. Поспішіль (Львів)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. О.Г. Резніков (Київ)  
проф. Д.Г. Рекалов (Запоріжжя)  
проф. О.С. Решетнікова (Калінінград, РФ)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. А.М. Романенко (Київ)  
проф. А.М. Романюк (Суми)  
чл.-кор. НАН України, проф. Г.Г. Скібо (Київ)  
проф. І.В. Сорокіна (Харків)  
проф. В.О. Шаврін (Запоріжжя)  
проф. І.С. Шпонька (Дніпро)

## Editorial Board

Editor-in-Chief – V.O. Tumanskiy  
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov  
Executive secretary – S.I. Tertshnyi  
N.M. Anichkov (St. Petersburg, RF)  
I.S. Davydenko (Chernivtsi, Ukraine)  
O.O. Dyadyk (Kyiv, Ukraine)  
A.I. Gozhenko (Odesa, Ukraine)  
S.H. Gychka (Kyiv, Ukraine)  
O.V. Hancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)  
O.A. Hryhorieva (Zaporizhzhia, Ukraine)  
M. Jeleń (Wroclaw, Poland)  
L.V. Kakturskiy (Moscow, RF)  
O.M. Kamyshnyi (Zaporizhzhia, Ukraine)  
S.M. Kyselov (Zaporizhzhia, Ukraine)  
A.V. Klymenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
M. Yu. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)  
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)  
G.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)  
M.K. Nedzved (Minsk, Belarus)  
S.V. Petrov (Kazan, RF)  
Yu.O. Pospishil (Lviv, Ukraine)  
M.D. Rekalov (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)  
O.H. Reznikov (Kyiv, Ukraine)  
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)  
A.M. Romaniuk (Sumy, Ukraine)  
V.O. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.S. Shponka (Dnipro, Ukraine)  
H.H. Skibo (Kyiv, Ukraine)  
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)  
S.I. Vorotyntsev (Zaporizhzhia, Ukraine)  
K.D. Zacharowski (Frankfurt, Germany)  
T.D. Zadorozhna (Kyiv, Ukraine)  
S.M. Zavhorodniy (Zaporizhzhia, Ukraine)  
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

## Науково-практичний медичний журнал Запорізького державного медичного університету

Заснований у жовтні 2004 р.  
Виходить один раз на 4 місяці.  
Свідоцтво про реєстрацію  
КВ № 20604-10404  
від 27.02.2014 р.  
Передплатний індекс – 95911.

### Атестований

як наукове фахове видання України категорії «А», в якому можуть публікуватися результати дисертаційних робіт доктора філософії, доктора та кандидата наук. Галузь знань – охорона здоров'я (22); спеціальності: медицина – 222, педіатрія – 228, стоматологія – 221, технології медичної діагностики та лікування – 224 (наказ МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.)

### Журнал включений до

#### WEB OF SCIENCE™

та інші міжнародні наукометричні бази даних. Статті, що надходять до журналу, рецензуються за процедурою Double-blind.

### Ліцензія Creative Commons



### Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ  
протокол № 1 від 31.08.2020 р.  
Підписано до друку  
15.09.2020 р.

### Редакція:

Начальник редакційно-видавничого відділу В.М. Миклашевський  
Літературний редактор  
О.С. Савеленко  
Технічний редактор Ю.В. Полупан  
Верстка А. М. Писарєва

### Адреса редакції і видавця:

69035, Україна, м. Запоріжжя,  
пр. Маяковського, 26, ЗДМУ,  
e-mail: [med.jur@zsmu.zp.ua](mailto:med.jur@zsmu.zp.ua)  
<http://pat.zsmu.edu.ua>

### Віддруковано

у друкарні ТОВ «Х-ПРЕСС»  
69068, м. Запоріжжя,  
вул. Кругова, 165/18  
e-mail: [xpresszp@gmail.com](mailto:xpresszp@gmail.com)  
Свідоцтво про державну реєстрацію  
АОО №198468 від 01.07.1999 р.  
Формат 60x84/8.  
© Папір крейдяний, безкислотний,  
Умов. друк. арк. 6. Тираж 200 прим.  
Зам. № 8/20.

## Pathologia

Volume 17 No. 2 May – August 2020

Scientific Medical Journal. Established in October 2004  
Zaporizhzhia State Medical University

Submit papers are peer-reviewed

Maiakovskiy Avenue, 26,  
Zaporizhzhia, 69035,  
UKRAINE  
e-mail: [med.jur@zsmu.zp.ua](mailto:med.jur@zsmu.zp.ua)  
<http://pat.zsmu.edu.ua>

## Оригінальні дослідження

**Колесник Ю. М., Ісаченко М. І.**

Маркерний профіль ремоделювання міокарда при різних етіопатогенетичних формах артеріальної гіпертензії в експерименті

**Хара М. Р., Безкоровайна Г. О., Кліщ І. М., Пелих В. Є.**

Статеві відмінності холінергічних кардіальних реакцій при розвитку адреналін-індукованого некрозу міокарда на тлі світлового десинхронозу

**Тертишний С. І., Шулятнікова Т. В., Зубко М. Д.**

Патоморфологічні зміни в серці в умовах тривалого вживання алкоголю

**Михайловська Н. С., Кулинич Т. О., Шершньова О. В., Базун Є. І., Боcharnykova І. С., Падафа В. Е., Колесникова А. О., Гура Ю. В.**

Особливості клінічного та метаболічного профілю хворих на ішемічну хворобу серця, що асоційована з цукровим діабетом 2 типу (ретроспективний аналіз)

**Пашкова О. Є., Чудова Н. І.**

Оцінювання функціонального стану м'язової системи в дітей, які хворі на цукровий діабет

**Шишкін М. А., Туманський В. А., Христенко Т. А.**

Значение CD44- и ALDH1-позитивных стволовых клеток в прогрессии колоректальной аденокарциномы

**Тарашченко Ю. М., Коваленко А. Є., Остафійчук М. В., Некрасов К. А.**

BRAF-статус у цитоморфологічній діагностиці тиреоїдних вузлів

**Новицький О. М., Гайдаш І. С.**

Інтерлейкіновий і простагландиновий статус хворих на оперізувальний лишай залежно від ступеня важкості захворювання

**Живецька-Денисова А. А., Воробйова І. І., Скрипченко Н. Я., Ткаченко В. Б.**

Особливості цитокінового профілю у структурах хоріона та плаценти при передчасному перериванні вагітності

**Конакова О. В., Усачова О. В., Сіліна Є. А., Пахольчук Т. М., Дралова О. А.**

Вікові клініко-лабораторні особливості первинної Епштейна-Барр вірусної інфекції в дітей

**Григоровський В. В., Автомеєнко Є. М.**

Патологія суглобових кінців кісток і частота випадків різного ступеня ураження у хворих на ревматоїдний артрит, що ускладнений фронтальними деформаціями колінного суглоба

**Доманський А. М., Лоскутов О. Є., Хом'яков В. М.**

Причини формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба

**Скляр А. І., Коляда О. М., Вдовіченко Н. І., Коляда Т. І.**

TLR-опосередкована активація фагоцитозу моноцитів периферичної крові у хворих на розсіяний склероз

## Original research

**136 Kolesnyk Yu. M., Isachenko M. I.**

Marker profile of myocardial remodeling in different etiopathogenetic forms of arterial hypertension in the experiment

**142 Khara M. R., Bezkorovaina H. O., Klishch I. M., Pelykh V. Ye.**

Sex differences in the cardiac cholinergic response to adrenalin-induced myocardial necrosis and light desynchronization

**149 Tertyshnyi S. I., Shuliatnikova T. V., Zubko M. D.**

Heart pathomorphological changes in the long-term alcohol consumption

**156 Mykhailovska N. S., Kulynych T. O., Shershnyova O. V., Bazun Ye. I., Bocharnykova I. S., Padafa V. E., Kolesnykova A. O., Hura Yu. V.**

Peculiarities of clinical and metabolic profile of patients with coronary artery disease associated with type 2 diabetes mellitus (retrospective analysis)

**164 Pashkova O. Ye., Chudova N. I.**

Evaluation of functional state of muscular system in children with diabetes mellitus

**170 Shyshkin M. A., Tumanskyi V. O., Khrystenko T. O.**

Significance of CD44- and ALDH1-positive stem cells in colorectal adenocarcinoma progression

**178 Tarashchenko Yu. M., Kovalenko Ye. A., Ostafiichuk M. V., Nekrasov K. A.**

BRAF status in cito-morphological diagnosis of thyroid nodules

**184 Novytskyi O. M., Haidash I. S.**

Interleukin and prostaglandin status of patients with shingles depending on the severity of the disease

**191 Zhyvetska-Denysova A. A., Vorobiova I. I., Skrypchenko N. Ya., Tkachenko V. B.**

Features of the cytokine profile in the structures of chorion and placenta in premature termination of pregnancy

**202 Konakova O. V., Usachova O. V., Silina Ye. A., Pakholchuk T. M., Dralova O. A.**

Age clinical and laboratory features of primary Epstein-Barr viral infection in children

**209 Hryhorovskiy V. V., Avtomieienko Ye. M.**

Pathology of bone epiphyses and frequency of various damage degree cases in patients with rheumatoid arthritis complicated by knee joint frontal deformities

**222 Domanskyi A. M., Loskutov O. Ye., Khomiakov V. M.**

The causes of disability as a result of the elbow joint injuries

**228 Skliar A. I., Koliada O. M., Vdovichenko N. I., Koliada T. I.**

TLR-mediated activation of peripheral blood monocyte phagocytosis in patients with multiple sclerosis

## Оригінальні дослідження

**Волошанська О. О., Тертишний С. І.**

Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах

## Огляди

**Демченко А. В., Бірюк В. В.**

Сучасний погляд на потенційні біомаркери хвороби Паркінсона (огляд)

**Туманський В. А., Воротынцев С. И.,  
Туманская Л. М.**

Возрождение концепции и развитие донорства после циркуляторной смерти человека в эру трансплантации органов

**Брюханова Т. О., Загайко А. Л.,  
Литкін Д. В.**

Патофізіологічні механізми прогресування та фатальних ускладнень коронавірусної хвороби (COVID-19) у пацієнтів із цукровим діабетом

## Клінічний випадок

**Макуріна Г. І., Макачук О. І., Дмитренко І. П., Головкін А. В.,  
Чернеда Л. О.**

Клінічний випадок терапії базально-клітинної карциноми з використанням 5 % крему іміквімоду

**Рябокоть О. В., Ізбицька Н. Г., Білокобила С. О., Оніщенко Т. Є.,  
Рябокоть Ю. Ю.**

Клінічні випадки кору у вагітних

**Телушко Я. В., Перцов В. І.,  
Савченко С. І.**

Етапна хірургічна тактика в лікуванні аспергіломи легень

## Original research

**234 Voloshanska O. O., Tertyshnyi S. I.**

Pathomorphological changes of the vascular bed and the state of collateral blood flow in cerebral infarction

## Review

**241 Demchenko A. V., Biriuk V. V.**

A modern view on potential biomarkers of Parkinson's disease (review)

**248 Tumanskyi V. O., Vorotyntsev S. I.,  
Tumanska L. M.**

Revival of the concept and development of donation after human circulatory death in the era of organ transplantation

**256 Briukhanova T. O., Zagayko A. L.,  
Lytkin D. V.**

Pathophysiological mechanisms of coronavirus disease (COVID-19) progression and fatal complications in patients with diabetes

## Case report

**264 Makurina H. I., Makarchuk O. I., Dmytrenko I. P., Holovkin A. V.,  
Cherneda L. O.**

Clinical case of basal cell carcinoma therapy using 5 % imiquimod cream

**269 Riabokon O. V., Izbytska N. H., Bilokobyla S. O.,  
Onishchenko T. Ye., Riabokon Yu. Yu.**

Clinical cases of measles in pregnant women

**275 Tielushko Ya. V., Pertsov V. I.,  
Savchenko S. I.**

Stage surgical tactics in the treatment of pulmonary aspergilloma

## Міжнародна індексація журналу / Indexing

**Web of Science:** <http://science.thomsonreuters.com/cgi-bin/jmlst/jlresults.cgi?PC=MASTER&ISSN=2306-8027>

**Ulrich's Periodicals Directory (США)**

**WorldCat (США):** [http://www.worldcat.org/title/pathologia/oclc/260006269&referer=brief\\_results](http://www.worldcat.org/title/pathologia/oclc/260006269&referer=brief_results)

**The National Library of Medicine (США):** [http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search\\_Code=JALL&L=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItXUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3](http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&L=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItXUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3)

**The National Center for Biotechnology Information:** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101470944>

**WORLDWIDE ELIBRARY(США):** <http://www.sciary.com/journal-scientific-pathologia-article-77962>

**getCITED (США):** <http://www.getcited.org/pub/103524559>

**BASE (Bielefeld Academic Search Engine) (ФРН):** <http://www.base-search.net/Search/Results?lookfor=%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F&type=all&oaboost=1&ling=1&name=&thes=&refid=dcesde&newsearch=1>

**JournalTOCs (Великобританія):** [http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&page=1&userQueryID=&sort=&local\\_page=1&sortBy=&sortCol=1](http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&page=1&userQueryID=&sort=&local_page=1&sortBy=&sortCol=1)

**CiteFactor (США):** [http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd\\_smg](http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd_smg)

**Google Scholar (Академія):** [http://scholar.google.com.ua/scholar?q=%D0%B6%D1%83%D1%80%D0%BD%D0%B0%D0%BB+%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%2C+Pathologia&btnG=&hl=ru&as\\_sdt=1%2C5&as\\_ylo=2014&as\\_vis=1](http://scholar.google.com.ua/scholar?q=%D0%B6%D1%83%D1%80%D0%BD%D0%B0%D0%BB+%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%2C+Pathologia&btnG=&hl=ru&as_sdt=1%2C5&as_ylo=2014&as_vis=1)

**Index Copernicus (Польща):** <http://www.journals.indexcopernicus.com/Pathologia,p5665,3.html>

**DOAJ (Великобританія):** <https://doaj.org/toc/2310-1237>

# Маркерний профіль ремоделювання міокарда при різних етіопатогенетичних формах артеріальної гіпертензії в експерименті

Ю. М. Колесник <sup>A,F</sup>, М. І. Ісаченко <sup>\*B,C,D,E</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

## Ключові слова:

ремоделювання, міокард, лівий шлуночок, маркери, анексин V, тайтин, кардіотрофін-1, колаген I типу, морфоденситометрія, щури, артеріальна гіпертензія.

## Патологія. 2020.

Т. 17, № 2(49).

С. 136-141

## \*E-mail:

[fedotova@zsmu.pp.ua](mailto:fedotova@zsmu.pp.ua)

**Мета роботи** – визначити морфоденситометричні показники кардіоміоцитів і характер маркерного профілю ремоделювання в міокарді лівого шлуночка щурів з експериментальною артеріальною гіпертензією залежно від її етіопатогенетичної форми.

**Матеріали та методи.** Дослідження виконали на 20 щурах-самцях лінії Wistar і 10 щурах SHR віком 7–8 місяців, яких поділили на 3 групи по 10 тварин у кожній: 1 – контрольна; 2 – щури лінії SHR, аналог есенціальної артеріальної гіпертензії (ЕАГ) у людини; 3 – щури лінії Wistar зі змодельованою вторинною ендокринно асоційованою артеріальною гіпертензією (ЕСАГ). Усім щурам вимірювали артеріальний тиск. Об'єкти дослідження – зрізи міокарда, в яких імунофлуоресцентним методом визначали вміст імунореактивного матеріалу до маркерів ремоделювання (кардіотрофін-1, тайтину, колагену I типу, анексину V), розраховували тайтин/колагеновий коефіцієнт, морфоденситометричним методом визначали кількість і середній лінійний розмір ядер кардіоміоцитів, їхню щільність, концентрації РНК в ядрі та цитоплазмі.

**Результати.** Для сформованої артеріальної гіпертензії, незалежно від її етіопатогенетичної форми, притаманне збільшення кількості ядер кардіоміоцитів зі збільшенням їхніх розмірів, зниження щільності ядер і зменшення в них концентрації РНК на тлі підвищення в цитоплазмі. У щурів з ЕАГ вміст кардіотрофін-1 виявився більшим за контроль на 27 %, а в ЕСАГ – на 80 %. Рівні тайтину вищі на 12 % в ЕАГ і на 46 % в ЕСАГ. Вміст колагену I типу в щурів з ЕАГ більший за контроль на 49 %, а у групі з ЕСАГ – на 68 %. У щурів з ЕАГ встановили вищий вміст анексину V на 58 %, а в ЕСАГ – на 64 %. Коефіцієнт співвідношення вмісту тайтину та колагену I типу в щурів контролю становив 1,01; у щурів з ЕАГ знизився до 0,76, а у щурів ЕСАГ дорівнював 1,3.

**Висновки.** Формування артеріальної гіпертензії, незалежно від її етіопатогенетичної форми, призводить до розвитку патологічного ремоделювання міокарда. На це вказують збільшені показники маси серця та його питомої густини, зміни цитоархітекtonіки кардіоміоцитів із розвитком поліморфізму ядер, збільшення їхнього розміру та кількості, що супроводжується ядерною дисфункцією. Маркерний профіль ремоделювання міокарда в щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією характеризується помірним збільшенням кардіотрофін-1 і тайтину на тлі суттєвого підвищення колагену I типу та анексину V, що в поєднанні з низьким коефіцієнтом тайтин/колаген I типу вказує на міокардальний фіброз із підвищенням жорсткості серцевого м'яза та розвитком гіпертрофічно-фіброзного типу ремоделювання міокарда з помірним апоптозом. У щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією маркерний профіль ремоделювання міокарда характеризується значущим збільшенням усіх 4 імуногістохімічних маркерів, помірним фіброзом і підвищенням тайтин/колагенового співвідношення, що притаманне гіпертрофічно-апоптотичному типу патологічного ремоделювання міокарда.

## Key words:

ventricular remodeling, myocardium, left ventricle, biomarkers, annexin V, titin, cardiotrophin-1, type I collagen, morphodensitometry, rats, hypertension.

## Pathologia

2020; 17 (2), 136-141

## Marker profile of myocardial remodeling in different etiopathogenetic forms of arterial hypertension in the experiment

Yu. M. Kolesnyk, M. I. Isachenko

**The aim** was to determine the morphodensitometric parameters of cardiomyocytes and features of the marker profile of remodeling in the left ventricular myocardium of rats with experimental hypertension of different etiopathogenetic forms.

**Materials and methods.** The experiment was conducted on 20 male Wistar rats and 10 SHR which were divided into two groups of 10 animals each: the 1<sup>st</sup> – control; the 2<sup>nd</sup> – rats of the SHR line (EAH); the 3<sup>rd</sup> – 10 male Wistar rats with endocrine-salt arterial hypertension. Systolic and diastolic BP levels were measured in all the rats using the system of non-invasive arterial pressure measurement BP-2000. The objects of the study were myocardial sections in which the content of immunoreactive material to remodeling markers (cardiotrophin-1, titin, collagen type I, annexin V) was determined by the immunofluorescent method, titin / collagen ratio was calculated, the average linear size of cardiomyocyte nuclei, their density, RNA concentrations in the nucleus and cytoplasm were determined by morphodensitometric method.

**Results.** Arterial hypertension, regardless of its etiopathogenetic form, is characterized by an increase in the number of cardiomyocyte nuclei with an increase in their size, decrease in the density and decrease in their RNA concentration against increase in the cytoplasm. In rats with EAH, the content of cardiotrophin-1 was higher than the control by 27 %, and in ESAH by 80 %. Titin levels were 12 % higher in EAH and 46 % in ESAH. The collagen type I content of EAH was higher than the control by 49 %, while in the group with ESAH by 68 %. EAH rats had a higher annexin V content by 58 %, while ESAH – 64 %. The ratio of the content of titin and type I collagen in control rats was 1.01, in rats with EAH decreased to 0.76, while in rats ESAH it was 1.3.

**Conclusions.** The formation of arterial hypertension, regardless of its etiopathogenetic form, leads to the development of pathological myocardial remodeling, as indicated by increased heart mass and specific gravity, changes in the cytoarchitectonics of cardiomyocytes, the development of polymorphism of their nuclei with increasing size against increasing of its number with nuclear dysfunction. The marker profile of myocardial remodeling in rats with essential hypertension is characterized by a moderate increase in cardioporphin-1 and titin, with a significant increase in collagen type I and annexin V, which in combination with a low ratio of titin / collagen type indicates fibrosis with increased myocardial stiffness and the development of hypertrophic-fibrous type of myocardial remodeling with moderate apoptosis. In rats with endocrine-salt arterial hypertension, the marker profile of myocardial remodeling is characterized by a significant increase in all 4 immunohistochemical markers of remodeling, moderate fibrosis and an increase in the titin / collagen ratio, which is characteristic of hypertrophic-apoptotic type of pathological remodeling.

## Маркерный профиль ремоделирования миокарда при различных этиопатогенетических формах артериальной гипертензии в эксперименте

Ю. М. Колесник, М. И. Исаченко

**Цель работы** – определить морфоденситометрические показатели кардиомиоцитов и характер маркерного профиля ремоделирования в миокарде левого желудочка крыс с экспериментальной артериальной гипертензией в зависимости от ее этиопатогенетической формы.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на 20 крысах-самцах линии Wistar и 10 крысах SHR в возрасте 7–8 месяцев, разделенных на 3 группы по 10 животных в каждой: 1 – контрольная; 2 – крысы линии SHR, аналог эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) у человека; 3 – крысы линии Wistar, которым моделировали вторичную эндокринно ассоциированную артериальную гипертензию (ЭСАГ). Всем крысам измеряли артериальное давление. Объекты исследования – срезы миокарда, в которых иммунофлуоресцентным методом определяли содержание иммунореактивного материала к маркерам ремоделирования (кардиотрофин-1, тайтин, коллаген I типа, аннексин V), рассчитывали тайтин / коллагеновый коэффициент, морфоденситометрическим методом определяли количество и средний линейный размер ядер кардиомиоцитов, их плотность, концентрации РНК в ядре и цитоплазме.

**Результаты.** Для артериальной гипертензии, независимо от ее этиопатогенетической формы, присуще увеличение количества ядер кардиомиоцитов с увеличением их размеров, снижение плотности ядер и уменьшение в них концентрации РНК на фоне повышения в цитоплазме. У крыс с ЭАГ содержание кардиотрофина-1 больше контроля на 27 %, а в ЭСАГ – на 80 %. Уровни тайтина выше на 12 % у ЭАГ и на 46 % у крыс с ЭСАГ. Содержание коллагена I типа у ЭАГ больше контроля на 49 %, а в группе с ЭСАГ – на 68 %. У крыс с ЭАГ установлены большие показатели содержания аннексина V на 58 %, а у ЭСАГ – на 64 %. Коэффициент соотношения содержания тайтина и коллагена I типа у крыс контроля составлял 1,01, у крыс с ЭАГ снизился до 0,76, а у крыс с ЭСАГ равен 1,3.

**Выводы.** Формирование артериальной гипертензии, независимо от этиопатогенетической формы, приводит к развитию патологического ремоделирования миокарда. На это указывают увеличенные показатели массы сердца и его удельной плотности, изменения цитоархитектоники кардиомиоцитов, развитие полиморфизма ядер с увеличением размера и их количества, что сопровождалось ядерной дисфункцией. Маркерный профиль ремоделирования миокарда у крыс с эссенциальной артериальной гипертензией характеризуется умеренным увеличением кардиотрофина-1 и тайтина на фоне повышения коллагена I типа и аннексина V, что в сочетании с низким коэффициентом тайтин / коллаген I типа указывает на миокардиальный фиброз с повышением жесткости сердечной мышцы и развитием гипертрофически-фиброзного типа ремоделирования миокарда с умеренным апоптозом. У крыс с эндокринно-солевой артериальной гипертензией маркерный профиль ремоделирования миокарда характеризуется значительным увеличением всех 4 иммуногистохимических маркеров ремоделирования, умеренным фиброзом и повышением тайтин / коллагенового соотношения, что характерно для гипертрофически-апоптотического типа патологического ремоделирования миокарда.

**Ключевые слова:** ремоделирование, миокард, левый желудочек, маркеры, аннексин V, тайтин, кардиотрофин-1, коллаген I типа, морфоденситометрия, крысы, артериальная гипертензия.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 136-141

Відомо, що серцево-судинні захворювання (ССЗ) супроводжуються патологічним ремоделюванням органів-мішеней, особливо цих змін зазнає міокард лівого шлуночка серця. Артеріальна гіпертензія – одна з причин, що викликає патологічне ремоделювання міокарда (ПРМ). ПРМ включає структурно-функціональні зміни компонентів міокарда у відповідь на гемодинамічні, механічні, нейрогуморальні, запальні та окислювальні впливи. Однією з перших змін міокарда у відповідь на посилення постнавантаження є розвиток гіпертрофії, що спрямована на підтримку серцевого викиду. Згодом через тривалий вплив стресу відбувається порушення інотропної/люзитропної функцій, прогресування дисфункції лівого шлуночка та розвиток серцевої недостатності [1].

Для ефективного діагностування та якісного прогнозу перебігу захворювань серцево-судинної

системи необхідно не тільки виявлення ПРМ. Як «золотий стандарт» пропонують визначення характеру та спрямованості перебудови «геометрії» серця за співвідношенням діагностичних маркерів: кардіотрофіну-1 (який є не тільки маркером ПРМ, але й незалежним предиктором серцевих подій у пацієнтів із серцевою недостатністю [2]), колагену I типу (показник фіброзу міокарда [3]), тайтину (гігантського білка, що входить до складу саркомера кардіомиоцитів, забезпечуючи його цілісність і модулюючи пасивне напруження [4]) та аннексину V (вважають перспективним маркером молекулярної візуалізації апоптозу [5]).

Встановили, що для отримання цілісної картини ПРМ важливим є не стільки дослідження кожного з названих маркерів, скільки їхнє комплексне визначення з аналізом числових характеристик та особливостей співвідношення [6].

## Мета роботи

Дослідити морфоденситометричні показники кардіоміоцитів і характер маркерного профілю в міокарді лівого шлуночка щурів з експериментальною артеріальною гіпертензією залежно від її етіопатогенетичної форми.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на 20 щурах-самцях лінії Wistar і 10 щурах SHR, віком 7–8 місяців, яких поділили на 3 групи по 10 тварин у кожній: 1 – контрольна; 2 – щури лінії SHR, аналог есенціальної артеріальної гіпертензії (ЕАГ) у людини; 3 – щури лінії Wistar зі змодельованою вторинною ендокринно асоційованою артеріальною гіпертензією (ендокринно-сольова ЕСАГ). Для її відтворення тваринам протягом 30 днів двічі на добу інтраперитонеально вводили преднізолон о 7:00 у дозі 2 мг/кг і о 20:00 у дозі 4 мг/кг з одночасним примусовим випоюванням 5 мл 2,3 % розчину NaCl [7]. Щурам експериментальних груп вимірювали систолічний і діастолічний артеріальний тиск (АТ) за допомогою системи неінвазивної реєстрації артеріального тиску ВР-2000 (Visitech Systems, USA). Перше вимірювання АТ здійснили на етапі формування груп, наступні – на 7, 14 та 30 добу. Середнє значення АТ у щурів складалося з серійних вимірювань АТ (не менше ніж 7–10 реєстрацій з інтервалом 1,5–2,0 хв). В автоматичному режимі, згідно з програмним забезпеченням від виробника, розраховували показник середнього АТ (сАТ) за формулою:  $sAT = (2 \text{ (діастолічний АТ)} + \text{сistolічний АТ}) / 3$ . У щурів контрольної групи сАТ становив  $83,75 \pm 0,96$  мм рт. ст., в ЕАГ –  $125,78 \pm 1,12$  мм рт. ст., в ЕСАГ –  $137,77 \pm 1,23$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ).

Експериментальну частину дослідження виконали відповідно до національних «Спільних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з директивою 2010/63ЕУ Ради Європейського парламенту від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, яких використовують для наукових цілей, та законодавством України [8].

Дослідження здійснили на базі Навчального медико-лабораторного центру (НМЛЦ) Запорізького державного медичного університету.

Усі прилади, що використали для дослідження, сертифіковані щорічною метрологічною експертизою (свідоцтво про технічну компетентність № 033/18 від 25.12.2018, чинне до 25.12.2023; лабораторія експериментальної патофізіології, ліцензія 2СК2 УМК2 Т6РВ SG5N SJLS4).

Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (45 мг/кг ваги, внутрішньоочеревинно). Після виведення з експерименту вилучені серця щурів зважували та вимірювали показник питомої маси (густини). У щурів контрольної групи маса серця становила  $0,722 \pm 0,032$  г, густина –  $1,724 \pm 0,070$  г/см<sup>3</sup>. У щурів з ЕАГ –  $0,947 \pm 0,040$  г і  $2,057 \pm 0,133$  г/см<sup>3</sup>, а в щурів з ЕСАГ –  $0,920 \pm 0,054$  г і  $1,899 \pm 0,062$  г/см<sup>3</sup> відповідно ( $p < 0,05$ ). Для морфоденситометричних та імуногістохімічних досліджень виділяли фраг-

менти міокарда лівого шлуночка серця, котрі після стандартної гістологічної підготовки фіксували в парапластових блоках і готували на ротачійному мікроскопі Microm-325 (MicromCorp, ФРН) 5 мкм серійні зрізи міокарда.

Для диференційної діагностики основних типів патологічного ремоделювання міокарда за рекомендаціями [9] здійснили комплексний морфоденситометричний та імуногістохімічний аналіз паренхіматозно-стромальної перебудови міокарда.

Для визначення кількості та середнього лінійного розміру ядер кардіоміоцитів (мкм), їхньої щільності (мкм<sup>2</sup>), концентрації РНК в ядрі та цитоплазмі (Oog) зрізи забарвлювали протягом 48 годин галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном, фіксуючи препарати в синтетичній суміші ЕУКІТТ (Balsamo, ФРН). В інтерактивному режимі на фотофайлах, що зроблені на мікроскопі AxioScope (Carl Zeiss, ФРН) у програмному забезпеченні AxioVision 40 V 4.8.2.0 (№ ліцензії 3005339) за допомогою програмно заданого скейлінгу, що перераховує пікселі у мкм, визначали параметри у програмному забезпеченні «ImageJ» (National Institutes of Health, USA) з розрахунком цільових показників у табличному процесорі Excel.

Для вивчення вмісту імунореактивного матеріалу (ІРМ) до маркерів ремоделювання використовували первинні козячі поліклональні антитіла до колагену I типу (COL1A1 (C-18): sc-8784), козячі поліклональні антитіла до кардіотрофіну-1 (Cardiotrophin-1 (N-20): sc-20867), козячі поліклональні антитіла до анексину V (Annexin V (R-20): sc-1929). Мишачі антитіла до IgG кози, кон'юговані з FITC: sc-2356 використовували як вторинні антитіла до названих маркерів. Для вивчення тайтину використовували первинні мишачі моноклональні антитіла Titin (E-2): sc-271946, вторинні – мишачі антитіла до IgG кроля, кон'юговані з FITC: sc-2359. Усі антитіла виробництва Santa Cruz biotechnology, Inc. використовували у розведенні 1:200. Для виявлення схильності до прогресування фібротичних змін розраховували коефіцієнт співвідношення між вмістом тайтину та колагену I типу [10].

У зрізах міокарда дослідження ІРМ виконали в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм зі світлофільтром 38HE з високою емісією (Carl Zeiss, ФРН) на мікроскопі AxioScope (Carl Zeiss, ФРН) у програмному забезпеченні AxioVision 40 V 4.8.2.0. Під час аналізу зображення в інтерактивному режимі виділяли зони зі статистично значущою флуоресценцією, що аналізували у програмному забезпеченні ImageJ із розрахунком цільових показників у Excel. Досліджували не менше ніж 100 полів зору з кожної серії.

Усі статистичні обчислення виконали в табличному процесорі Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., USA). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії та помилки середньої (m). Для виявлення вірогідності відмінностей результатів досліджень в експериментальних і контрольних групах щурів обчислювали коефіцієнт Стюдента (t), після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Стюдента. Вірогідними вважали значення, для яких  $p < 0,05$  [11].

## Результати

Аналізуючи результати, визначили, що у групі щурів з ЕАГ кількість ядер у кардіоміоцитах порівняно з контролем була вірогідно більшою на 63 %, а в щурів ЕСАГ – на 138 % (табл. 1).

Такі зміни супроводжувалися вірогідно більшими розмірами ядер у щурів ЕАГ на 66 %, а в ЕСАГ на 38 % порівняно з контролем (табл. 1), що позначилося на загальній площі ядер і призвело до меншої їхньої щільності в ЕАГ на 84 %, в ЕСАГ на 80 % порівняно з контрольними значеннями (табл. 1).

Дослідження концентрації РНК в ядрі та цитоплазмі кардіоміоцитів в щурів з ЕАГ показало її збільшення в цитоплазмі на 19 % порівняно з контролем, у ядрі – зменшення на 44 % (табл. 1). У групі з ЕСАГ концентрація РНК в ядрі менша за контрольні значення на 69 %, у цитоплазмі – більша на 43 % (табл. 1).

Результати імунофлуоресцентного дослідження вмісту маркерів ПРМ наведені на рис. 1.

Аналіз результатів показав: у щурів з ЕАГ вміст ІРМ до кардіотрофіну-1 вірогідно більший за контроль на 27 %, а в щурів з ЕСАГ перевищував показник контролю на 80 %. Вміст анексину V у щурів груп з ЕАГ та ЕСАГ приблизно однаковий, перевищував контрольні значення на 58 % і на 64 % відповідно. У групі з ЕАГ виявили вірогідно вищий показник вмісту ІРМ до колагену I типу на 49 %, а в щурів з ЕСАГ переважав на 68 %. Вміст тайтину в щурів з ЕАГ порівняно з контролем вірогідно більший на 12 %, а у групі ЕСАГ переважав на 116 % (рис. 1).

Коефіцієнти співвідношення між вмістом тайтину та колагену I типу в щурів експериментальних груп показали протилежні відмінності. Так, якщо в контролі він становив 1,01, то в щурів ЕАГ знизився до 0,76, а в щурів з ЕСАГ був більшим і дорівнював 1,3.

## Обговорення

Експериментальне дослідження показало: під час формування артеріальної гіпертензії, незалежно від її етіопатогенетичної форми, розвивається ПРМ. Відбуваються очікувані зміни цитоархітекtonіки кардіоміоцитів, розвиток поліморфізму їхніх ядер зі збільшенням розміру на тлі збільшення кількості, що супроводжується ядерною дисфункцією. Визначили порушення паренхіматозно-стромальних зв'язків, про що свідчило збільшення вмісту маркерів ремоделювання – кардіотрофіну-1, колагену I типу, тайтину та анексину V.

Відзначимо, що обрані моделі артеріальної гіпертензії – це її дві патогенетично різні форми, тому зміни маркерного профілю ПРМ, хоча і дещо подібні, але мають важливі відмінності та, безумовно, пов'язані з патогенетичними особливостями моделей. Багато дослідників експериментально довели: в щурів з ЕАГ артеріальна гіпертензія розвивається поступово і спонтанно у віці 4–5 тижнів унаслідок підвищення периферичного опору судин і зниження їхньої чутливості до гуморальних факторів регуляції тонуусу.

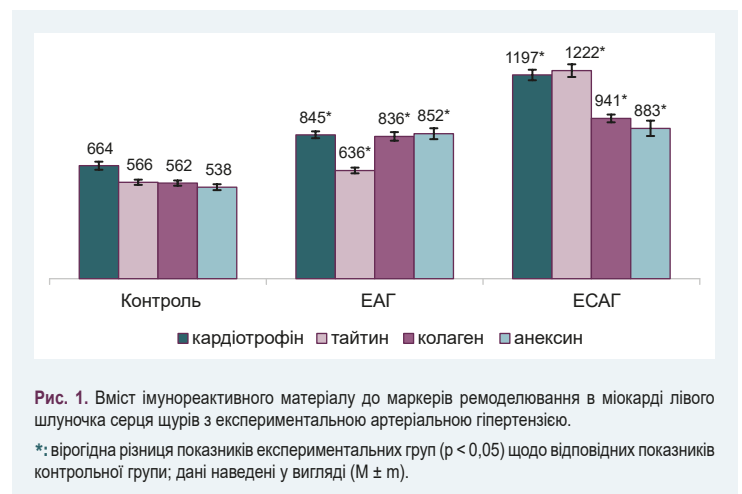
У дослідженнях J. Li et al. доведено: гіпертрофія та фіброз у міокарді щурів лінії SHR розвиваються

**Таблиця 1.** Морфоденситометричні характеристики міокарда щурів з експериментальною артеріальною гіпертензією,  $M \pm m$

Показник, одиниці вимірювання	Групи	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Кількість ядер у кадрі		587 ± 18	960 ± 20 <sup>1</sup>	1394 ± 14 <sup>1,2</sup>
Розмір ядра кардіоміоцита, мкм		1,268 ± 0,017	2,108 ± 0,021 <sup>1</sup>	1,755 ± 0,011 <sup>1,2</sup>
Щільність ядер, мкм <sup>2</sup>		215,4 ± 8,2	33,8 ± 0,5 <sup>1</sup>	42,2 ± 0,7 <sup>1,2</sup>
Концентрація РНК в ядрах кардіоміоцитів, Оог		0,241 ± 0,007	0,134 ± 0,003 <sup>1</sup>	0,075 ± 0,001 <sup>1,2</sup>
Концентрація РНК у цитоплазмі кардіоміоцитів, Оог		0,052 ± 0,001	0,062 ± 0,001 <sup>1</sup>	0,074 ± 0,001 <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>: вірогідна різниця показників ЕАГ та ЕСАГ ( $p < 0,05$ ) щодо показників контрольної групи;

<sup>2</sup>: вірогідна різниця показників ЕСАГ ( $p < 0,05$ ) щодо показників групи ЕАГ.



**Рис. 1.** Вміст імунореактивного матеріалу до маркерів ремоделювання в міокарді лівого шлуночка серця щурів з експериментальною артеріальною гіпертензією.

\*: вірогідна різниця показників експериментальних груп ( $p < 0,05$ ) щодо відповідних показників контрольної групи; дані наведені у вигляді ( $M \pm m$ ).

тільки за 6–7 місяців, а до цього є метаболічний та енергетичний дисбаланс, що, ймовірно, і проковує розвиток гіпертрофії [12, 13].

На відміну від щурів SHR (модель ЕАГ), у щурів з ЕСАГ індуковано тяжчу та комбіновану форми ПРМ. У них через багаторазове та тривале використання преднізолону сформувалась артеріальна гіпертензія, подібна вторинній ендокринно асоційованій АГ людини. В її патогенезі через стимулювання мінералокортикоїдних рецепторів нирок відбувається затримка натрію та води зі збільшенням ОЦК, а також посилення пресорної відповіді з розвитком дисбалансу між вазоконстрикцією та дилатацією [14]. Через це ПРМ у щурів з ЕСАГ є результатом не тільки перевантаження тиском та об'ємом із розвитком гіпертрофії, але і прямою кардіодепресивною дією стероїдів із розвитком фіброзу [15]. Підтвердження цього – виявлені вищі показники вмісту кардіотрофіну-1 у щурів з ЕСАГ порівняно з ЕАГ. Цей факт також підтверджується дослідженнями Е. Martínez-Martínez, в яких на моделі Dahl сильночутливих гіпертензивних щурів із діастолічною дисфункцією показано: кардіотрофін-1 підвищує рівень галектину-3, котрий опосередковує прозапальні та профібротичні ефекти в міокарді [16].

Цікавим виявилось поєднання високих показників вмісту кардіотрофіну-1 зі збільшеним вмістом колагену I типу в щурів з ЕАГ на 49 % та на 68 % в ЕСАГ. Прямий взаємозв'язок між цими маркерами доведено в дослідженнях Т. Watanabe et al., де надмірне

вираження кардіотрофіну-1 асоціюється з фіброзом міокарда та посиленням експресії колагену I типу в пацієнтів з артеріальною гіпертензією та серцевою недостатністю [17]. За даними L. Li et al., профіль експресії фібрилярних колагенів на ранній стадії показує поширеність колагену III типу, але саме колаген I типу забезпечує інтенсивнішу та тривалішу регуляцію як на компенсаторній, так і на декомпенсаційній стадіях [18].

Цілісну картину ступеня фіброзу та змін жорсткості міокарда можна отримати за умови дослідження вмісту тайтину та визначення тайтин-колагенового співвідношення. У дослідженні отримали вірогідно вищі показники вмісту тайтину в ЕАГ на 12 % порівняно з контролем. Wagen S. M. et al. пов'язують збільшення його експресії з дисбалансом ізоформ (менше N2BA та більша кількість N2B), що призводить до більшого пасивного напруження при розтягуванні довжини саркомера [19].

У дослідженні в щурів з ЕАГ підвищення вмісту тайтину супроводжувалося зниженням коефіцієнта його співвідношення з колагеном I типу порівняно з контролем, що вказує на поступове формування фіброзу з підвищенням жорсткості міокарда. Значуще збільшення вмісту тайтину в щурів з ЕСАГ відбулося на тлі підвищення коефіцієнта тайтин-колагенового співвідношення, що свідчить про можливе компенсаторне збільшення тайтину. На думку Arantxa Gonzalez et al., збільшення вмісту тайтину – результат зменшення здатності лівого шлуночка до розтягнення, що є результатом ізоформного дисбалансу, його фосфорилювання та окислення [20].

Дослідження анексину V як ключового маркера апоптозу кардіоміоцитів при ПРМ включені в усі патоморфологічні рекомендації [21]. Апоптоз як компонент ПРМ, хоча і не є головним механізмом загибелі кардіоміоцитів при серцевій патології, інформативний на ранніх стадіях розвитку хвороби, що є підґрунтям для використання його у скринінгу пацієнтів, особливо при латентному перебігу ССЗ [22]. Визначення в дослідженні маркера апоптозу анексину V показало: високосольова дієта та пошкоджувальний вплив стероїдів помітно посилили ураження серця в щурів з ЕСАГ. Про це свідчив більший вміст анексину V порівняно зі щурами з ЕАГ на 34 %, порівняно з контрольними значеннями – на 64 %. Nayaakawa Y. et al. пов'язують такі зміни зі стимуляцією серцевих рецепторів до реніну й ангіотензину II, підвищення тканинного прореніну, реніну, ангіотензиногену, активації ERK1/2, TGF- $\beta$ , p38MAPK та HSP27 при підвищеному артеріальному тиску [23].

## Висновки

1. Формування артеріальної гіпертензії, незалежно від її етіопатогенетичної форми, призводить до розвитку патологічного ремоделювання міокарда. На це вказують збільшені показники маси серця та його питомої густини, зміни цитоархітекtonіки кардіоміоцитів із розвитком поліморфізму ядер, збільшення їхнього розміру та кількості, що супроводжується ядерною дисфункцією.

2. Маркерний профіль ремоделювання міокарда в щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією

характеризується помірним збільшенням кардіотрофіну-1 та тайтину на тлі істотного підвищення колагену I типу й анексину V, що в поєднанні з низьким коефіцієнтом тайтин/колаген I типу вказує на міокардальний фіброз із підвищенням жорсткості серцевого м'язу та розвиток гіпертрофічно-фіброзного типу ремоделювання міокарда з помірним апоптозом.

3. У щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією маркерний профіль ремоделювання міокарда характеризується суттєвим збільшенням усіх 4 імуногістохімічних маркерів ремоделювання, помірним фіброзом і підвищенням тайтин/колагенового співвідношення, що притаманне гіпертрофічно-апоптотичному типу патологічного ремоделювання міокарда.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 06.07.2020

Після доопрацювання / Revised: 15.07.2020

Прийнято до друку / Accepted: 30.07.2020

## Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: [0000-0002-1556-5085](https://orcid.org/0000-0002-1556-5085)

Ісаченко М. І., очний аспірант каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3026-1012](https://orcid.org/0000-0002-3026-1012)

## Information about authors:

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

Isachenko M. I., MD, Postgraduate student of the Department of Pathophysiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Исаченко М. И., очный аспирант каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] The Hypertensive Myocardium: From Microscopic Lesions to Clinical Complications and Outcomes / M. U. Moreno, R. Eiros, J. J. Gavira et al. *The Medical clinics of North America*. 2017. Vol. 101, Iss. 1. P. 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.08.002>
- [2] Plasma cardiostrophin-1 levels are associated with hypertensive heart disease: a meta-analysis / K. Song, S. Wang, B. Huang et al. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)*. 2014. Vol. 16, Iss. 9. P. 686-692. <https://doi.org/10.1111/jch.12376>
- [3] Morphological and Functional Characteristics of Animal Models of Myocardial Fibrosis Induced by Pressure Overload / Y. Ding, Y. Wang, Q. Jia et al. *International Journal of hypertension*. 2020. Vol. 2020. P. 3014693. <https://doi.org/10.1155/2020/3014693>
- [4] Fibrillar Type I Collagen Enhances the Differentiation and Proliferation of Myofibroblasts by Lowering  $\alpha 2\beta 1$  Integrin Expression in Cardiac Fibrosis / J. Hong, M. Chu, L. Qian et al. *BioMed research international*. 2017. Vol. 2017. P. 1790808. <https://doi.org/10.1155/2017/1790808>
- [5] Kabakov A. E., Gabai V. L. Cell Death and Survival Assays. *Methods in molecular biology*. 2018. Vol. 1709. P. 107-127. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1_9)
- [6] Колесник Ю. М., Колесник М. Ю., Абрамов А. В. Маркери ремоделювання міокарда щурів при артеріальній гіпертензії та експериментальному цукровому діабеті: роль мітохондріальної дисфункції. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3. С. 18-27.



- [7] Пат. 102234 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання симптоматичної артеріальної гіпертензії у дрібних гризунів / Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, А. В. Абрамов, Т. В. Іваненко, С. В. Тіщенко, Н. В. Кузьо. № u201503152; заявл. 06.04.15; опубл. 26.10.15, бюл. № 20.
- [8] Про захист тварин від жорсткого поводження : Закон України від 21.02.2006 № 3447-IV. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
- [9] Імуногістохімічна і морфо-денситометрична діагностика патологічного ремоделювання міокарда при артеріальній гіпертензії та цукровому діабеті (Методичні рекомендації) / Ю. М. Колесник, М. Ю. Колесник, А. В. Абрамов, В. О. Туманський, О. В. Ганчева. Київ, 2015. 25 с.
- [10] Колесник, М. Ю. Особенности экспрессии регуляторного белка тайина и коллагена I типа в миокарде спонтанно гипертензивных крыс с экспериментальным сахарным диабетом. *Патология*. 2013. № 2. С. 31-35. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2013.2.17365>
- [11] Зайцев В. М., Лифляндский В. Г., Маринкин В. И. Прикладная медицинская статистика. СПб. : Аврора, 2003. 432 с.
- [12] Animal models for the study of primary and secondary hypertension in humans / H. Y. Lin, Y. T. Lee, Y. W. Chan, G. Tse. *Biomedical reports*. 2016. Vol. 5, Iss. 6. P. 653-659. <https://doi.org/10.3892/br.2016.784>
- [13] Metabolic Changes in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts Precede Cardiac Dysfunction and Left Ventricular Hypertrophy / J. Li, B. A. Kemp, N. L. Howell et al. *Journal of the American Heart Association*. 2019. Vol. 8, Iss. 4. P. e010926. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.010926>
- [14] Глюкокортикоиды и артериальная гипертензия у реципиентов внутренних органов / Е. Д. Космачева, С. М. Мартиросян, Н. А. Зубарева, А. Э. Бабич. *Инновационная медицина Кубани*. 2017. Т. 8, № 4. С. 60-64.
- [15] Frangogiannis N. G. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Molecular aspects of medicine*. 2019. Vol. 65. P. 70-99. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.07.001>
- [16] CT-1 (Cardiotrophin-1)-Gal-3 (Galectin-3) Axis in Cardiac Fibrosis and Inflammation / E. Martínez-Martínez, C. Brugnolaro, J. Ibarrola et al. *Hypertension*. 2019. Vol. 73, Iss. 3. P. 602-611. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11874>
- [17] Watanabe T., Konii H., Sato K. Emerging Roles of Cardiotrophin-1 in the Pathogenesis and Biomarker of Atherosclerosis. *J*. 2018. Vol. 1, Iss. 1. P. 94-105. <https://doi.org/10.3390/j1010010>
- [18] Li L., Zhao Q., Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. *Matrix biology*. 2018. Vol. 68-69. P. 490-506. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.013>
- [19] Titin isoform expression in normal and hypertensive myocardium / C. M. Warren, M. C. Jordan, K. P. Roos et al. *Cardiovascular research*. 2003. Vol. 59, Iss. 1. P. 86-94. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00328-6](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00328-6)
- [20] Myocardial Remodeling in Hypertension / A. González, S. Ravassa, B. López et al. *Hypertension*. 2018. Vol. 72, Iss. 3. P. 549-558. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11125>
- [21] Leung K. 99mTc-Hydrazinonitotinamide-annexin V. *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information, 2006. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK23472/>
- [22] Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018 / L. Galluzzi, I. Vitale, S. A. Aaronson et al. *Cell death and differentiation*. 2018. Vol. 25, Iss. 3. P. 486-541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- [23] High salt intake damages the heart through activation of cardiac (pro) renin receptors even at an early stage of hypertension / Y. Hayakawa, T. Aoyama, C. Yokoyama et al. *PLoS one*. 2015. Vol. 10, Iss. 3. P. e0120453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120453>
- [7] Kolesnyk, Y. M., Hancheva, O. V., Abramov, A. V., Ivanenko, T. V., Tyschenko, S. V., & Kuzio, N. V. (2015). *Sposib modelivannia symptomatichnoi arterialnoi hipertenzii u drubnykh hryzuniv* [Method for modeling symptomatic hypertension in rodents]. Ukraine Patent UA 102234. <https://base.uipv.org/searchNV/search.php?action=viewdetails&idClaim=217102>
- [8] Verkhovna Rada of Ukraine. (2006, February 21). *Pro zakhyst tvaryn vid zhorstkoho povodzhennia* : zakon Ukrainy 21.02.2006 [On the Protection of Animals from Brutal Treatment (No. 3447-IV)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15?lang=en#Text>
- [9] Kolesnyk, Yu. M., Kolesnyk, M. Yu., Abramov, A. V., Tumanskyi, V. O., & Hancheva, O. V. (2015). *Imunohistokhimichna i morfo-densytometrychna diahnozyka patolohichnoho remodelivannia miokarda pry arterialnoi hipertenzii ta tsukrovomu diabeti* [Immunohistochemical and morpho-densitometric diagnosis of pathological myocardial remodeling in hypertension and diabetes mellitus (Guidelines)]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [10] Kolesnik, M. Yu. (2013). Osobennosti ekspressii regulatorynogo belka taitina i kollagena I tipa v miokarde spontanno gipertenzivnykh kryс s eksperimental'nym sakharным diabetom [Peculiarities of the expression of regulatory protein titin and collagen I in myocardium of spontaneously hypertensive rats with experimental diabetes mellitus]. *Pathologia*, (2), 31-35. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2013.2.17365>
- [11] Zaitsev, V. M., Lifyandskii, V. G., & Marinkin, V. I. (2003). *Prikladnaya meditsinskaya statistika* [Applied Medical Statistics]. St. Petersburg: Avrora. [in Russian].
- [12] Lin, H. Y., Lee, Y. T., Chan, Y. W., & Tse, G. (2016). Animal models for the study of primary and secondary hypertension in humans. *Biomedical reports*, 5(6), 653-659. <https://doi.org/10.3892/br.2016.784>
- [13] Li, J., Kemp, B. A., Howell, N. L., Massey, J., Mićczuk, K., Huang, Q., Chordia, M. D., Roy, R. J., Patrie, J. T., Davogusto, G. E., Kramer, C. M., Epstein, F. H., Carey, R. M., Taegtmeier, H., Keller, S. R., & Kundu, B. K. (2019). Metabolic Changes in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts Precede Cardiac Dysfunction and Left Ventricular Hypertrophy. *Journal of the American Heart Association*, 8(4), e010926. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.010926>
- [14] Kosmacheva, E. D., Martirosyan, S. M., Zubareva, N. A., & Babich, A. E. (2017). Glyukokortikoidy i arterial'naya hipertenziya u retsipientov vnutrennikh organov [Glucocorticoids and arterial hypertension in internal organs recipients]. *Innovative medicine of Kuban*, 8(4), 60-64. [in Russian].
- [15] Frangogiannis, N. G. (2019). Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Molecular aspects of medicine*, 65, 70-99. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.07.001>
- [16] Martínez-Martínez, E., Brugnolaro, C., Ibarrola, J., Ravassa, S., Buonafina, M., López, B., Fernández-Celis, A., Querejeta, R., Santamaría, E., Fernández-Irigoyen, J., Rábago, G., Moreno, M. U., Jaisser, F., Díez, J., González, A., & López-Andrés, N. (2019). CT-1 (Cardiotrophin-1)-Gal-3 (Galectin-3) Axis in Cardiac Fibrosis and Inflammation. *Hypertension*, 73(3), 602-611. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11874>
- [17] Watanabe, T., Konii, H., & Sato, K. (2018). Emerging Roles of Cardiotrophin-1 in the Pathogenesis and Biomarker of Atherosclerosis. *J*, 1(1), 94-105. <https://doi.org/10.3390/j1010010>
- [18] Li, L., Zhao, Q., & Kong, W. (2018). Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. *Matrix biology*, 68-69, 490-506. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.013>
- [19] Warren, C. M., Jordan, M. C., Roos, K. P., Krzesinski, P. R., & Greaser, M. L. (2003). Titin isoform expression in normal and hypertensive myocardium. *Cardiovascular research*, 59(1), 86-94. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00328-6](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00328-6)
- [20] González, A., Ravassa, S., López, B., Moreno, M. U., Beaumont, J., San José, G., Querejeta, R., Bayés-Genis, A., & Díez, J. (2018). Myocardial Remodeling in Hypertension. *Hypertension*, 72(3), 549-558. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11125>
- [21] Leung, K. (2006, February 28). 99mTc-Hydrazinonitotinamide-annexin V In *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK23472/>
- [22] Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M., Bianchi, K., Blagosklonny, M. V., ... Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell death and differentiation*, 25(3), 486-541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- [23] Hayakawa, Y., Aoyama, T., Yokoyama, C., Okamoto, C., Komaki, H., Minatoguchi, S., Iwasa, M., Yamada, Y., Kawamura, I., Kawasaki, M., Nishigaki, K., Mikami, A., Suzuki, F., & Minatoguchi, S. (2015). High salt intake damages the heart through activation of cardiac (pro) renin receptors even at an early stage of hypertension. *PLoS one*, 10(3), e0120453. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120453>

## References

- [1] Moreno, M. U., Eiros, R., Gavira, J. J., Gallego, C., González, A., Ravassa, S., López, B., Beaumont, J., San José, G., & Díez, J. (2017). The Hypertensive Myocardium: From Microscopic Lesions to Clinical Complications and Outcomes. *The Medical clinics of North America*, 101(1), 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.08.002>
- [2] Song, K., Wang, S., Huang, B., Luciano, A., Srivastava, R., & Mani, A. (2014). Plasma cardiotrophin-1 levels are associated with hypertensive heart disease: a meta-analysis. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)*, 16(9), 686-692. <https://doi.org/10.1111/jch.12376>
- [3] Ding, Y., Wang, Y., Jia, Q., Wang, X., Lu, Y., Zhang, A., Lv, S., & Zhang, J. (2020). Morphological and Functional Characteristics of Animal Models of Myocardial Fibrosis Induced by Pressure Overload. *International journal of hypertension*, 2020, 3014693. <https://doi.org/10.1155/2020/3014693>
- [4] Hong, J., Chu, M., Qian, L., Wang, J., Guo, Y., & Xu, D. (2017). Fibrillar Type I Collagen Enhances the Differentiation and Proliferation of Myofibroblasts by Lowering  $\alpha 2 \beta 1$  Integrin Expression in Cardiac Fibrosis. *BioMed research international*, 2017, 1790808. <https://doi.org/10.1155/2017/1790808>
- [5] Kabakov, A. E., & Gabai, V. L. (2018). Cell Death and Survival Assays. *Methods in molecular biology*, 1709, 107-127. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7477-1_9)
- [6] Kolesnyk, Y. M., Kolesnyk, M. Y., & Abramov, A. V. (2014). Markery remodelivannia miokarda shchuriv pry arterialnii hipertenzii ta eksperymentalnomu tsukrovomu diabeti: rol mitokondrialnoi dysfunktsii [Pathological remodeling of myocardium in spontaneous hypertensive rats with experimental diabetes mellitus: the role of mitochondrial dysfunction]. *Fiziolohichnyi zhurnal*, 60(3), 18-27. [in Ukrainian].

# Sex differences in the cardiac cholinergic response to adrenalin-induced myocardial necrosis and light desynchronization

M. R. Khara \*A,C,F, H. O. Bezkorovaina B,C,D, I. M. Klishch E, V. Ye. Pelykh B

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

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

## Key words:

necrosis, chronobiology disorders, cholinergic receptors, vagus nerve, sex.

## Pathologia

2020; 17 (2), 142-148

## \*E-mail:

[khara\\_m@ukr.net](mailto:khara_m@ukr.net)

**The aim** was to identify sex differences in the cardiac response to cholinergic stimuli in the development of myocardial necrosis and light desynchronization.

**Materials and methods.** Experiments were conducted in 144 albino rats (72 males, 72 females). Myocardial necrosis was induced by adrenaline (0.5 mg/kg, intramuscularly).

The intensity of bradycardia that occurred as a response to intravenous acetylcholine injection and electrical stimulation of vagus nerve was measured. The animals were divided into 4 groups: 1 – rats that were in a light balance (day/night); 2 – rats exposed to light deprivation for 10 days; 3 – rats exposed to permanent lighting for 10 days; 4 – animals exposed to permanent lighting for 10 days and injected with melatonin (5 mg/kg) intraperitoneally 1 hour before the necrosis modeling.

**Results.** The development of myocardial necrosis when occurring in light deprivation was characterized by an increased responsiveness of the rat heart to cholinergic stimulation due to an increase in both cholinergic receptors sensitivity and release of acetylcholine from the vagus nerve terminals in females, and due to only an increased cholinergic receptors sensitivity in males. The development of myocardial necrosis in rats exposed to permanent lighting was characterized by significantly higher sensitivity of cholinergic structures of the heart than that in light balance, especially in females. Melatonin injection in the development of myocardial necrosis contributed to the heart cholinergic structures response to the stimulation, which was close to that observed in conditions of light balance, though it remained somewhat higher: due to the facilitation of acetylcholine release from vagus nerve in females, and it was combined with a higher sensitivity of cholinergic receptors in males.

**Conclusions.** The development of myocardial necrosis in light desynchronization (light deprivation or permanent lighting) causes an increased heart response to cholinergic stimulation in rats. Such effects are stronger, especially in females in conditions of permanent lighting. The injection of melatonin in rats with myocardial necrosis and permanent lighting results in an approximation (but not restoration) of the heart sensitivity to cholinergic stimuli parameters to those that are observed in light balance. However, the heart response to cholinergic stimulation remains higher, especially in males.

## Ключові слова:

некроз міокарда, світловий десинхронізм, чутливість холінергічних рецепторів, п. vagus, стаття.

## Патологія. 2020.

Т. 17, № 2(49).  
С. 142-148

## Статеві відмінності холінергічних кардіальних реакцій при розвитку адреналін-індукованого некрозу міокарда на тлі світлового десинхронізму

М. Р. Хара, Г. О. Безкоровайна, І. М. Клішч, В. Є. Пелих

**Мета роботи** – встановити статеві відмінності реагування серця на холінергічні стимули під час розвитку некрозу міокарда на тлі світлового десинхронізму.

**Матеріали та методи.** Досліди виконали на 144 щурах-альбіносах (72 самці, 72 самиці). Некроз міокарда викликали введенням адреналіну (0,5 мг/кг внутрішньом'язово). Визначали інтенсивність брадикардії, що виникала під час внутрішньовенного введення ацетилхоліну та електричної стимуляції п. vagus. Тварин поділили на 4 групи: 1 – щури, які перебували в умовах світлового балансу (день/ніч); 2 – щури, які 10 днів перебували в умовах світлової депривації; 3 – щури, які 10 днів перебували в умовах постійного освітлення; 4 – тварини, які 10 днів перебували в умовах постійного освітлення, але за 1 годину до моделювання некрозу отримували мелатонін (5 мг/кг внутрішньочеречно).

**Результати.** Під час розвитку некрозу міокарда на тлі світлової депривації реакція серця щурів на холінергічні впливи збільшувалася: в самиць – завдяки збільшенню чутливості холінергічних рецепторів і вивільнення більшої кількості ацетилхоліну з закінчень п. vagus, а в самців – тільки внаслідок збільшення чутливості холінергічних рецепторів. Розвиток некрозу міокарда в умовах постійного освітлення характеризувався суттєвішою, ніж за світлового балансу, чутливістю холінергічних структур серця, особливо в самиць. Застосування мелатоніну сприяло тому, що при розвитку некрозу міокарда реакція холінергічних структур серця на стимуляцію наближалася до зареєстрованої в умовах світлового балансу, хоча й залишалася дещо більшою: у самиць – унаслідок полегшеного вивільнення ацетилхоліну з п. vagus, а в самців поєднувалася з більшою чутливістю холінергічних рецепторів.

**Висновки.** Розвиток некрозу міокарда на тлі світлового десинхронізму (світлова депривація чи постійне освітлення) викликає посилення реагування серця щурів на холінергічну стимуляцію. Суттєвішими такі ефекти є в умовах постійного освітлення, особливо в самиць. Застосування мелатоніну під час моделювання некрозу міокарда на тлі постійного освітлення забезпечує наближення (але не відновлення) параметрів, що характеризують чутливість серця до холінергічних стимулів, до зареєстрованих в умовах світлового балансу. Реакція серця на холінергічну стимуляцію залишається дещо більшою, особливо в самців.

## Половые отличия холинергических кардиальных реакций при развитии адреналин-индуцированного некроза миокарда на фоне светового десинхроноза

М. Р. Хара, Г. А. Безкоровайная, И. Н. Клищ, В. Е. Пелых

**Цель работы** – установить половые отличия реагирования сердца на холинергические стимулы при развитии некроза миокарда на фоне светового десинхроноза.

**Материалы и методы.** Опыты провели на 144 крысах-альбиносах (72 самца, 72 самки). Некроз миокарда вызывали введением адреналина (0,5 мг/кг внутримышечно). Определяли интенсивность брадикардии при внутривенном введении ацетилхолина и электрической стимуляции n. vagus. Животных поделили на 4 группы: 1 – крысы, которые находились в условиях светового баланса (день/ночь); 2 – крысы, которые 10 дней находились в условиях световой депривации; 3 – крысы, которые 10 дней находились в условиях перманентного освещения; 4 – крысы, которые 10 дней находились в условиях перманентного освещения, но за 1 час до моделирования некроза получали мелатонин (5 мг/кг внутривнутрибрюшинно).

**Результаты.** При развитии некроза миокарда на фоне световой депривации реакция сердца крыс на холинергическую стимуляцию увеличивалась: у самок – за счет увеличения чувствительности холинорецепторов и освобождения большего количества ацетилхолина из n. vagus, а у самцов – только за счет увеличения чувствительности холинорецепторов. Развитие некроза миокарда в условиях перманентного освещения характеризовалось более существенной, чем при световом балансе, чувствительностью холинергических структур сердца к функциональным влияниям, особенно у самок.

Использование мелатонина способствовало тому, что при развитии некроза миокарда реакция холинергических структур сердца приближалась к показателям, зарегистрированным при световом балансе, хотя они оставались большими: у самок – за счет освобождения большего количества ацетилхолина из окончаний n. vagus, а у самцов сочеталась с большей чувствительностью холинорецепторов.

**Выводы.** Развитие некроза миокарда на фоне светового десинхроноза (световая депривация или перманентное освещение) вызывает усиление реакции сердца крыс на холинергическую стимуляцию. Более существенными такие эффекты зарегистрированы в условиях перманентного освещения, особенно у самок. Использование мелатонина при моделировании некроза миокарда на фоне перманентного освещения способствует приближению (но не восстановлению) параметров, которые отображают чувствительность сердца к холинергической стимуляции в условиях светового баланса. Реакция сердца на холинергическую стимуляцию остается более существенной, особенно у самцов.

**Ключевые слова:** некроз миокарда, световой десинхроноз, чувствительность холинорецепторов, n. vagus, пол.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 142-148

The prevalence of cardiovascular diseases in the list of high mortality causes is the main characteristic nowadays [1–3]. Stress takes the lead among the risk factors for coronary heart disease and myocardial infarction. Pineal gland dysfunction and abnormal circadian rhythm are worthy of being noted among the causes of stress [4]. Light desynchronization occurs in shiftwork, jetlag and prolonged computer work. All above mentioned causes a significant exertion of stress adaptation mechanisms, their rapid exertion and cardiovascular system dysfunction in impaired light regime [5,6].

Effective body adaptation to stress is possible due to the pineal gland hormone melatonin which is synthesized mainly during nighttime sleep. There is a good deal of evidence that melatonin reduces the effects of stress. It has been shown that melatonin desensitizes adrenergic receptors, reduces free radical oxidation due to antioxidant properties and ability to stabilize mitochondrial membranes, and enhances the realization of cholinergic effects at the central and peripheral levels, providing cardioprotection against stress, hypercatecholaminemia, ischemia/hypoxia [7–11].

It is also known that the incidence of cardiovascular pathology in light desynchronization depends on the sex and occurs more frequently in men [12]. All these facts indicate the relevance of research studies aimed at analyzing the effect of light balance disorders on cardiovascular diseases development and sex-specific aspects of this issue. This will foster the development of not only cardiology, but also gender medicine.

### Aim

The aim was to identify sex differences of the cardiac response to cholinergic stimuli in the development of myocardial necrosis and light desynchronization.

### Materials and methods

Experiments were conducted in 144 albino rats (72 males, 72 females) weighing 220–290 g, which were on a standard ration in vivarium conditions. Animals were divided into 4 groups: 1 – rats that were in a light balance (day/night); 2 – rats exposed to light deprivation for 10 days; 3 – rats exposed to permanent lighting for 10 days; 4 – animals exposed to permanent lighting for 10 days and injected with melatonin (a single dose of 5 mg/kg) intraperitoneally 1 hour before the myocardial necrosis (MN) modeling [7].

Light balance model: the animals were housed on day/night cycles for 10 days; cycle “Day” consisted of a 12-hour (from 7.00 to 19.00) 500 lux light, cycle “Night” lasted 12 hours (from 19.00 to 7.00) at 0.5–1.0 lux light. Model of light deprivation: animals were left in 0.5–1.0 lux light for 10 days. Permanent lighting model: animals were exposed to 500 lux light for 10 days. On the 11<sup>th</sup> day, adrenaline-induced myocardial necrosis was modeled by adrenaline intramuscular injection (0.5 mg/kg).

The basic studies were performed 1 and 24 hours after injection, including standard lead II ECG registration using the Cardiolab-SE computer complex (Kharkiv,

**Table 1.** Indicators of the rat heart response to cholinergic stimulation in the development of myocardial necrosis in light balance, M ± m

Indices	Sex	Control, n = 6	MN 1 hour, n = 6	MN 24 hours, n = 6
BI <sub>vn</sub>	♂	6.85 ± 0.31 <sup>2</sup>	6.89 ± 0.23 <sup>2</sup>	7.49 ± 0.35
	♀	8.25 ± 0.45 <sup>2</sup>	8.90 ± 0.36 <sup>2</sup>	6.68 ± 0.40 <sup>1</sup>
BI <sub>ACh</sub>	♂	3.94 ± 0.35	3.88 ± 0.30	3.96 ± 0.26
	♀	3.94 ± 0.42	3.52 ± 0.38	4.64 ± 0.38
BD <sub>ACh</sub> (sec)	♂	18.8 ± 1.0 <sup>2</sup>	16.4 ± 1.3	17.9 ± 1.2
	♀	25.7 ± 0.9 <sup>2</sup>	16.3 ± 0.7 <sup>1</sup>	17.8 ± 0.8 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>: significance of the differences in comparison with the control, P < 0.05; <sup>2</sup>: significance of the differences between sexes, P < 0.05.

**Table 2.** Indicators of the rat heart response to cholinergic stimulation during the development of myocardial necrosis in light deprivation, M ± m

Indices	Sex	Control, n = 6	MN 1 hour, n = 6	MN 24 hours, n = 6
BI <sub>vn</sub>	♂	6.87 ± 0.21 <sup>3</sup>	6.08 ± 0.29 <sup>3</sup>	6.94 ± 0.24 <sup>3</sup>
	♀	12.03 ± 0.30 <sup>2,3</sup>	10.49 ± 0.37 <sup>1,2,3</sup>	8.20 ± 0.22 <sup>1,2,3</sup>
BI <sub>ACh</sub>	♂	8.21 ± 0.33 <sup>2</sup>	5.82 ± 0.27 <sup>1,2</sup>	6.01 ± 0.35 <sup>1,2</sup>
	♀	7.88 ± 0.38 <sup>2</sup>	6.19 ± 0.21 <sup>1,2</sup>	5.16 ± 0.25 <sup>1</sup>
BD <sub>ACh</sub> (sec)	♂	12.9 ± 0.7 <sup>2,3</sup>	14.4 ± 1.3 <sup>3</sup>	13.5 ± 1.2 <sup>3</sup>
	♀	24.6 ± 1.7 <sup>3</sup>	20.7 ± 1.3 <sup>2,3</sup>	20.2 ± 1.1 <sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>: significance of the differences in comparison with the control, P < 0.05; <sup>2</sup>: significance of the differences in comparison with group 1, P < 0.05; <sup>3</sup>: significance of the differences between sexes, P < 0.05.

Ukraine). The cardiac response to exogenous acetylcholine (ACh) injected into the jugular vein (50 mg/kg to a maximum of 0.1 ml/100 g of animal body weight) was evaluated by bradycardia intensity (BI<sub>ACh</sub>) and bradycardia duration (BD<sub>ACh</sub>). BI<sub>ACh</sub> was calculated by the formula:

$$BI_{ACh} = (R-R)_{max} / (R-R)_m \quad (1)$$

The value of (R-R)<sub>m</sub> was equal to the arithmetic mean of the (R-R) intervals recorded on the ECG before the ACh injection; the value of (R-R)<sub>max</sub> was equal to the maximum (R-R) value after the ACh injection.

This indicator reflects the sensitivity of cholinergic receptors in the sinus node. BD<sub>ACh</sub> is the period between the onset and termination of a negative chronotropic effect (expressed in seconds), reflecting the duration of functional desensitization of cholinergic receptors. Heart response to electrical stimulation of the right peripheral segment of vagus nerve was estimated by bradycardia intensity (BI<sub>vn</sub>).

Electrical stimulation was performed using an ELS-2 (electrical laboratory stimulator). Operation parameters of the device: electrical impulse duration – 1 ms, impulse delay – 1 ms, impulse amplitude – 2 V, impulse frequency – 50 Hz. The peripheral segment of the nerve was isolated at the level of the lower cartilage of the larynx and placed on copper electrodes (a pole separation was 4 mm). The nerve was stimulated for 60 seconds. BI<sub>vn</sub> was calculated by the formula (1), but the value of (R-R)<sub>m</sub> was equal to the arithmetic mean of the (R-R) intervals recorded on the ECG before electrical stimulation of vagus nerve; (R-R)<sub>max</sub> – maximum value (R-R) during vagus nerve stimulation.

This parameter reflects ACh content in the presynaptic vagus nerve terminals. Experiments studying the heart response to cholinergic stimulation were carried out in anesthetized animals (thiopental sodium, 40 mg/kg, intraperitoneally).

The experiments on heart response to electrical stimulation were carried out in anesthetized animals (thiopental sodium 40 mg/kg of animal body weight, intraperitoneally) and followed the National "General Ethical Principles of Animal Experiments" (Ukraine, 2001) in accordance with the 2010/63EU Directive of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [13]. The experiments were conducted on the basis of the Central Research Laboratory (CRL) of the Ternopil National Medical University. All devices used for study were certified and had undergone annual metrological control (certificate of technical competence No. 001/18 dated September 26, 2018, valid until September 26, 2023).

Statistical processing was performed using a table processor Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., USA). For all the parameters, the arithmetic mean (M), its dispersion and mean error (m) were calculated. To determine the significance of differences between the study results in the experimental groups of animals, the Student's coefficient (t) was calculated, after that, the significance of the differences between the samples (p) and the confidence interval of the mean according to the Student's t-distribution tables were calculated. P<sub>st</sub> values < 0.05 were considered statistically significant (program BioStat, AnalystSoft Inc., version 6) [14].

## Results

Analysis of the animal data obtained in group 1 showed that male BI<sub>vn</sub> did not change in MN development and light balance (Table 1).

Female BI<sub>vn</sub> decreased by 24 % within 24 h of MN. Neither male nor female BI<sub>ACh</sub> changed in the development of MN. BD<sub>ACh</sub> was changed only in females, it represented a 58 % decrease (within 1 h of MN) and 44 % (within 24 h of MN) in comparison to the control. Sex-specific analysis showed that the value of BI<sub>vn</sub> was significantly lower in the control and within 1 h of MN in males than in females, by 20 % and 29 %, respectively, but there was no significant difference between males and females within 24 h of MN. Males and females of group 1 did not differ in BI<sub>ACh</sub>. BD<sub>ACh</sub> in males was less than in females only in the control (by 37 %), but not in MN.

An analysis of the indicators in animal group 2 showed that the development of MN in light deprivation in males did not cause a significant change in BI<sub>vn</sub> (Table 2).

BI<sub>ACh</sub> was decreased by 41 % (within 1 h of MN) and 37 % (within 24 h of MN). The indicator of BD<sub>ACh</sub> was not changed. Female BI<sub>vn</sub> was 15 % and 48 % decreased within 1 h and 24 h of MN, respectively, as compared to the control. Female BI<sub>ACh</sub> of group 2 was 27 % and 53 % decreased within 1 h and 24 h of MN, respectively. There were no significant changes in BD<sub>ACh</sub>. Sex-specific analysis of group 1 indicators showed that male BI<sub>vn</sub> was lower than that in females, in particular, by 75 % in the control, by 73 % (within 1 h of MN) and by 17 % (within 24 h of MN). A reduction in the difference was due to this indicator changes only in females. There was no sex difference in BI<sub>ACh</sub>. Male BD<sub>ACh</sub> was less than that in females of group 2, by 91 % – in the control, by 44 % (within 1 h of MN), by 50 % (within 24 h of MN).

A comparative analysis of the light deprivation influence on the studied parameters between the indicators of group 1 and group 2 showed the following. There was no difference in the male cohort with regard to  $BI_{vn}$ .  $BI_{ACh}$  in males of group 2 was higher than that in animal group 1, 2.1 times in the control, 1.5 times within 1 h of MN, 1.5 times within 24 h of MN.  $BD_{ACh}$  was 46 % ( $P < 0.05$ ) less only in the control and did not differ in MN development between male indicators of both groups. In females of group 2,  $BI_{vn}$  was 46 % higher in the controls, 18 % – within 1 h of MN, 22 % – within 24 h of MN;  $BI_{ACh}$  was 2.0 times higher in the controls, 1.8 times – within 1 h of MN;  $BD_{ACh}$  was higher by 27 % within 1 h of MN and by 13 % within 24 h of MN.

The results of analysis between indicators in animal group 3 revealed (Table 3) that male  $BI_{vn}$  was 1.9 times and 5.2 times decreased within 1 h and 24 h of MN, respectively;  $BI_{ACh}$  was 1.5 times and 2.6 times increased within 1 h and 24 h of MN, respectively;  $BD_{ACh}$  was also 1.5 times and 2.0 times increased within 1 h and 24 h of MN, respectively.

In females,  $BI_{vn}$  was 1.7 times increased within 1 h of MN, but it was 12.1 times decreased within 24 h of MN;  $BI_{ACh}$  was 10.3 times decreased within 1 h of MN, and it was 1.8 times less than in the control within 24 h;  $BD_{ACh}$  was also less than in the control, in particular, by 4.2 times and 1.5 times within 1 h and 24 h of MN, respectively. Sex-specific analysis of group 2 indicators showed that  $BI_{vn}$  in males was less than in females only in the control and within 1 h of MN, by 2.4 times and 7.6 times, respectively. Male  $BI_{ACh}$  in the control were 8.0 times less than in females, 2.0 times within 1 h of MN and 1.7 times within 24 h of MN.  $BD_{ACh}$  in males was 3.6 times less than in the control females, it was 1.8 times higher within 1 h of MN and 17 % less within 24 h of MN as compared to females.

Comparison of indicators between animal group 3 and group 1 showed that male  $BI_{vn}$  in group 3 was higher than that in group 1, in particular, by 6.2 times in the controls and by 3.2 times within 1 h of MN.  $BI_{ACh}$  was decreased in the control and within 1 h of MN by 2.1 times and 32 %, respectively, and 28 % increased within 24 h of MN.  $BD_{ACh}$  was 1.9 times less than in the control. Female  $BI_{vn}$  in group 3 was higher than that in group 1, in particular, by 12.2 times in the control, by 18.7 times within 1 h of MN, by 24 % within 24 h of MN. Control  $BI_{ACh}$  was 3.9 times higher than the compared value,  $BI_{ACh}$  was 2.4 times lower within 1 h of MN and 1.8 times higher within 24 h.  $BD_{ACh}$  was 39 % higher in the control, 1.9 times lower within 1 h of MN and 30 % higher within 24 h of MN.

Analysis of indicators in the animal group 4 showed (Table 4) that male  $BI_{vn}$  in MN was increased, in particular, by 1.5 times within 1 h of MN and by 3.0 times within 24 h of MN.

$BI_{ACh}$  was 2.3 times increased within 1 h of MN, but this indicator did not differ from the control within 24 h of MN.  $BD_{ACh}$  in this model was not changed. Female  $BI_{vn}$  was 21 % decreased within 1 h of MN, and 28 % higher within 24 h of MN than in the control.  $BI_{ACh}$  was 37 % and 3.3 times decreased within 1 h and 24 h of MN.  $BD_{ACh}$  was not changed. Sex-specific analysis of group 4 indicators revealed that control  $BI_{vn}$  was 1.8 times less in males than that in females, there was no sex difference

**Table 3.** Indicators of the rat heart response to cholinergic stimulation in the development of myocardial necrosis in permanent lighting,  $M \pm m$

Indices	Sex	Control, n = 6	MN 1 hour, n = 6	MN 24 hours, n = 6
$BI_{vn}$	♂	42.18 ± 2.27 <sup>3,2</sup>	21.86 ± 1.60 <sup>1,3,2</sup>	8.11 ± 0.30 <sup>1</sup>
	♀	100.72 ± 4.52 <sup>3,2</sup>	166.36 ± 5.76 <sup>1,3,2</sup>	8.31 ± 0.33 <sup>1,2</sup>
$BI_{ACh}$	♂	1.91 ± 0.08 <sup>2,3</sup>	2.95 ± 0.17 <sup>1,2,3</sup>	5.05 ± 0.15 <sup>1,2,3</sup>
	♀	15.30 ± 0.45 <sup>2,3</sup>	1.48 ± 0.10 <sup>1,2,3</sup>	8.36 ± 0.35 <sup>1,2,3</sup>
$BD_{ACh}$ (sec)	♂	9.9 ± 0.5 <sup>2,3</sup>	15.0 ± 1.7 <sup>1,3</sup>	19.9 ± 1.2 <sup>1,3</sup>
	♀	35.8 ± 1.8 <sup>2,3</sup>	8.5 ± 0.4 <sup>1,2,3</sup>	23.2 ± 1.7 <sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>: significance of the differences in comparison with the control,  $P < 0.05$ ; <sup>2</sup>: significance of the differences in comparison with group 1,  $P < 0.05$ ; <sup>3</sup>: significance of the differences between sexes,  $P < 0.05$ .

**Table 4.** Indicators of the rat heart response to cholinergic stimulation in the development of myocardial necrosis and permanent lighting with melatonin correction,  $M \pm m$

Indices	Sex	Control, n = 6	MN 1 hour, n = 6	MN 24 hours, n = 6
$BI_{vn}$	♂	5.99 ± 0.26 <sup>3</sup>	9.07 ± 0.33 <sup>1,2</sup>	18.23 ± 0.91 <sup>1,3,2</sup>
	♀	10.69 ± 0.39 <sup>3,2</sup>	8.82 ± 0.33 <sup>1</sup>	13.70 ± 0.62 <sup>1,3,2</sup>
$BI_{ACh}$	♂	5.10 ± 0.29 <sup>2,3</sup>	11.79 ± 0.49 <sup>1,2,3</sup>	5.00 ± 0.27 <sup>3</sup>
	♀	6.80 ± 0.35 <sup>3,2</sup>	4.95 ± 0.28 <sup>1,2,3</sup>	2.07 ± 0.11 <sup>1,2,3</sup>
$BD_{ACh}$ (sec)	♂	17.4 ± 2.3	14.7 ± 2.1	14.2 ± 2.3
	♀	21.2 ± 1.7	18.3 ± 1.6	21.3 ± 3.0

<sup>1</sup>: significance of the differences in comparison with the control,  $P < 0.05$ ; <sup>2</sup>: significance of the differences in comparison with group 1,  $P < 0.05$ ; <sup>3</sup>: significance of the differences between sexes,  $P < 0.05$ .

within 1 h of MN, and this indicator was 33 % higher in males than that in females within 24 h of MN. Male  $BI_{ACh}$  in similar conditions was 33 % less in the control than that in females, but it was 2.4 times and 1.9 times higher within 1 h and 24 h of MN, respectively.  $BD_{ACh}$  did differ significantly between males and females.

Comparison of the animal indices between group 4 and 1 indicated no difference in control  $BI_{vn}$  between males of group 4 and group 1. However, in MN development, male  $BI_{vn}$  value in group 4 was significantly higher, by 32 % and by 2.4 times within 1 h and 24 h, respectively. A similar comparison demonstrated that  $BI_{ACh}$  was 29 % and 3.0 times higher in the control and within 1 h of MN development, respectively.  $BD_{ACh}$  did not differ in the groups compared. In females of group 4,  $BI_{vn}$  was 30 % higher in the control, there was no significant difference within 1 h of MN, and it was 2.1 times higher within 24 h of MN than the value compared. Female  $BI_{ACh}$  in group 4 was 73 % and 41 % higher in the control and within 1 h of MN, respectively, than in group 1, and it was 2.2 times lower within 24 h of MN. The indices of  $BD_{ACh}$  did not differ between comparison groups.

## Discussion

The results obtained in our studies demonstrated a light desynchronization influence on the cholinergic heart structures functional state regardless of the variant of lighting regime violation (light deprivation or permanent lighting). A 10-day stay in the dark caused a significant increase in the sensitivity of cholinergic receptors in the sinoatrial node, which was confirmed by an increase in  $BI_{ACh}$  after ACh injection into the jugular vein. In males, this effect was impeded by a shortening of the functional desensitization period (decrease in  $BD_{ACh}$ ). In contrast, the increase in

$BD_{ACh}$  indicated a longer desensitization and a higher baseline functional activity of cholinergic receptors in the sinoatrial node in females. In this context, the development of MN was characterized by the greater sensitivity of the heart to exogenous ACh than in the light balance. It was confirmed by the greater values of  $BI_{ACh}$ . Such changes were more significant in females. Simultaneous increase in  $BD_{ACh}$  was indicative of the increase in time of functional desensitization, which also allows for longer duration of bradycardia and depends on the rate of ACh release from the synaptic cleft depending on an acetylcholinesterase influence.

The study of the animal heart response to the electrical stimulation of vagus nerve in MN development and light balance showed the pattern which was observed by other authors in the studies using adrenaline to induce MN [7]. Such data consistency validated the correctness of experimental conditions and optimal dose of adrenaline. Cardiotoxic effect of adrenaline has been confirmed biochemically [15]. Interestingly, 10-day light deprivation did not affect the rate of  $BI_{vn}$  in males, but contributed to its increase in females. The last fact was predicted by us, given that the development of MN causes more significant changes in the female activity of the heart cholinergic structures than in male [7, 16, 17]. The absence of changes in male  $BI_{vn}$ , which value reflects the ACh content in the presynaptic vagus nerve terminals, may indicate either a lower melatonin mediation of the resynthesis and accumulation of a neurotransmitter in the presynaptic compartment, or its smaller amount in the body. It is known that in vertebrates, the hormone is mainly synthesized in darkness [18], therefore we rather tend to think that melatonin synthesis was less in males than in females as a result of 10-day complete darkness.

The permanent lighting model yielded interesting and unpredictable results. The desynchronization modeled in this way resulted in dramatically increased value of  $IB_{vn}$ , in particular by 6.2 times in males and by 12.2 times in females, indicating a significant accumulation of ACh in the presynaptic compartment. This fact can be explained in view of the autonomic nervous system role in the chronotropic heart function maintenance. It is known that the absence of darkness, which is the main condition for the realization of the pineal gland circadian activity, is a severe stress, a cause of sleep onset insomnia [5], a factor of coronary heart disease and arterial hypertension progression due to a high sympathoadrenal activity [11]. In this case, the phenomenon of "enhanced antagonism" of the vagus nerve may be triggered in conditions of delayed inactivation of norepinephrine. That is, the higher the adrenergic activity, the more significant is the heart response to vagus nerve stimulation, and this effect is attenuated largely by beta-adrenoceptors blockade [20]. Interestingly, in our experiment at the same time, female sensitivity of cholinergic receptors ( $BI_{ACh}$ ) and duration of functional desensitization were increased. This idea is evidenced by the fact that, in our study, the female value of  $BI_{vn}$  continued to increase within 1 h of MN, which is a period of hyperadrenalinemia, despite the significantly decreased cholinergic receptor sensitivity ( $BI_{ACh}$ ) and the significantly reduced time of functional desensitization. It is unlikely that accumulation of a large amount of ACh

in the vagus nerve presynaptic department alone could explain such effect in the conditions of 10-day permanent lighting, since a long-term absence of darkness and normal sleep would have depleted the depot of ACh to impede constantly high adrenergic activity. In this case, the role of intestinal natriuretic peptide may be considered as a non-cholinergic component capable of mediating the effects of vagus nerve [20], or nitrogen monoxide appears to be involved, the role of which in cholinergic effects mediation is more significant in females [21]. There is evidence of greater involvement of nitrogen monoxide in mediating the heart cholinergic effects in females [22]. Unlike females, males presented the decrease in  $BI_{vn}$  while cholinergic receptor sensitivity ( $BI_{ACh}$ ) and the time of functional desensitization ( $BD_{ACh}$ ) increasing within 1 h of MN development in the permanent lighting, which could be the result of faster synergistic desensitization [20] and was evidenced by a continuation of this trend within 24 h of MN (worsening of damage signs) in animals of both sexes. Generally, males and females demonstrated opposite reactions in conditions of hyperadrenalinemia, which indirectly reflects not only different levels of melatonin deficiency, but also different patterns of cardiovascular system adaptation in pathological conditions.

Based on the data obtained, to confirm the pineal hormone deficiency in conditions of permanent lighting and for cardioprotection, exogenous melatonin was used in animal group 4. It is known that the maximum level of hormone in the mediobasal hypothalamus, striatum and neocortex occurs in an hour after its parenteral injection, and a sufficiently high level is maintained in blood plasma for 3–4 hours. The positive effect of melatonin has been established in the treatment of patients with myocardial infarction, after angioplasty to prevent reperfusion injury [23,24]. The results obtained have confirmed a melatonin deficiency in conditions of permanent lighting in animals as all the indicators reflecting the heart response to cholinergic stimulation differed from those in animal group 3. The comparison of absolute values showed a tendency to approximation (but not restoration) of all the cholinergic receptor state parameters characterizing the light balance. In our opinion, exogenous melatonin served as an anti-stress factor that reduced the adrenergic reactivity and effect of "enhanced antagonism" [19]. In the development of MN, the dynamics of  $BI_{vn}$ ,  $BI_{ACh}$ , and  $BD_{ACh}$  were different from those in animal group 1. That is, in our study, exogenous melatonin most likely displayed a regulatory function that is realized involving two mechanisms – cAMP and cGMP-PKG (protein kinase G) – dependent pathways [8]. The final effect was indicative of not only the more balanced heart response to cholinergic stimuli, but also the decrease in adreno-reactivity, which was confirmed by the more significant dynamics of indicators in males of group 4 as well as data from previous studies, which had demonstrated the higher myocardial irritability related to the damaging effect of adrenaline in males [15].

## Conclusions

1. 10-day light deprivation increases the response of rat heart to cholinergic effects maintaining such state

in conditions of adrenaline-induced myocardial necrosis, and is realized by increased cholinergic sensitivity and acetylcholine accumulation in the vagus nerve presynaptic department in females and only by increased cholinergic sensitivity in males.

2. 10-day permanent lightning (500 lux) causes the substantial increase in the heart response to cholinergic stimulation. The more intensive response of the female heart to vagus nerve stimulation, compared with male, is caused by the increased release of acetylcholine from the presynaptic compartment with simultaneous increase in the cholinergic sensitivity, in contrast to decreased male cholinergic sensitivity. The development of adrenaline-induced myocardial necrosis in females is characterized by greater sensitivity of the heart cholinergic structures to functional influences compared to light balance conditions and male response.

3. Melatonin (5 mg/kg) reduces the heart response to cholinergic stimulation in conditions of permanent lightning, results in the approximation (but not restoration) of the intensity of the heart response to cholinergic stimuli, which is characteristic of light balance conditions. At the same time, the sensitivity of cholinergic receptors is greater than in conditions of light balance, especially in females. The development of adrenaline-induced myocardial necrosis in this case is characterized by greater heart response to stimulation of vagus nerve than in light balance regardless of sex, and is combined with greater cholinergic sensitivity in males.

**The prospect of further research** includes detecting the sex differences in melatonin metabolism (endogenous and exogenous) in adrenaline-induced myocardial necrosis and light desynchronization, which is relevant to the gender pharmacology development.

#### Funding

The scientific research was carried out as part of the complex research work of the Educational and Scientific Institute of Modeling and Analysis of pathological processes of Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine on the theme: "Systemic and organ disorders in the influence of extraordinary factors on the organism, mechanisms of their development and pathogenetic correction" (state registration number 016U003390).

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

Надійшла до редакції / Received: 03.04.2020  
Після доопрацювання / Revised: 23.04.2020  
Прийнято до друку / Accepted: 11.05.2020

#### Information about authors:

Khara M. R., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.  
ORCID ID: [0000-0002-6028-9876](https://orcid.org/0000-0002-6028-9876)

Bezkorovaina H. O., MD, Postgraduate Student of the Department of Pathological Physiology, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.  
ORCID ID: [0000-0003-2722-7013](https://orcid.org/0000-0003-2722-7013)

Klishch I. M., MD, PhD, DSc, Vice-rector for Scientific Work, Professor of the Department of Functional and Laboratory Diagnostics, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6226-4296](https://orcid.org/0000-0001-6226-4296)

Pelykh V. Ye. MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-3468-858X](https://orcid.org/0000-0003-3468-858X)

#### Відомості про авторів:

Хара М. Р., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Безкоровайна Г. О., лікар, здобувач наукового ступеня, каф. патологічної фізіології, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Кліщ І. М., д-р біол. наук, проректор з наукової роботи, професор каф. функціональної і лабораторної діагностики, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Пелих В. Є., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

#### Сведения об авторах:

Хара М. Р., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины.  
Безкоровайна Г. А., врач, соискатель ученой степени, каф. патологической физиологии, Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины.

Клишч И. Н., д-р биол. наук, проректор по научной работе, профессор каф. функциональной и лабораторной диагностики, Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины.

Пельх В. Е., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины.

#### References

- [1] Nicholas, M., Townsend, N., Scarborough, P., & Rayner, M. (2015). Corrigendum to: cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *European heart journal*, 36(13), 794. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu489>
- [2] Roth, G. A., Forouzanfar, M. H., Moran, A. E., Barber, R., Nguyen, G., Feigin, V. L., Naghavi, M., Mensah, G. A., & Murray, C. J. (2015). Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. *The New England journal of medicine*, 372(14), 1333-1341. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1406656>
- [3] EUGenMed Cardiovascular Clinical Study Group, Regitz-Zagrosek, V., Oertelt-Prigione, S., Prescott, E., Franconi, F., Gerds, E., Foryst-Ludwig, A., Maas, A. H., Kautzky-Willer, A., Knappe-Wegner, D., Kintscher, U., Ladwig, K. H., Schenck-Gustafsson, K., & Stangl, V. (2016). Gender in cardiovascular diseases: impact on clinical manifestations, management, and outcomes. *European heart journal*, 37(1), 24-34. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv598>
- [4] Reitz, C. J., & Martino, T. A. (2015). Disruption of Circadian Rhythms and Sleep on Critical Illness and the Impact on Cardiovascular Events. *Current Pharmaceutical Design*, 21(24), 3505-3511. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150706105926>
- [5] Fullagar, H., Skorski, S., Duffield, R., & Meyer, T. (2016). The effect of an acute sleep hygiene strategy following a late-night soccer match on recovery of players. *Chronobiology International*, 33(5), 490-505. <https://doi.org/10.3109/07420528.2016.1149190>
- [6] Gostyukhina, A. A., Zamoshchina, T. A., Zaitsev, K. V., Gutor, S. S., Zhukova, O. B., Svetlik, M. V., Abdulkina, N. G., & Zaitsev, A. A. (2018). Adaptivnye reaktsii krysa posle svetovykh desinkhronozov i fizicheskogo pereutomleniya [Adaptive reactions of rats after light desynchronization and physical overwork]. *Bulletin of Siberian Medicine*, 17(3), 22-34. [in Russian]. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-22-34>
- [7] Khara, M. R., & Shkumbatyuk, O. V. (2014). Polovye otlichiya reaktsii miokardial'nykh kholinoretseptorov pri povrezhdenii serdtsa adrenalinom na fone melatonina [Gender Difference of Myocardial Cholinergic Receptors Sensitivity at Adrenalin Heart Damage on the Ground of Melatonin]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*, (4), 176-179. [in Russian].

- [8] Yu, L. M., Di, W. C., Dong, X., Li, Z., Zhang, Y., Xue, X. D., Xu, Y. L., Zhang, J., Xiao, X., Han, J. S., Liu, Y., Yang, Y., & Wang, H. S. (2018). Melatonin protects diabetic heart against ischemia-reperfusion injury, role of membrane receptor-dependent cGMP-PKG activation. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1864(2), 563-578. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.11.023>
- [9] Genade, S., Genis, A., Ytrehus, K., Huisamen, B., & Lochner, A. (2008). Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: role of its anti-adrenergic actions. *Journal of Pineal Research*, 45(4), 449-458. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00615.x>
- [10] Green, E. A., Black, B. K., Biaggioni, I., Paranjape, S. Y., Bagai, K., Shibao, C., Okoye, M. C., Dupont, W. D., Robertson, D., & Raj, S. R. (2014). Melatonin Reduces Tachycardia in Postural Tachycardia Syndrome: A Randomized, Crossover Trial. *Cardiovascular Therapeutics*, 32(3), 105-112. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12067>
- [11] Campos, L., Cipolla-Neto, J., & Michelini, L. (2013). Melatonin modulates baroreflex control via area postrema. *Brain And Behavior*, 3(2), 171-177. <https://doi.org/10.1002/brb3.123>
- [12] Pyle, W. G., & Martino, T. A. (2018). Circadian rhythms influence cardiovascular disease differently in males and females: role of sex and gender. *Current Opinion in Physiology*, 5, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2018.05.003>
- [13] Verkhovna Rada of Ukraine. (2006, February 21). *Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia*; zakon Ukrainy vid 21.02.2006 No. 3447-IV [On the Protection of Animals from Brutal Treatment (No. 3447-IV)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15?lang=en>
- [14] Zaitsev, V. M., Lifyandskii, V. G., & Marinkin, V. I. (2006). *Prikladnaya meditsinskaya statistika* [Applied Medical Statistics]. St. Petersburg: Foliant. [in Russian].
- [15] Bezkorovaina, H. O., Klishch, I. M., & Khara, M. R. (2020). Statevi vidminnosti vilnoradykalnykh protsesiv u miokardi pry ushkodzhenni adrenalinom na tli svitlovoi depryatsii [Gender difference of free-radical processes in the myocardium at adrenaline damage on the background of light deprivation]. *Medical and Clinical Chemistry*, (4), 13-19. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10821>
- [16] Khara, M. R., Kuziv, O. V., & Pelykh, V. Ye. (2015). Vplyv systemy oksydu azotu na chutlyvist cholinoretseptoriv sertsia pry poshkodzhenni adrenalinom v tvaryn zalezno vid stati ta aktyvnosti honad [Effect of Nitric Oxide on Cholinereceptors of Heart of Animals at Damage by Adrenalin in Terms of Sex and Activity of the Gonads]. *ScienceRise*, 5(4), 122-128. [in Ukrainian]. <https://doi.org/https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.43305>
- [17] Khara, M. R., & Kuchyrka, L. I. (2014). Rol melatoninu u kholioreaktivnosti miokarda honadektomovanykh shchuriv pry poshkodzhenni adrenalinom [Role of melatonin in holioreactivity infarction in rats honadektomy damage adrenaline]. *Aktualnye problemy transportnoi medycyny*, 2(2), 21-26. [in Ukrainian].
- [18] Vivid, D., & Bentley, G. E. (2018). Seasonal Reproduction in Vertebrates: Melatonin Synthesis, Binding, and Functionality Using Tinbergen's Four Questions. *Molecules*, 23(3), Article 652. <https://doi.org/10.3390/molecules23030652>
- [19] Korkushko, O. V., & Pishak, V. P. (2012). V. I. Vernadskiy i khronorytmichna orhanizatsiia biosfery [V. I. Vernadskiy and chronorhythmic organization of the biosphere]. *Krovoobih ta hemostaz*, (4), 5-11. [in Ukrainian].
- [20] Malyarenko, Y. E., Malyarenko, T. N., Matyukhov, A. V., & Govsha, Y. A. (2001). Vegetativnoe obespechenie khronotropnoi funktsii serdtsa [The autonomic providing of the heart chronotropic function]. *Vestnik TGU*, 6(2), 230-240. [in Russian].
- [21] Chiglintsev, V. M. (2013). *Vliyanie stimulyatsii bluzhdayushchikh nervov na pokazateli serdechnoi deyatel'nosti i sodержanie oksida azota u rastushchikh gipokinezirovannykh i desimpatizirovannykh krys*: dissertatsiya ... kandidata biologicheskikh nauk : 03.00.13 [Effect of vagus nerve stimulation on cardiac output and nitric oxide content in growing hypokinesis and desympathetic rats (PhD Dissertation)]. Tatar State Humanitarian Pedagogical University. [in Russian].
- [22] Khara, M. R., & Dorokhina, A. M. (2009). Vplyv honadektomii na stan systemy oksydu azotu v shchuriv riznoi stati [The effect of gonadectomy on the status of the system of nitric oxide in rats of different sexes]. *Visnyk naukovykh doslidzhen*, (3), 78-80. [in Ukrainian].
- [23] Dominguez-Rodriguez, A., Abreu-Gonzalez, P., Garcia-Gonzalez, M. J., Kaski, J. C., Reiter, R. J., & Jimenez-Sosa, A. (2007). A unicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of Melatonin as an Adjunct in patients with acute myocardiAl Infarction undergoing primary Angioplasty – The Melatonin Adjunct in the acute myocardiAl Infarction treated with Angioplasty (MARIA) trial: Study design and rationale. *Contemporary Clinical Trials*, 28(4), 532-539. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2006.10.007>
- [24] Reiter, R. J., & Tan, D. X. (2003). Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. *Cardiovascular Research*, 58(1), 10-19. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(02\)00827-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(02)00827-1)



# Heart pathomorphological changes in the long-term alcohol consumption

S. I. Tertyshnyi<sup>ID</sup> \*A,B,D,E,F, T. V. Shuliatnikova<sup>ID</sup> A,D,E, M. D. Zubko<sup>ID</sup> B,C

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Alcohol is one of the leading causes of death worldwide, annually taking 3 million lives. Alcohol abuse to a greater degree negatively affects the functioning of the cardiovascular system.

**Aim.** Studying the severity of pathomorphological changes in the heart of deceased patients with alcoholism.

**Materials and methods.** The heart sections of 35 deceased alcoholic patients (38–60 years old) were taken for histomorphometric analysis. As a comparison group, the material of deceased patients (n = 15), suffering from ischemic heart disease (IHD) and hypertension disease (HD) was studied.

**Results.** In conditions of alcoholism in 100 % of cases myocardium showed marked microcirculatory disorders, increased vascular permeability. In all cases sclerotic changes similar in topography to the comparison group were noted, however, sclerosis of large arterioles was 1.9 times less pronounced than in IHD group. In the myocardium of alcoholics, edema, atrophy of cardiomyocytes bundles and areas of fatty stroma are common. In 20 % of cases, there were mosaic necrosis of individual cardiomyocytes and small focal necrosis of small groups of cells, fibrinoid necrosis of small branches of coronary arteries. Compared with IHD group the number of fatty degenerated cardiomyocytes increased by 1.23 times, fuchsinophilic cardiomyocytes – by 1.38 times with simultaneous reducing severity of sclerotic changes in vessels by 1.9 times. Sclerotic changes in stroma are significantly higher in relation to IHD and HD groups (by 1.88 and 6.94 times, respectively).

**Conclusions.** The morphogenesis of heart damage during alcoholism consists of combination of dystrophic, necrotic, atrophic and sclerotic changes – morphological substrate of alcoholic cardiomyopathy. These signs, based on quantitative analysis, are important criteria necessary for the thanatogenetic analysis in cases of death on the background of alcoholism.

**Key words:**

alcoholism, heart, pathology.

**Pathologia**

2020; 17 (2), 149-155

**\*E-mail:**

[tertyshnyi@i.ua](mailto:tertyshnyi@i.ua)

## Патоморфологічні зміни в серці в умовах тривалого вживання алкоголю

С. І. Тертишний, Т. В. Шулятнікова, М. Д. Зубко

Алкоголь – одна з основних причин смертності в усьому світі, яка щорічно забирає 3 мільйони життів. Тривалий вплив алкоголю призводить до ураження серцево-судинної системи, зумовлюючи її недостатність.

**Мета роботи** – вивчити вираженість патоморфологічних змін в серці хворих з алкоголізмом, які померли.

**Матеріали та методи.** Здійснили гістоморфологічний аналіз препаратів серця 35 померлих віком від 38 до 60 років, які тривало зловживали алкоголем. Як групу порівняння вивчили зміни в серці померлих (n = 15), які страждали на ішемічну хворобу серця (ІХС) і гіпертонічну хворобу (ГХ).

**Результати.** В умовах тривалого зловживання алкоголем в міокарді в 100 % спостережень виявили виражені мікроциркуляторні розлади. В усіх спостереженнях наявні склеротичні зміни, аналогічні за топографією до тих, що визначені в групі порівняння; однак склеротичні зміни в великих артеріолах були в 1,9 раза менше виражені, ніж у хворих на ІХС. У стромі виявили ділянки жирової дистрофії. У 20 % спостережень в міокарді визначали мозаїчні некрози окремих кардіоміоцитів і дрібні ділянки некрозу незначних груп кардіоміоцитів, фібриноїдний некроз стінок дрібних гілок коронарних артерій. У міокарді померлих з алкоголізмом в 1,23 раза збільшується кількість кардіоміоцитів у стані жирової дистрофії, в 1,38 раза – кількість фуксифільних кардіоміоцитів. У судинах в 1,9 раза менше виражені склеротичні зміни порівняно з групою ІХС. Склеротичні зміни в стромі вірогідно вираженіші в групі з алкоголізмом, порівнюючи з померлими з ІХС і ГХ (в 1,88 і 6,94 раза відповідно).

**Висновки.** Морфогенез ураження серця в умовах тривалого зловживання алкоголем складається з дистрофічних, некротичних, атрофічних і склеротичних змін, що є морфологічним субстратом алкогольної кардіоміопатії. Встановлені із застосуванням якісного та кількісного методів порівняльного аналізу патоморфологічні зміни в міокарді, що виникають при алкоголізмі, – важливі морфологічні критерії, необхідні для аналізу танатогенезу і встановлення безпосередньої причини смерті.

**Ключові слова:**

алкоголізм, серце, патогістологічні зміни.

**Патологія. 2020.**

Т. 17, № 2(49).

С. 149-155

## Патоморфологические изменения в сердце в условиях длительного употребления алкоголя

С. И. Тертишный, Т. В. Шулятнікова, М. Д. Зубко

Алкоголь – одна из основных причин смертности во всем мире, ежегодно забирающая 3 миллиона жизней. Длительное воздействие алкоголя приводит к значительному повреждению сердечно-сосудистой системы, вызывая ее недостаточность.

**Ключевые слова:**

алкоголизм, сердце, патогистологические изменения.

**Патология. 2020.**

Т. 17, № 2(49).

С. 149-155

**Цель работы** – изучить выраженность патоморфологических изменений в сердце умерших больных с алкоголизмом.

**Материалы и методы.** Проведен гистоморфометрический анализ препаратов сердца 35 умерших больных алкоголизмом в возрасте от 38 до 60 лет. Как группа сравнения изучены изменения в сердце умерших больных ( $n = 15$ ), страдавших ишемической болезнью сердца (ИБС) и гипертонической болезнью (ГБ).

**Результаты.** При алкоголизме в миокарде умерших в 100 % наблюдений отмечены выраженные микроциркуляторные расстройства, признаки повышенной сосудистой проницаемости. Во всех наблюдениях отмечены склеротические изменения, аналогичные по топографии группе сравнения, однако склероз крупных артериол в 1,9 раза менее выражен, чем у больных с ИБС. В миокарде умерших с алкоголизмом распространены отек, атрофия пучков кардиомиоцитов, жировая дистрофия стромы. В 20 % наблюдений в миокарде отмечены мозаичные некрозы отдельных кардиомиоцитов, участки некроза групп кардиомиоцитов, фибриноидный некроз стенок мелких ветвей коронарных артерий. В миокарде умерших с алкоголизмом в 1,23 раза увеличивается количество кардиомиоцитов в состоянии жировой дистрофии, в 1,38 раза увеличивается количество фуксинофильных кардиомиоцитов. В сосудах в 1,9 раза менее выражены склеротические изменения при сравнении с группой ИБС. Склеротические изменения в строме достоверно более выражены в группе с алкоголизмом в сравнении с умершими с ИБС и ГБ (в 1,88 и 6,94 раза соответственно).

**Выводы.** Морфогенез поражения сердца при алкоголизме складывается из дистрофических, некротических, атрофических и склеротических изменений, образующих морфологический субстрат алкогольной кардиомиопатии. Установленные с использованием качественных и количественных методов сравнительного анализа патоморфологические изменения в миокарде, возникающие при алкоголизме, – важные морфологические критерии, необходимые для анализа танатогенеза и установления непосредственной причины смерти.

Alcoholism continues to be one of the main causes of preventable mortality worldwide, causing 3 million deaths annually [1]. In terms of mortality, alcoholism currently ranks third place in world statistics, yielding to ischemic heart disease (IHD) and neoplasms. According to WHO statistics for 2012, Ukraine ranked fifth in the world in terms of alcohol consumption and second in terms of mortality from alcoholism. Also, according to WHO, Ukraine ranks first in the world in terms of child alcoholism. In Ukraine, about 40 thousand people die from alcoholism every year.

The damaging effect of long-maintained high doses of alcohol is most directed to the cardiovascular system [8,9]. Alcoholism is often a direct cause of hypertension [2,3], non-ischemic dilated cardiomyopathy [4], atrial fibrillation [5,6], and stroke [7]. The effect of ethanol and its metabolites on the myocardium leads to the formation of alcoholic cardiomyopathy, which is detected, as a rule, at the late stages of alcoholism [10]. It is known that in sudden death on the background of alcohol intoxication, morphological signs of myocardial dystrophy were detected in 35–50 % of cases [10].

At present, the pathogenetic mechanisms of myocardial damage in chronic alcohol intoxication have been studied quite well [11,12], however, the description of pathomorphological changes in the heart of those who died in alcoholism is limited – in a few works of recent years [13].

### Aim

To determine the severity of pathomorphological changes in the heart of deceased patients with alcoholism.

### Material and methods

The pathomorphological study based on the results of 35 autopsies of deceased patients with alcoholism (30 men and 5 women) aged 38 to 60 years who were treated in Zaporizhzhia Regional Neuropsychiatric Dispensary. The inclusion criterion was addiction syndrome, established in accordance with ICD-10 diagnostic guidance and recorded in the medical histories of patients. As a comparison group, pathomorphological study of heart of deceased

patients ( $n = 15$ ), suffering from IHD ( $n = 8$ ) and hypertension disease (HD) ( $n = 7$ ) was carried out. In the group of alcoholism, 31 observations presented by cases of chronic course of the disease, and 4 cases – by death of alcoholic patients on the background of acute alcohol excess. Cardiopulmonary insufficiency was the cause of death in 74.28 % of patients (26 cases). In 22.85 % of patients (8 cases) death occurred suddenly, as the result of acute left ventricular failure on the background of alcoholic cardiomyopathy. In 5 cases death occurred as the result of complications of liver cirrhosis against the background of acute hepatorenal insufficiency.

An autopsy was performed within 12–24 hours after death according to standard technique. Myocardial parts for histological examination were taken from the region of the apex, the wall of left ventricle with papillary muscles, and the interventricular septum. Fragments of coronary artery branches were also dissected. The sampling was carried out in the amount necessary for standard histological examination. Material was fixed in 10 % formalin solution on 0.1 pH 7.4–7.6 phosphate buffer, embedded in paraffin; sections were prepared with a thickness of 5  $\mu$ m. Preparations were stained with hematoxylin and eosin, picrofuchsin according to van Gieson, according to Masson. In addition, PAS reaction was used, which allows detecting weak fuchsinophilia of the damaged myocardium. To detect the loss of transverse striation in cardiomyocytes, polarization microscopy was used.

The calculation of the relative area occupied by the studied structural objects was carried out in each case in 5 standard fields of view of the Scope.A1 Carl Zeiss microscope (Germany) using Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1.0  $\times$  426114 camera (Germany) with magnification  $\times$ 200 and the morphometric program Videotest-Morphology 5.2.0.158 (VideoTest LLC, Russia). Statistical processing of the data was carried out using the Statistica® for Windows 13.0 package (StatSoft Inc., license No. JPBZ8041382130ARCN10-J). The median (Me) and the lower and upper quartiles (Q1; Q3) were calculated; the comparison between the two groups of observations was carried out using the Mann-Whitney U-test. Results were considered statistically significant at 95 % ( $P < 0.05$ ).

## Results

Analyzing macroscopic changes of the comparison group where deceased suffered from IHD and HD, the heart had a characteristic macro- and microscopic picture. The myocardial consistency was tightly elastic, epicardium contained a small amount of fatty tissue; the heart cavities were often dilated, changes in the valve apparatus corresponded to the duration of the disease and the nature of the lesion. In hypertension, the valves were most often without change. With concomitant atherosclerosis, the valve cusps, especially along the trailing edge, were thickened, the chordal filaments were thickened and shortened, but there was no significant deformation of the valve cusps.

In IHD, the heart mass averaged  $450.0 \pm 20.0$  g. The coronary arteries were characterized by narrowed lumens due to roundish whitish-yellow fibrous plaques, located more often segmentally, less often – in a circular character. The degree of stenosis ranged from 50 % to 90 %. Microscopic examination revealed small focal diffuse or large focal postinfarction cardiosclerosis. At the periphery of the sclerosis sites, myocardial muscle fibers were in a state of hypertrophy. Individual cardiomyocytes and their small bundles often walled up into massive connective cords (Fig. 1). There were cardiomyocytes containing lipid inclusions, contractionally altered cardiomyocytes, partial fragmentation of muscle fibers. According to morphometry, the total area of cardiomyocytes with fatty degeneration was from 4.37 (3.86; 5.35) %; foci of fuchsinophilic degeneration of cardiomyocytes – 5.1 (3.56; 6.56) %; foci of sclerosis – 8.53 (7.0; 11.1) % in a standardized field of view.

In HD, the heart weight was in the range of 370–700 g, an average of  $505.0 \pm 20.5$  g. The wall thickness of the left ventricle was 1.8–2.5 cm. The papillary and trabecular muscles of the left ventricle were significantly thickened. During histological examination of coronary arteries and their branches, thickening and splitting of the inner elastic membrane with growth between the membranes of the connective tissue were noted. Severe arteriolosclerosis led to a significant decrease in the cross-sectional area of the lumen of arterioles. In the circumference of sclerotized arterioles, marked hypertrophy of muscle fibers was observed, between which small foci of proliferation of fibrous tissue were determined. The cut area occupied by foci of sclerosis was 2.31 (1.72; 2.79) %. Inadequate blood supply to the hypertrophic myocardium through sclerotic vessels led to the development of dystrophic changes in cardiomyocytes. Identified single cardiomyocytes in a state of fatty degeneration and contractionally altered (fuchsinophilic) cardiomyocytes. The cut area occupied by muscle fibers with fatty degeneration averaged 2.14 (2.05; 2.21) %, fuchsinophilic myocyte degeneration occupied 1.34 (1.11; 1.52) % in a conventionally standardized field of view.

In the group of deceased patients with alcoholism, in all cases moderate or severe alcoholic cardiomyopathy detected. The heart was enlarged, its mass was 370–500 g, on average  $435.5 \pm 15.5$  g. Under the epicardium, increased accumulation of fatty tissue was detected, the apex of the heart was often rounded. The myocardium was flabby, light red, sometimes clay in ap-

pearance, with a few whitish streaks. The wall thickness of the right ventricle was 0.3–0.5 cm, the left – 1.4–1.7 cm. The heart cavities were dilated. The endocardium, especially of the left ventricle moderately thickened, with patches of whitish color. The walls of the coronary arteries, in those who died over the age of 50 years, in most cases were thin, elastic; flat fibrous plaques, revealed in vessels, stenosed the lumen up to 20–30 %.

Microscopic examination of the myocardium in 100 % of cases showed pronounced microcirculatory disorders. Circulatory disorders affected both the arterial and venous circulatory system. Marked dyscirculatory disorders were noted: a complete decline of the lumens in some vessels and overfilling by blood the others. Part of the microvessels was filled with plasma, erythrocyte or leukocyte aggregates, hemolyzed erythrocytes. Meanwhile, severe circulatory disorders, their combination with pronounced changes in the perivascular space in the form of small-droplet fatty degeneration of cardiomyocytes, sclerotic changes, not accompanied by atherosclerotic changes in arteries, which was typical for IHD/HD group. In the arteries, the inner elastic membrane was clearly traced, the thickness of the muscle layer was slightly thinned, and the adventitia membrane was with areas of excision.

There were signs of increased vascular permeability: perivascular edema of varying severity, minor perivascular hemorrhages, plasmorrhagia with the accumulation of PAS-positive substances in the perivascular space. In 5 cases (14.28 %), perivascular and intramural hemorrhages, contracture lesions of varying severity and multiple foci of myocytolysis were noted (Fig. 2A). In single microvessels fibrin thrombi were found. In the history of the disease in such patients, more pronounced manifestations of heart failure were observed in vivo. In cases of death from acute coronary insufficiency, acute microcirculatory disorders were pronounced.

The presence of interstitial edema in the myocardium and atrophy of the bundles of cardiomyocytes often led to exposure of the vascular bundles, which often could be found in the loose stroma (Fig. 2B). Such microvessels had a sinuous course, often with multiple kinks. The density of adventitious cells on the surface of such vessels was uneven.

Disorders in the microvasculature were often accompanied by flattening in microvessels. A large number of fibroblasts and histiocytes appeared in such areas. Over time, obliteration of the microvessels took place, in the circumference of which the number of collagen fibers increased, spreading between myocytes over considerable distances. Dystrophic changes were observed in myocytes, which were accompanied by the loss of transverse striation, uneven staining of the cytoplasm, and fuzzy borders of individual cells, which was well detected by polarization microscopy (Fig. 3).

In the walls of the coronary arteries and their branches, one could find foci of fibrinoid necrosis, desquamation of the endothelium, plasmorrhagia, perivascular edema.

Along with microcirculatory disorders, sclerotic changes similar in topography as in the comparison group were observed in all cases. However, in the group of IHD foci of atheromatosis were detected in vessels often with

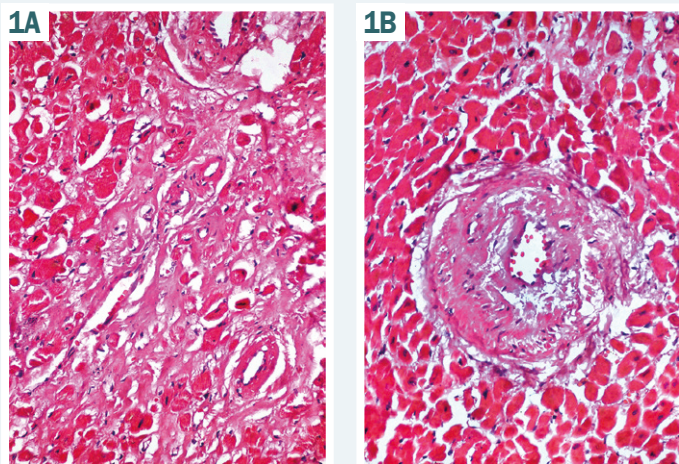


Fig. 1. **A:** Diffuse sclerosis and peripheral cardiomyocyte hypertrophy. IHD. **B:** Severe arteriosclerosis and hypertrophy of cardiomyocytes. HD. H-E, Mag.  $\times 200$ .

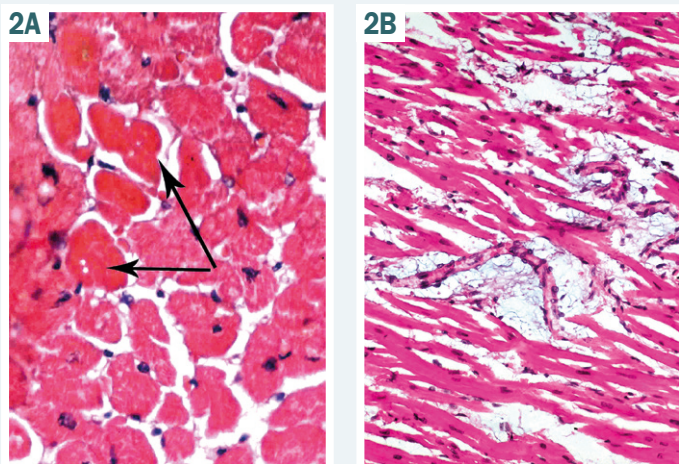


Fig. 2. **A:** The group of cardiomyocytes with myocytolysis (shown by arrow). H-E, Mag.  $\times 400$ . **B:** Exposure of vascular bundles in the area of atrophied myocardium. Alcoholism. H-E, Mag.  $\times 200$ .

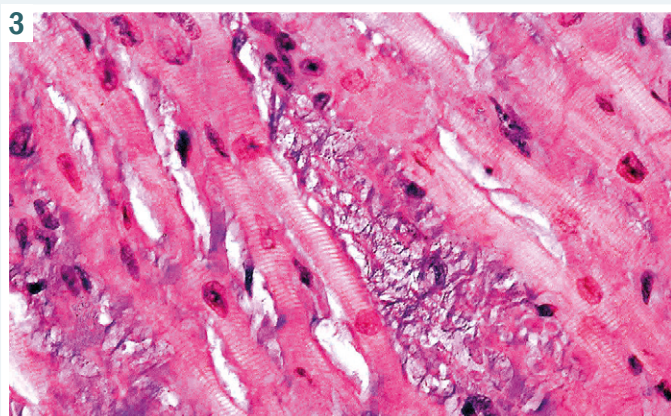


Fig. 3. Loss of transverse striation, blurred borders between myocytes, areas of sclerosis. H-E, Mag.  $\times 400$ . Polarization microscopy.

the accumulation of cholesterol crystals and large number of foamy macrophages (mainly in the middle membrane of the arteries and to a lesser extent in the intima), there was presence of dystrophic calcinosis, which was not typical

for alcoholism group. The most pronounced sclerosis was in arterioles with a diameter of 30–50 microns. Vascular sclerosis of the microvasculature (diameter 7–15 microns) was also commonly observed. Sclerotic changes in large arterioles were by 1.9 times less pronounced than in patients with IHD. Sclerotic changes in the myocardium were diffuse; uniform perivascular and interstitial components of sclerosis were noted. Sclerotic processes were also expressed in the endocardium, especially in cases of a longer alcohol history. Endocardial thickness was uneven in different divisions (Fig. 4A). In areas of the myocardium that were in contact with the sclerosed sections of the endocardium, pronounced dystrophic changes were observed, since trophic support of these areas occurs from the side of heart cavities. The muscle fibers adjacent to the endocardium were hypertrophied, of different thickness. In hypertrophied myocytes, along with an increase of the cytoplasmic sector and the size of the nucleus, dystrophic changes were also noted, which manifested themselves in limited areas of disappearance of transverse striation along the fiber. Uneven staining of adjacent myocytes was noted due to a change in their physicochemical properties. Areas with severe cardiomyocyte hypertrophy alternated with areas of atrophy, which were located both under the endocardium and intramurally. Between separate bundles of atrophied cardiomyocytes there was a loose connective tissue stroma with alternating areas of more pronounced collagenization.

Accumulations of adipose tissue often found in stroma, which formed small, optically empty cavities with an area of 80–130  $\mu\text{m}^2$ , were located at considerable distance from each other. Patches of adipose tissue were more often located in close proximity to blood vessels. With a long history of alcoholism, adipose tissue formed significant areas or diffusely penetrated myocardium with stratification of cardiomyocytes bundles into individual cells. The total area occupied by adipose tissue in some parts of the heart amounted to 32 % of the field of view of the microscope with magnification of 200 times (Fig. 5A), however, the average values of the fatty degeneration area/field of view did not exceed 6.5 %. Cardiomyocytes that were adjacent to adipocytes had a wavy course (Fig. 5A), which is regarded as a possible morphological sign of heart rhythm disturbance. Most of these myocytes were characterized by atrophic changes, some of cells were fragmented. Around the bundles and individual myocytes, a varying severity of the cell-mesenchymal reaction was observed with a predominance of histiocytes, macrophages, and lymphocytes.

The pronounced fatty degeneration was observed in papillary muscle cardiomyocytes. The number of such cardiomyocytes amounted to 60 % of the field of view. Severe fatty degeneration of these myocardium areas, apparently, determined valvular dysfunction in such patients, which was recorded in vivo by instrumental methods. Significant foci of karyocytolysis were noted in subendocardial areas (Fig. 5B).

In 20 % of cases, mosaic necrosis of individual cardiomyocytes and foci of necrosis of small groups of cardiomyocytes, as well as fibrinoid necrosis of small branches of the coronary arteries were found in the myocardium, which was well documented in Masson staining (Fig. 6). In such areas, the presence of stasis in small arterioles and capillaries, stromal edema were detected.

Morphometric analysis showed that in comparison with the deceased with IHD the number of cardiomyocytes in state of fatty degeneration increased by 1.23 times ( $P < 0.05$ ) (average area 5.4 (4.37; 6.27) %) and by 1.38 times ( $P < 0.05$ ) – the number of fuchsinophilic cardiomyocytes (average area 7.04 (6.16; 8.15) %). The area of sclerotic changes in stroma reached an average of 16.04 (14.4; 17.15) %, which is significantly higher in comparison with IHD and HD group (1.88 and 6.94 times, respectively ( $P < 0.05$ )). In conditions of prolonged alcohol intoxication, sclerotic changes were diffuse in nature and combined with significant atrophic changes in cardiomyocytes.

Based on the obtained data, morphological signs of alcoholic cardiomyopathy (ACMP) can be distinguished, which is characterized by arteriosclerosis and thickening of the walls of the coronary arteries without atherosclerotic changes in these vessels or with minimal signs of atherosclerosis, as well as subendocardial, perivascular and diffuse small focal cardiosclerosis. Uneven hypertrophy and atrophy of muscle fibers, their fragmentation, the presence of adipose tissue accumulations in the stroma and under the endocardium, fatty degeneration of cardiomyocytes and their focal fuchsinophilia are characteristic for ACMP.

## Discussion

The study showed that in IHD, HB and ACMP there are similar morphological changes in heart, and any specific diagnostic criteria associated with the effect of alcohol on the heart are quite difficult to distinguish. Thus, in addition to the direct action of ethanol on cardiomyocytes, chronic micro- and macroangiopathy, as well as increasing perivascular sclerosis, contribute to the development of ACMP. Due to the pathology of the histohematic barriers and the membrane-toxic action of ethanol to the myocardium, heterogeneous changes increase: atrophy, hypertrophy of muscle fibers and replacement sclerosis. In cardiomyocytes, we revealed pronounced fatty degeneration, both parenchymal and stromal, with an increased volume of adipose tissue in the myocardial interstitium (obesity of heart). These processes, as indicated by a number of authors, are progressing due to increasing changes in the metabolic, synthetic and hematopoietic functions of the liver, as well as the result of the neuropathic effect of ethanol on the conduction system of the heart. Our analysis also allows us to say that alcoholism does not exclude the development of atherosclerosis, but atherosclerotic vascular changes are much less pronounced in comparison with IHD and HD. Previous studies confirm that pathomorphological changes in alcoholic cardiomyopathy, IHD, idiopathic dilated cardiomyopathy are not much specific to allow differential diagnosis of these conditions [13]. In relation to hypertension, it should be noted, that HD is a practically obligate component of the alcoholic lesion of the cardiovascular system [14]. In the pathogenesis of alcoholic hypertension, violation of vascular tone regulation plays leading role, which is determined by toxic effect of ethanol on various parts of the nervous system [15].

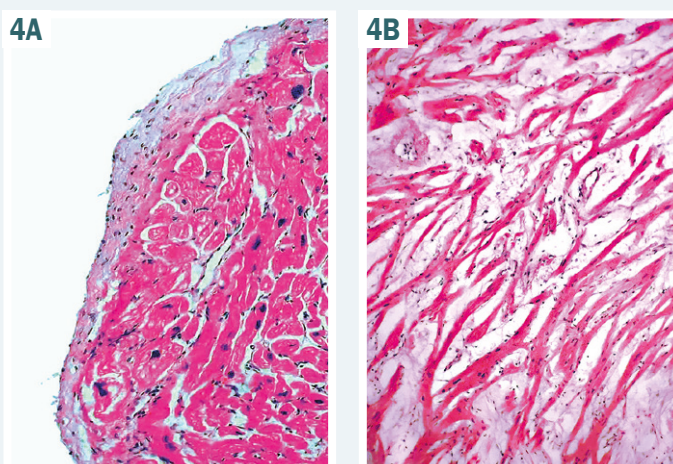


Fig. 4. **A:** Uneven thickening of the endocardium. H-E. Mag.  $\times 400$ . **B:** Severe atrophy of cardiomyocytes. H-E. Mag.  $\times 200$ .

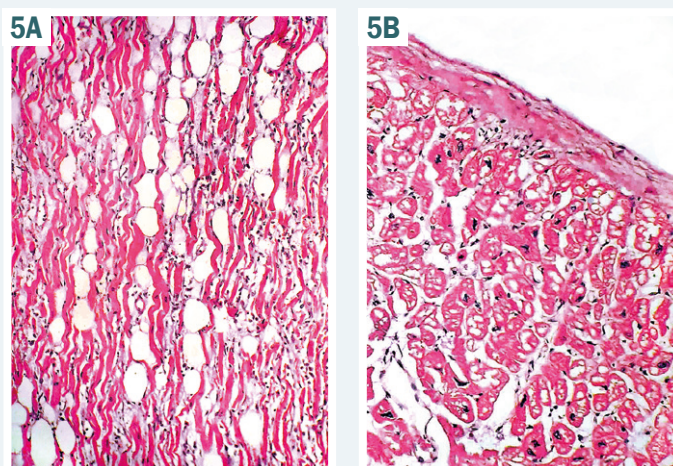


Fig. 5. **A:** Severe mesenchymal fatty degeneration of the myocardium. Dystrophic and atrophic changes in cardiomyocytes and a diffuse cell-mesenchymal reaction. **B:** karyocytolysis of cardiomyocytes of the papillary muscles. H-E. Mag.  $\times 200$ .

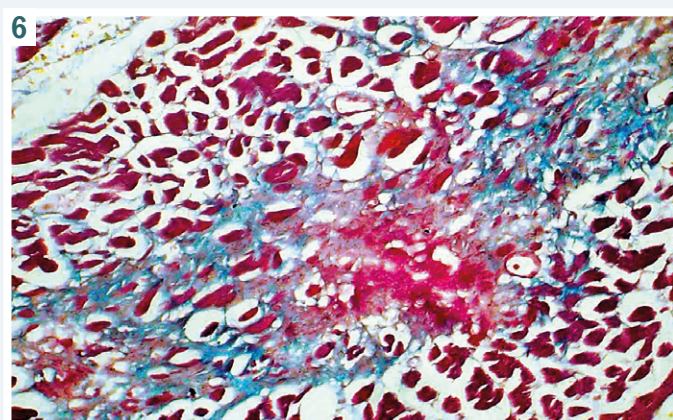


Fig. 6. Fuchsinophilic, homogeneous area of necrosis, surrounded by areas of sclerosis. Interstitial edema. Masson staining. Mag.  $\times 200$ .

Macroscopic changes in heart of patients with alcoholism are characterized by dilation of heart cavities, excessive accumulation of fatty tissue in the epicardium, while the heart mass was less than in comparison groups.

The analysis of histological preparations revealed a combination of dystrophic, microcirculatory, sclerotic, atrophic and necrotic changes. Among the most characteristic pathomorphological features of alcoholic cardiomyopathy, microcirculation disorders in the form of aggregation and sludge of erythrocytes in venules, vascular plasmation, as well as changes in cardiomyocytes such as cardiomyocytolysis and dissociation of cardiomyocytes were noted. Against the background of microcirculatory disorders, stromal edema develops, which is also a characteristic sign of ACMF.

Despite the absence of specific criteria for alcoholic myocardial damage, the most characteristic histological criteria can be distinguished: the alternation of hypertrophic and atrophied cardiomyocytes in a state of severe parenchymal dystrophy; pronounced mesenchymal fatty degeneration; plasmation of the vascular walls, microcirculatory disorders in the form of erythrocytic stasis, sludge phenomenon and precapillary fibrosis.

Frequently recorded changes in alcoholic damage are sclerotic changes, which in our observations were diffuse, despite the fact that the coronary arteries most often remained intact. Apparently, the pathogenesis of sclerotic changes in alcoholism is not associated with insufficient blood circulation, which was observed in patients with IHD and hypertension, and depends mainly on toxic damage of the vascular wall with the subsequent replacement of irreversibly damaged structures with connective tissue. Most likely sclerosis of arterial network results in decrease of the tone of the intraorganic arteries and, accordingly, the arterial pressure in them also falls, which leads to a decrease in the volume of blood entering the microvasculature. Moreover, it is likely that for a long time the blood supply to organs and tissues is compensated by the formation of new capillaries. However, repeated alcoholic excesses eventually exhaust the compensatory reserves of the body. As a result, the number of capillaries and venules gradually decreases, which leads to progressive metabolic disorders, the progression of chronic hypoxia, followed by increased sclerotic processes in the myocardium. Given the nature of morphological changes in the myocardium, modern therapeutic strategies should be directed on preventing oxidative damage, myocyte hypertrophy, interstitial fibrosis, and cardiomyocyte death [16].

## Conclusions

1. The morphogenesis of heart damage in the conditions of alcoholism consists of a combination of various degrees severity dystrophic, necrotic, atrophic and sclerotic changes, which are the morphological substrate of alcoholic cardiomyopathy.

2. According to morphometric analysis, as compared to the comparison IHD group, myocardium of patients with alcoholism is characterized by increase in number of cardiomyocytes in state of fatty degeneration (by 1.23 times), fuchsinophilic cardiomyocytes (by 1.38 times) and simultaneous reducing of the severity of sclerotic changes in vessels by 1.9 times. Sclerotic changes in stroma are significantly more pronounced in group with alcoholism compared with IHD and HD groups (by 1.88 and 6.94 times, respectively).

3. Pathomorphological changes in the myocardium that occur during alcoholism, based on qualitative and quantitative methods of analysis are important morphological criteria for establishing thanatogenesis and the immediate cause of death.

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

Надійшла до редакції / Received: 18.05.2020  
Після доопрацювання / Revised: 28.05.2020  
Прийнято до друку / Accepted: 02.06.2020

## Information about authors:

Tertyshnyi S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-3856-4234](https://orcid.org/0000-0003-3856-4234)

Shuliatnikova T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-0196-9935](https://orcid.org/0000-0002-0196-9935)

Zubko M. D., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3683-4010](https://orcid.org/0000-0002-3683-4010)

## Відомості про авторів:

Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Шулятнікова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Зубко М. Д., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Тертышный С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Зубко М. Д., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Witkiewicz, K., Litten, R. Z., & Leggio, L. (2019). Advances in the science and treatment of alcohol use disorder. *Science advances*, 5(9), eaax4043. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax4043>
- [2] Pan, X. Q., Zhang, Y. H., Liu, Y. Y., & Tong, W. J. (2010). Interaction between the C(-344)T polymorphism of CYP11B2 and alcohol consumption on the risk of essential hypertension in a Chinese Mongolian population. *European journal of epidemiology*, 25(11), 813-821. <https://doi.org/10.1007/s10654-010-9504-y>
- [3] Piano, M. R. (2017). Alcohol's Effects on the Cardiovascular System. *Alcohol Research-Current Reviews*, 38(2), 219-242.
- [4] Maisch, B. (2016). Alcoholic cardiomyopathy: The result of dosage and individual predisposition. *Alkoholische Kardiomyopathie: Eine Folge der Dosis und der individuellen Prädisposition. Herz*, 41(6), 484-493. <https://doi.org/10.1007/s00059-016-4469-6>
- [5] Tolstrup, J. S., Wium-Andersen, M. K., Ørsted, D. D., & Nordestgaard, B. G. (2016). Alcohol consumption and risk of atrial fibrillation: Observational and genetic estimates of association. *European journal of preventive cardiology*, 23(14), 1514-1523. <https://doi.org/10.1177/2047487316641804>

- [6] Gillis, A. M. (2020). A Sober Reality? Alcohol, Abstinence, and Atrial Fibrillation. *The New England journal of medicine*, 382(1), 83-84. <https://doi.org/10.1056/NEJMe1914981>
- [7] Larsson, S. C., Wallin, A., Wolk, A., & Markus, H. S. (2016). Differing association of alcohol consumption with different stroke types: a systematic review and meta-analysis. *BMC medicine*, 14(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0721-4>
- [8] Paloczi, J., Matyas, C., Cinar, R., Varga, Z. V., Hasko, G., Schindler, T. H., Kunos, G., & Pacher, P. (2019). Alcohol Binge-Induced Cardiovascular Dysfunction Involves Endocannabinoid-CB1-R Signaling. *JACC. Basic to translational science*, 4(5), 625-637. <https://doi.org/10.1016/j.jaccts.2019.05.007>
- [9] Rehm, J., & Roerecke, M. (2017). Cardiovascular effects of alcohol consumption. *Trends in cardiovascular medicine*, 27(8), 534-538. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2017.06.002>
- [10] Ajani, U. A., Gaziano, J. M., Lotufo, P. A., Liu, S., Hennekens, C. H., Buring, J. E., & Manson, J. E. (2000). Alcohol consumption and risk of coronary heart disease by diabetes status. *Circulation*, 102(5), 500-505. <https://doi.org/10.1161/01.cir.102.5.500>
- [11] Steiner, J. L., & Lang, C. H. (2017). Etiology of alcoholic cardiomyopathy: Mitochondria, oxidative stress and apoptosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 89, 125-135. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2017.06.009>
- [12] Fernández-Solà J. (2020). The Effects of Ethanol on the Heart: Alcoholic Cardiomyopathy. *Nutrients*, 12(2), 572. <https://doi.org/10.3390/nu12020572>
- [13] Li, X., Nie, Y., Lian, H., & Hu, S. (2018). Histopathologic features of alcoholic cardiomyopathy compared with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Medicine*, 97(39), e12259. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012259>
- [14] Husain, K., Ansari, R. A., & Ferder, L. (2014). Alcohol-induced hypertension: Mechanism and prevention. *World journal of cardiology*, 6(5), 245-252. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i5.245>
- [15] Matsumoto, C., Miedema, M. D., Ofman, P., Gaziano, J. M., & Sesso, H. D. (2014). An expanding knowledge of the mechanisms and effects of alcohol consumption on cardiovascular disease. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention*, 34(3), 159-171. <https://doi.org/10.1097/HCR.0000000000000042>
- [16] Fernández-Solà, J., & Planavila Porta, A. (2016). New Treatment Strategies for Alcohol-Induced Heart Damage. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1651. <https://doi.org/10.3390/ijms17101651>

## Особливості клінічного та метаболічного профілю хворих на ішемічну хворобу серця, що асоційована з цукровим діабетом 2 типу (ретроспективний аналіз)

Н. С. Михайловська<sup>1</sup>\*, Т. О. Кулинич<sup>1</sup>, О. В. Шершньова<sup>1</sup>, Є. І. Базун<sup>1</sup>,  
І. С. Бочарникова<sup>2</sup>, В. Е. Падафа<sup>2</sup>, А. О. Колесникова<sup>2</sup>, Ю. В. Гура<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>КНП «Міська лікарня № 4» Запорізької міської ради, Україна

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

**Ключові слова:** ішемічна хвороба серця, цукровий діабет 2 типу, метаболічні порушення, ожиріння, кардіальне ремоделювання.

**Патологія.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 156-163

\*E-mail: [natalizgmu@gmail.com](mailto:natalizgmu@gmail.com)

Ішемічна хвороба серця (ІХС) залишається однією з провідних причин інвалідизації та смертності населення. Майже у 30 % пацієнтів з ІХС наявний цукровий діабет (ЦД), що обтяжує перебіг основного захворювання, погіршує прогноз та якість життя хворих. Але клінічні особливості цієї коморбідної патології остаточно не з'ясовані.

**Мета роботи** – встановити вплив супутнього цукрового діабету 2 типу на клініко-метаболічні особливості хворих на ІХС.

**Матеріали та методи.** Здійснили ретроспективний аналіз 256 медичних карток стаціонарних хворих на ІХС: стабільну стенокардію напруження II–III функціонального класу віком від 36 до 89 років (66 (59;71) років; 150 жінок, 106 чоловіків). Хворих поділили на 2 групи: перша (основна) – 213 пацієнтів з ІХС у поєднанні з ЦД 2 типу; 2 друга (порівняння) – 43 хворих з ізольованим перебігом ІХС. Статистичне опрацювання виконали, застосувавши пакет ліцензійної програми Statistica 13.0.

**Результати.** Встановили, що перебіг ІХС на тлі ЦД 2 типу асоціюється зі збільшенням кількості серцево-судинних ускладнень (аритмічних порушень, атеротромботичних подій). У хворих на ІХС, що поєднана з ЦД 2 типу, індекс маси тіла (на 9,39 %), рівні систолічного (на 9,28 %) та діастолічного (на 9,09 %) артеріального тиску, глюкози (на 53,92 %), глікованого гемоглобіну (на 45,81 %), загального холестерину (на 11,13 %), тригліцеридів (на 18,86 %) переважали відповідні показники у хворих на ІХС без ЦД 2 типу ( $p < 0,05$ ). Багатокomпонентний метаболічний синдром зафіксували у 89 % хворих на ІХС і ЦД 2 типу. У пацієнтів з ІХС, що асоційована з ЦД 2 типу, порівняно з хворими на ІХС без ЦД 2 типу фракція викиду лівого шлуночка (ФВ ЛШ) вірогідно менша на 15,22 %, а середній тиск у легеневій артерії (СТЛА) вірогідно більший на 29,41 %. Частота реєстрації систолічної дисфункції ЛШ ( $\chi^2 = 2,75$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) та підвищення середнього тиску в легеневій артерії ( $\chi^2 = 2,87$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) у хворих на ІХС і ЦД 2 типу також вірогідно більша. Розрахунок відносного ризику дав змогу встановити взаємозв'язок ЦД 2 типу з ризиком розвитку систолічної дисфункції ЛШ (ВР = 2,238; ДІ 1,322–3,788;  $p < 0,05$ ) та підвищенням СТЛА (ВР = 3,337; ДІ 1,293–8,615;  $p < 0,05$ ). Виявили, що у хворих на ІХС і ЦД 2 типу переважала концентрична гіпертрофія міокарда ЛШ (77 %), а в пацієнтів з ізольованою ІХС домінувало концентричне ремоделювання ЛШ (69 %).

**Висновки.** Супутній ЦД 2 типу має несприятливий вплив на перебіг ІХС унаслідок збільшення кількості атеротромботичних подій та аритмічних ускладнень. У хворих на ІХС, що поєднана з ЦД 2 типу, превалює багатокomпонентний метаболічний синдром, який характеризується проатерогенним потенціалом ліпідного профілю, вищим ступенем артеріальної гіпертензії та ожиріння. Інтенсивність процесів кардіального ремоделювання у хворих на ІХС зростає за наявності ЦД 2 типу, що підтверджується формуванням прогностично несприятливого типу структурної перебудови ЛШ на тлі зниження глобальної систолічної функції ЛШ та підвищення середнього тиску в легеневій артерії.

**Key words:** coronary artery disease, type 2 diabetes mellitus, obesity, hypercholesterolemia, remodeling.

**Pathologia** 2020; 17 (2), 156-163

### Peculiarities of clinical and metabolic profile of patients with coronary artery disease associated with type 2 diabetes mellitus (retrospective analysis)

N. S. Mykhailovska, T. O. Kulynych, O. V. Shershynova, Ye. I. Bazun, I. S. Bocharnykova, V. E. Padafa, A. O. Kolesnykova, Yu. V. Hura

Coronary artery disease (CAD) is one of the most common reasons of disability and mortality. Diabetes mellitus occurs in 30 % of patients with IHD and aggravates the course of the underlying disease, worsens the prognosis and quality of life. However, the clinical features of this comorbidity are not fully understood.

**Aim of the study:** to determine the effect of type 2 diabetes mellitus on the clinical and metabolic features of patients with coronary artery disease.

**Materials and methods.** Retrospective analysis of 256 medical records of inpatients with CAD (males – 106, females – 150, age – 66 (59; 71) years) was performed. The patients were divided into two groups: Group 1 (main) – 213 patients with CAD with type 2 DM; Group 2 (comparison) – 43 patients with isolated CAD. Statistical processing was carried out using Statistica 13.0 software package.

**Results.** It was found that the course of CAD in diabetic patients is associated with higher frequency of cardiovascular complications (arrhythmias, atherothrombotic events). It has been found, that in patients with CAD associated with type 2 DM, body mass



index (by 9.39 %), levels of systolic (by 9.28 %) and diastolic (by 9.09 %) blood pressure, glucose (by 53.92 %), glycosylated hemoglobin (by 45.81 %), total cholesterol (by 11.13 %), triglycerides (by 18.86 %) exceeded the corresponding indicators in patients with isolated CAD ( $P < 0.05$ ). Multicomponent metabolic syndrome was reported in 89 % of patients with type 2 DM. In patients with CAD, associated with type 2 DM, if compared to CAD patients without DM, the ejection fraction of the left ventricle (EF LV) was significantly lower by 15.22 %, and the mean pulmonary artery pressure (mPAP) was significantly higher by 29.41 %. The frequency of LV systolic dysfunction ( $\chi^2 = 2.75$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ) and an increase of mPAP ( $\chi^2 = 2.87$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ) in patients with CAD and type 2 DM was also significantly higher. The calculation of the relative risk allowed to establish the interrelationship between type 2 DM with the risk of developing of LV systolic dysfunction (RR = 2.238; CI 1.322–3.788;  $P < 0.05$ ) and increased mPAP (RR = 3.337; CI 1.293–8.615;  $P < 0.05$ ). Concentric left ventricular hypertrophy (77 %) was predominant in patients with CAD and type 2 DM, and in patients with isolated coronary heart disease a concentric LV remodeling (69 %) was dominating.

**Conclusions.** Concomitant diabetes mellitus affects negatively the course of CAD by increasing the frequency of arrhythmias and atherothrombotic events. In patients with CAD and type 2 DM a multicomponent metabolic syndrome prevails, that is characterized by proatherogenic changes in the lipid profile, higher degree of hypertension and obesity. The intensity of cardiac remodeling in patients with CAD was higher in the presence of type 2 DM, which is confirmed by the formation of a prognostically unfavorable type of LV remodeling on the background of the LV systolic function decrease and significant mPAP increase.

### Особенности клинического и метаболического профиля больных ишемической болезнью сердца, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа (ретроспективный анализ)

Н. С. Михайловская, Т. О. Кулинич, О. В. Шершнева, Е. И. Базун, И. С. Бочарникова, В. Э. Падафа, А. О. Колесникова, Ю. В. Гура

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) остается одной из ведущих причин инвалидизации и смертности населения. Почти у 30 % пациентов с ИБС диагностирован сахарный диабет (СД), который отягощает течение основного заболевания, ухудшает прогноз и качество жизни больных. Однако клинические особенности этой коморбидной патологии окончательно не выяснены.

**Цель работы** – установить влияние сопутствующего сахарного диабета 2 типа на клинико-метаболические особенности больных ИБС.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ 256 медицинских карт стационарных больных ИБС: стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса в возрасте от 36 до 89 лет (66 (59; 71) лет; 150 женщин, 106 мужчин). Больных поделили на 2 группы: первая (основная) – 213 пациентов с ИБС в сочетании с СД 2 типа; вторая (сравнения) – 43 больных с изолированным течением ИБС. Статистическая обработка проведена с применением пакета лицензионной программы Statistica 13.0.

**Результаты.** Установлено, что течение ИБС на фоне СД 2 типа ассоциируется с увеличением количества сердечно-сосудистых осложнений (аритмических нарушений, атеротромботических событий). Отмечено, что у больных ИБС, ассоциированной с СД 2, индекс массы тела (на 9,39 %), уровни систолического (на 9,28 %) и диастолического (на 9,09 %) артериального давления, глюкозы (на 53,92 %), гликированного гемоглобина (на 45,81 %), общего холестерина (на 11,13 %), триглицеридов (на 18,86 %) превосходили соответствующие показатели пациентов с ИБС без СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). Многокомпонентный метаболический синдром зафиксирован у 89 % больных ИБС и СД 2 типа. У пациентов с ИБС, ассоциированной с СД 2 типа, по сравнению с больными ИБС без СД 2 типа, фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) достоверно меньше на 15,22 %, а среднее давление в легочной артерии (СДЛА) достоверно выше на 29,41 %. Частота регистрации систолической дисфункции ЛЖ ( $\chi^2 = 2,75$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) и повышения среднего давления в легочной артерии ( $\chi^2 = 2,87$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) у больных ИБС и СД 2 типа также достоверно выше. Расчёт относительного риска позволил установить взаимосвязь СД 2 типа с риском развития систолической дисфункции ЛЖ (ОР = 2,238; ДИ 1,322–3,788;  $p < 0,05$ ) и повышением СДЛА (ОР = 3,337; ДИ 1,293–8,615;  $p < 0,05$ ). Установлено, что у больных ИБС и СД 2 типа преобладала концентрическая гипертрофия миокарда ЛЖ (77 %), а у больных с изолированной ИБС доминировало концентрическое ремоделирование ЛЖ (69 %).

**Выводы.** Сопутствующий СД 2 типа оказывает неблагоприятное влияние на течение ИБС за счет увеличения количества атеротромботических событий и аритмических осложнений. У больных ИБС, коморбидной с СД 2, превалирует многокомпонентный метаболический синдром, характеризующийся проатерогенным потенциалом липидного профиля, более высокой степенью артериальной гипертензии и ожирения. Интенсивность процессов кардиального ремоделирования у больных ИБС возрастает при наличии СД 2 типа, что подтверждается формированием прогностически неблагоприятного типа структурной перестройки ЛЖ на фоне снижения глобальной систолической функции ЛЖ и достоверного повышения СДЛА.

#### Ключевые слова:

ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2 типа, метаболические нарушения, ожирение, кардиальное ремоделирование.

Патология. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 156-163

У сучасній клініці внутрішніх хвороб надзвичайно поширеним явищем є коморбідність – наявність в одного хворого кількох захворювань внутрішніх органів, що пов'язані між собою єдиним патогенетичним механізмом [1]. Ця проблема набуває особливого соціального та медичного значення у випадках, коли поєднані нозології мають суттєвий вплив на якість і тривалість життя хворих [2,3]. Чималу частку коморбідних станів

становлять патології системи кровообігу та ендокринної системи [4], зокрема асоціація ішемічної хвороби серця та цукрового діабету [5].

Цукровий діабет (ЦД) – важлива медико-соціальна проблема сучасної медицини, що зумовлено високою захворюваністю та поширеністю, частим виникненням хронічних мікро- та макросудинних ускладнень [5,6]. У світі, й особливо в нашій країні, захворюваність на

цукровий діабет зростає та становить 2,0–2,5 млн. Ішемічну хворобу серця (ІХС) у хворих на ЦД 2 типу діагностують у 2–4 рази частіше порівняно з особами відповідного віку без ЦД [7]. Відзначимо, що 3 з 4 хворих на ЦД помирають від причин, що пов'язані з атеросклерозом, здебільшого – від ІХС [8].

За результатами Фремінгемського дослідження, наявність ЦД підвищує ризик розвитку ІХС у чоловіків на 66,0 %, у жінок – на 20,3 % [9]. У Whitehall Study встановили залежність ризику ІХС і при субклінічних формах порушення вуглеводного обміну, і при маніфестному ЦД [10]. У дослідженні MRFIT виявлено, що ЦД – важливий фактор ризику ІХС, що не залежить від рівня загальної холестерину (ЗХС), артеріального тиску (АТ) та статусу паління.

Епідеміологічні дослідження довели, що ризик коронарних ускладнень у хворих на ЦД без ІХС дорівнює ризику у хворих, які вже мають клінічні прояви ІХС [7]. Під час 6-річного спостереження за частотою виникнення інфаркту міокарда (ІМ) або коронарної смерті O. Reges et al. встановили, що в пацієнтів із ЦД вона становить 20,0 %, а в пацієнтів без діабету – 3,5 %. Частота повторного ІМ у групі з ЦД також висока – 45 % випадків, на відміну від хворих без ЦД, в яких цей показник – 18,8 % [11]. Аналогічні дані отримали T. R. Einarson et al., які показали, що частота серцево-судинних подій у чоловіків, які хворі на ЦД, з ІМ в анамнезі становить 50,2 %, а в чоловіків без діабету, але з ІМ в анамнезі – 29,0 % [12]. Згідно з даними метааналізу 37 проспективних досліджень, ризик коронарної смерті, що асоціюється з ЦД, у жінок на 50 % більший, ніж у чоловіків [12].

Відомо, що у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС), асоційовану з ЦД, перебіг захворювання більш несприятливий, але клінічні особливості цієї коморбідної патології остаточно не визначені [6, 13], що обґрунтовує доцільність наукового дослідження.

## Мета роботи

Встановити вплив супутнього цукрового діабету 2 типу на клініко-метаболічні особливості хворих на ІХС.

## Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективний аналіз 256 медичних карток стаціонарних хворих на ІХС: стабільну стенокардію напруження II–III функціонального класу віком від 36 до 89 років (66 (59; 71) років; 150 жінок, 106 чоловіків). Хворих поділили на 2 групи: перша (основна) – 213 пацієнтів з ІХС, що поєднана з ЦД 2 типу; друга (порівняння) – 43 хворих з ізолюваним перебігом ІХС.

Діагноз ІХС і функціонального класу стабільної стенокардії ґрунтувався на комплексному аналізі скарг, результатів фізикального обстеження, лабораторних та інструментальних досліджень згідно з Національними стандартами (наказ МОЗ України від 02.03.2016 № 152 (зі змінами 23.09.2016 № 994)). Діагноз ЦД 2 типу верифікований на підставі анамнезу, аналізу амбулаторних карт пацієнтів, лабораторних показників із використанням класифікації, що рекомендована експертами ВООЗ у 1999 р.

Критерії залучення в дослідження: інформована згода пацієнта, наявність верифікованої ІХС і ЦД 2 типу. Критерії виключення: декомпенсована серцева недостатність, гострий коронарний синдром або гостре порушення мозкового кровообігу менш ніж за 3 місяці до початку дослідження, соматична патологія у стадії декомпенсації, гіпотиреоз, вроджені або набуті вади серця, психічні захворювання, системна, онкологічна, аутоімунна патологія.

Усім хворим виконали комплексне клінічне обстеження з урахуванням скарг, даних анамнезу, об'єктивних, лабораторних та інструментальних методів дослідження згідно з загальноприйнятими стандартами (наказ МОЗ України №564 від 13.06.2016 р.).

Антропометричне дослідження включало вимірювання зросту хворого (см), маси тіла (кг) із наступним розрахунком індексу маси тіла (індекс Кетле) за формулою:  $IMT = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст (м}^2\text{)}$ . ІМТ від 18,5 до 24,9 відповідав нормальному діапазону.

Рівень глюкози у плазмі крові визначали глюкозооксидазним методом, використовуючи набори реактивів BIOLATEST компанії PLIVA-Lachema (Чеська Республіка). Вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) визначили фотометричним методом, застосовуючи набори реактивів BIOLATEST компанії PLIVA-Lachema (Чеська Республіка). Рівень загальної холестерину (ЗХС), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВП), тригліцеридів (ТГ) визначали з використанням набору реактивів BIOLATEST компанії PLIVA-Lachema (Чеська Республіка) за допомогою автоматичного біохімічного фотометра-аналізатора.

Ехокардіографічне дослідження здійснили на ультразвуковому діагностичному сканері «MyLab40» фірми «eSaote» (Італія) згідно з рекомендаціями Американського та Європейського товариства ехокардіографії [14]. Визначили розмір лівого передсердя (ЛП), розмір лівого шлуночка (ЛШ) в систолу (КСР) і діастолу (КДР), товщину міжшлуночкової перетинки (МШП) і задньої стінки ЛШ (ЗСПШ) у діастолу [14]. Оцінюючи систолічну функцію, розраховували кінцевий діастолічний об'єм (КДО), кінцевий систолічний об'єм (КСО), ударний об'єм (УО) та фракцію викиду (ФВ) ЛШ [15]. Для виявлення гіпертрофії міокарда ЛШ визначали масу міокарда лівого шлуночка (ММЛШ, г), індекс маси міокарда лівого шлуночка (ІММЛШ, г/м<sup>2</sup>), відносну товщину стінок (ВТС) за загальноприйнятими формулами [16]. Гіпертрофію міокарда ЛШ діагностували, якщо ІММЛШ дорівнював більше ніж 115 г/м<sup>2</sup> у чоловіків, 95 г/м<sup>2</sup> – у жінок [17].

Для встановлення типу ремоделювання міокарда визначали відносну товщину стінки ЛШ за стандартною формулою [16]. На підставі значень ІММЛШ і ВТС за А. Гапау виділяли типи ремоделювання ЛШ. Діастолічну функцію визначали згідно з консенсусом Європейського кардіологічного товариства і рекомендаціями Американського товариства ехокардіографії з діагностики діастолічної дисфункції (ДД) [18]. На основі ехокардіографічних показників визначали типи діастолічної дисфункції: тип із порушенням релаксації (м'яка ДД, або I тип), псевдонормальний тип (помірна ДД, або II тип), рестриктивний тип (важка ДД, або III тип).

Статистичне опрацювання результатів виконали із застосуванням пакета ліцензійної програми Statistica

13.0 (StatSoft Inc., USA, № JPZ8041382130ARCN10-J). Гіпотезу про нормальність розподілу показників перевіряли з використанням критерію Шапіро–Уїлка. Кількісні ознаки наведені як  $M \pm m$  (середнє арифметичне  $\pm$  стандартна похибка середнього арифметичного) або  $Me (Q_{25}; Q_{75})$  (медіана, 25 і 75 центиль) залежно від виду розподілу змінних. При нормальному розподілі достовірність відмінностей оцінювали за допомогою  $t$ -критерію Стьюдента для незалежних вибірок. При розподілі, що відрізняється від нормального, використовували непараметричний  $U$ -критерій Манна–Уїтні для незалежних вибірок. Міжгрупові відмінності якісних ознак оцінювали, використовуючи критерій  $\chi^2$  Пірсона (при малій вибірці – з поправкою Сйтса – Yates's correction). Для виявлення взаємозв'язків між показниками використовували метод кореляційного аналізу з обчисленням коефіцієнтів кореляції Пірсона (при нормальному розподілі) та Спірмена (при розподілі, що відрізняється від нормального). Для кількісного оцінювання взаємозв'язку між впливом певного чинника та видом патологічних змін виконали аналіз відносного ризику (ВР). Відмінності вважали вірогідними на рівні статистичної значущості  $p < 0,05$ .

## Результати

Пацієнти обох груп мали ІХС: стенокардію напруження II–III ФК. У хворих 1 групи порушення серцевого ритму (фібриляція передсердь, шлуночкова екстрасистоля високих градацій) виявлені вірогідно частіше ( $\chi^2 = 33,121$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,05$ ). Декомпенсовану серцеву недостатність діагностували дещо частіше в пацієнтів з ІХС і ЦД 2 типу, але відмінності не досягли статистичної значущості ( $\chi^2 = 5,919$ ;  $df = 2$ ;  $p > 0,05$ ). У 29,69 % хворих 1 групи зареєстрували атеротромботичні події в анамнезі (інфаркт міокарда, ішемічний інсульт), а у 2 групі серцево-судинні ускладнення зафіксовані тільки в 16,27 % хворих ( $\chi^2 = 32,118$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0,05$ ).

Хворі 1 та 2 груп значущо відрізнялись за ступенем виразності метаболічних факторів ризику (табл. 1).

Так, у хворих на ІХС, що асоційована з ЦД 2 типу, ІМТ переважав на 9,39 % відповідний показник у хворих на ІХС без ЦД 2 типу ( $p < 0,05$ ). Систолічний і діастолічний АТ у хворих на ІХС із ЦД 2 вищий на 9,28 % та 9,09 % відповідно, ніж у групі без ЦД ( $p < 0,05$ ). Аналізуючи показники вуглеводного та ліпідного обміну, виявили такі зміни: у хворих на ІХС, що асоційована з ЦД 2, рівні глюкози, НВА1С, ЗХС, ТГ переважали відповідні показники у хворих на ІХС без ЦД 2 типу на 53,92 %, 45,81 %, 11,13 % та 18,86 % відповідно ( $p < 0,05$ ).

Отже, у хворих на ІХС, асоційовану з ЦД 2 типу, компоненти метаболічного синдрому виразніший за клінічними та лабораторними показниками, ніж у хворих на ІХС без ЦД 2 типу. Багатокомпонентний метаболічний синдром зафіксували майже у 90 % хворих на ІХС із ЦД 2 типу.

Відзначимо, що наявність ЦД найбільш суттєво асоціювалася з артеріальною гіпертензією (ВР = 4,098; 95 % ДІ 2,379–7,059;  $p < 0,05$ ) та абдомінальним ожирінням (ВР = 1,770; 95 % ДІ 1,249–2,507;  $p < 0,05$ ). Але не встановили вірогідні кореляційні зв'язки рівня

**Таблиця 1.** Метаболічні порушення у хворих на ІХС залежно від наявності ЦД 2 типу,  $Me (Q_{25}; Q_{75})$

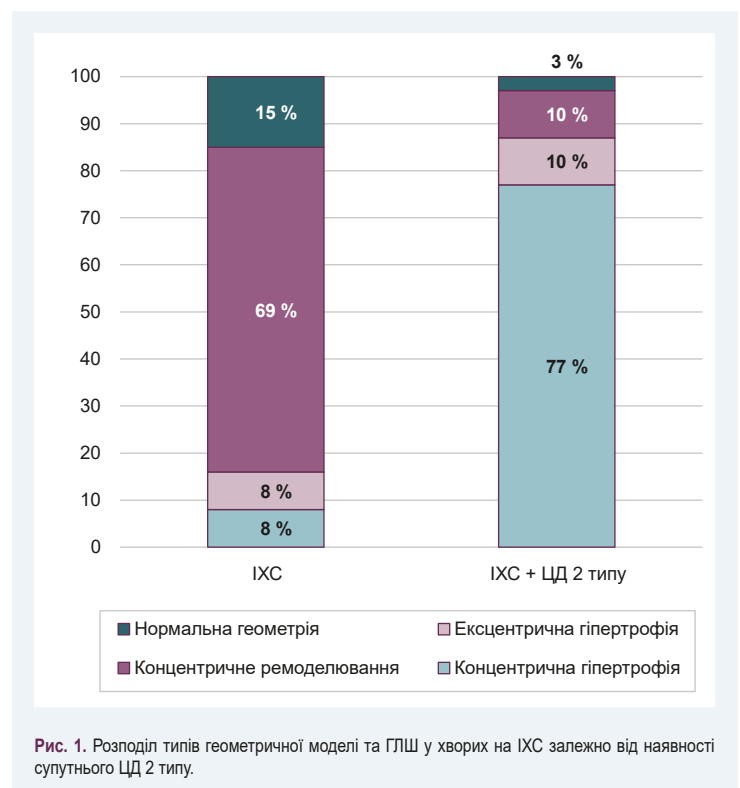
Показники, одиниці вимірювання	1 група ІХС та ЦД 2 типу (n = 213)	2 група ІХС (n = 43)
Зріст, м	158,1 (155,5; 175,5)	168,0 (162,0; 175,0)
Маса тіла, кг	82,5 (75,0; 114,0)	80,5 (75,0; 100,0)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	33,0 (31,0; 37,0)*	29,9 (25,1; 34,2)
АТ сист., мм рт.ст.	169,2 (165,0; 180,0)*	153,5 (140,0; 170,0)
АТ діаст., мм рт.ст.	104,5 (100,0; 110,0)*	95,0 (90,0; 100,0)
Глюкоза, ммоль/л	9,81 (7,80; 11,9)*	4,52 (4,10; 5,3)
НВА1С, %	8,95 (7,90; 10,25)*	4,85 (4,7; 5,30)
ЗХС, ммоль/л	5,21 (4,57; 6,16)*	4,63 (3,89; 5,51)
ТГ, ммоль/л	2,12 (1,71; 2,38)*	1,72 (1,23; 2,25)

\*: вірогідність різниці показників між групами хворих ( $p < 0,05$ ).

**Таблиця 2.** Структурно-функціональні характеристики серця у хворих на ІХС залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу,  $Me (Q_{25}; Q_{75})$

Показники, одиниці вимірювання	1 група ІХС та ЦД 2 типу (n = 213)	2 група ІХС (n = 43)
ЛПд, см	3,70 (3,40; 4,20)	3,70 (3,45; 4,00)
КДР ЛШ, см	4,80 (4,60; 5,20)	4,80 (4,60; 4,90)
КСР ЛШ, см	3,20 (2,80; 3,40)	3,20 (2,90; 3,30)
МШП, см	1,2 (1,2; 1,3)	1,2 (1,2; 1,3)
ТЗСЛШд, см	1,30 (1,20; 1,35)	1,30 (1,20; 1,33)
ВТС ЛШ, у.о.	0,51 (0,47; 0,55)	0,52 (0,47; 0,56)
ФВ, %	46,00 (45,00; 50,00)*	53,00 (46,00; 57,00)
ІММЛШ, г/м <sup>2</sup>	112,00 (101,00; 125,00)	111,00 (106,00; 126,00)
ПШд, см	1,8 (1,6; 2,0)	1,8 (1,70; 1,80)
ППд, см	3,6 (3,5; 3,9)	3,6 (3,50; 3,70)
СТЛА, мм.рт.ст	17,00 (15,00; 26,00)*	12,00 (12,00; 15,00)

\*: вірогідність різниці показників між групами хворих ( $p < 0,05$ ).



глюкози та HbA1C з іншими параметрами, що характеризують кардіометаболічні зміни у хворих на ІХС.

Встановили наявність вірогідних прямих кореляційних зв'язків середньої сили між ІМТ, рівнями ТГ ( $r = +0,46$ ;  $p < 0,05$ ) і систолічного АТ ( $r = +0,48$ ;  $p < 0,05$ ), що свідчить про вплив ожиріння на показники ліпідного спектра та рівень систолічного артеріального тиску у хворих на ІХС із ЦД 2 типу.

Особливості структурно-функціональних показників серця, що показують процеси кардіального ремоделювання у хворих на ІХС, залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу наведені в таблиці 2.

За розмірами та об'ємами порожнин лівого шлуночка та лівого передсердя групи дослідження вірогідно не відрізнялися. У хворих на ІХС, що асоційована з ЦД 2 типу, порівняно з хворими на ІХС без ЦД 2 типу, ФВ ЛШ вірогідно менша на 15,22 %, а середній тиск у легеневій артерії (СТЛА) вірогідно більший на 29,41 % ( $p < 0,05$ ). Частота реєстрації систолічної дисфункції ЛШ ( $\chi^2 = 2,75$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) та підвищення СТЛА ( $\chi^2 = 2,87$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ) у хворих на ІХС з ЦД 2 типу вірогідно більша. Розрахунок відносного ризику дав змогу встановити взаємозв'язки наявності ЦД 2 типу з ризиком розвитку систолічної дисфункції ЛШ (ВР = 2,238; 95 % ДІ 1,322–3,788;  $p < 0,05$ ) і підвищення СТЛА (ВР = 3,337; 95 % ДІ 1,293–8,615;  $p < 0,05$ ). За параметрами діастолічної функції хворі на ІХС із ЦД 2 типу та без нього вірогідно не відрізнялися: переважав 1 тип діастолічної дисфункції серця – порушення релаксації (у 87 % і 85 % хворих).

Для вивчення впливу ЦД 2 типу на процеси кардіального ремоделювання у хворих на ІХС вивчили розподіл типів геометричної моделі (рис. 1).

У хворих на ІХС, що асоційована з ЦД 2 типу, переважав прогностично несприятливий тип ремоделювання – концентрична гіпертрофія ЛШ (у 77 %), ексцентричне ремоделювання виявили у 10 %, концентричне ремоделювання – у 10 %, нормальну геометрію ЛШ – у 3 % хворих. У групі хворих на ІХС без супутнього ЦД домінувало концентричне ремоделювання ЛШ – у 69 %, а концентрична гіпертрофія ЛШ зафіксована тільки у 8 % пацієнтів, ексцентричне ремоделювання – у 8 %, нормальна геометрія ЛШ – у 16 % пацієнтів.

## Обговорення

Особливості клінічного перебігу ІХС на тлі ЦД 2 типу (збільшення частоти атеротромботичних подій, аритмічних ускладнень, тенденція до збільшення випадків декомпенсованої серцевої недостатності) можна пояснити взаємно обтяжливим впливом мікро- та макросудинних уражень на тлі хронічної гіперглікемії на прогноз таких коморбідних хворих. Багаторічні проспективні дослідження свідчать про наявність зв'язку між рівнем глікозильованого гемоглобіну та прогнозом хворих на ІХС із ЦД [5–10]. У дослідженні DECODE доведено, що постпрандіальна гіперглікемія також є незалежним чинником, котрий впливає на смертність від кардіоваскулярних ускладнень [10]. Утім, ми не встановили вірогідні кореляційні зв'язки HbA1C з іншими параметрами, що характеризують

клініко-метаболічні зміни у хворих на ІХС. Це можна пояснити високою варіабельністю рівня глюкози протягом доби, яка є чутливішим показником компенсації цукрового діабету порівняно з HbA1C [19]. Крім того, опубліковані відомості, що викликане гіперглікемією утворення активних форм кисню залучене у прогресуванні метаболических і судинних порушень, навіть якщо рівень глюкози нормалізований. Цей феномен названо «пам'яттю метаболізму» або «метаболическою пам'яттю клітин» і описано в дослідженнях UKPDS, UKPDS-ptm, ACCORD і VADT. Він може пояснювати розвиток ускладнень у хворих на ЦД 2 типу, незважаючи на контроль рівня глюкози, внаслідок окислювального стресу, глікування білків і ліпідів, епігенетичних порушень [20].

Наявність вірогідних прямих кореляційних зв'язків середньої сили між ІМТ і рівнем ТГ підтверджує важливу роль ожиріння у прогресуванні метаболических порушень [21]. Подібні результати щодо змін ліпідного профілю отримані М. М. Долженко та співавт. [22], які довели, що хворі на ІХС із супутнім ЦД 2 типу відрізняються агресивнішою дисліпідемією атерогенного характеру, зокрема вираженішою тригліцеридемією ( $p < 0,05$ ), більшим рівнем ліпопротеїдів дуже низької щільності та вищим індексом атерогенності ( $p < 0,05$ ).

У дослідженні, яке здійснили, уточнено: наявність цукрового діабету 2 типу у хворих на ІХС впливає на прогресування ремоделювання лівого шлуночка і поглиблює міокардіальну дисфункцію. Підтвердженням отриманих результатів може бути дослідження Die Yang Chen et al., які встановили, що у хворих із резистентністю до інсуліну, дисглікемією та високою глікемічною варіабельністю наявний більший ризик розвитку несприятливого типу ремоделювання ЛШ і серцево-судинних ускладнень [23]. У дослідженні О. В. Більченка та співавт. [24] показано, що відсоток ексцентричної та концентричної гіпертрофії лівого шлуночка збільшувався при п'ятирічній тривалості ЦД у хворих із постінфарктним кардіосклерозом. Агресивніше ремоделювання серця, суттєве зниження ФВ ЛШ і підвищення тиску в легеневій артерії при поєднанні ІХС із ЦД 2 типу можна пояснити негативною дією глюкози і безпосередньо на міокард, і на ендотелій судин, активацією на тлі гіперглікемії перекисного окислення ліпідів, збільшенням кількості прозапальних цитокінів, молекул адгезії та агрегації тромбоцитів, що призводить до підвищення жорсткості екстрацелюлярного матриксу, розвитку фіброзу та гіпертрофії кардіомиоцитів, порушення скоротливості та релаксації міокарда, прогресування систолічної та діастолічної дисфункції ЛШ, підвищення кінцево-діастолічного тиску ЛШ та, як наслідок, середнього тиску в легеневій артерії [22].

## Висновки

1. Перебіг ІХС на тлі ЦД 2 типу асоціюється зі збільшенням частоти розвитку атеротромботичних та аритмічних ускладнень, які потребують повторних госпіталізацій хворих у стаціонар.

2. У хворих на ІХС, що поєднана з ЦД 2, індекс маси тіла, рівні систолічного та діастолічного артеріального тиску, глюкози, глікованого гемоглобіну,

загального холестерину, тригліцеридів переважають відповідні показники в пацієнтів з ІХС без ЦД 2 типу, що свідчить про більшу вираженість у них кардіометаболічних порушень. Багатокомпонентний метаболічний синдром виявили у 89 % хворих на ІХС із ЦД 2 типу.

3. Інтенсивність процесів кардіального ремоделювання у хворих на ІХС зростає за наявності ЦД 2 типу, що підтверджується формуванням прогностично несприятливого типу структурної перебудови ЛШ на тлі зниження глобальної систолічної функції ЛШ і підвищення середнього тиску в легеневій артерії при переважанні 1 типу діастолічної дисфункції серця – порушення релаксації.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у визначенні чинників, що впливають на прогноз хворих на ІХС із ЦД 2 типу, та розробці стратегії відновного лікування цих хворих.

#### Фінансування

Робота виконана в межах НДР Запорізького державного медичного університету на тему: «Клініко-патогенетичні, прогностичні та лікувально-діагностичні аспекти кардіоваскулярної патології з різними коморбідними станами» (№ державної реєстрації 0118U007138).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 21.04.2020

Після доопрацювання / Revised: 30.04.2020

Прийнято до друку / Accepted: 03.06.2020

#### Відомості про авторів:

Михайловська Н. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0001-6781-9406](https://orcid.org/0000-0001-6781-9406)

Кулинич Т. О., канд. мед. наук, доцент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0001-9453-8749](https://orcid.org/0000-0001-9453-8749)

Шершньова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0003-3715-8365](https://orcid.org/0000-0003-3715-8365)

Базун Є. І., студентка 5 курсу 1 медичного факультету, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0003-2401-2447](https://orcid.org/0000-0003-2401-2447)

Бочарникова І. С., директор КНП «Міська лікарня № 4» Запорізької міської ради, Україна. Падафа В. Е., в.о. директора з медичного обслуговування населення КНП «Міська лікарня № 4» Запорізької міської ради, Україна.

Колесникова А. О., лікар-кардіолог, КНП «Міська лікарня № 4» Запорізької міської ради, Україна.

Гура Ю. В., зав. кардіологічного відділення, КНП «Міська лікарня № 4» Запорізької міської ради, Україна.

#### Information about authors:

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kulynych T. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Shershnyova O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. Bazun Ye. I., 5<sup>th</sup> year Student of the 1<sup>st</sup> Medical Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. Bocharnykova I. S., Director, “City Hospital № 4” of Zaporizhzhia City Council, Ukraine.

Padafa V. E., Acting Deputy Director for Public Health, “City Hospital № 4” of Zaporizhzhia City Council, Ukraine.

Kolesnykova A. O., Cardiologist, “City Hospital № 4” of Zaporizhzhia City Council, Ukraine.

Hura Yu. V., Head of the Cardiology Department, “City Hospital № 4” of Zaporizhzhia City Council, Ukraine.

#### Сведения об авторах:

Михайловская Н. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кулинич Т. О., канд. мед. наук, доцент каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шершньова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Базун Е. И., студентка 5 курса 1 медицинского факультета, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бочарникова И. С., директор КНП «Городская больница № 4» Запорожского городского совета, Украина.

Падафа В. Э., и. о. директора по медицинскому обслуживанию населения, КНП «Городская больница № 4» Запорожского городского совета, Украина.

Колесникова А. А., врач-кардиолог, КНП «Городская больница № 4» Запорожского городского совета, Украина.

Гура Ю. В., зав. кардиологическим отделением, КНП «Городская больница № 4» Запорожского городского совета, Украина.

#### Список літератури

- [1] Коваленко В. М., Борткевич О. П. Коморбідність: визначення, можливі напрямки діагностики та лікування. *Український ревматологічний журнал*. 2019. № 3. С. 33-44.
- [2] Mykhailovska N. S., Minialenko L. E. The state of vascular endothelium, clinical and metabolic features of patients with coronary heart disease combined with nonalcoholic fatty liver disease. *Патологія*. 2017. Т. 14, № 1. С. 62-67. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.1.97505>
- [3] Mykhailovska N., Kulynych T. The influence of community-acquired pneumonia on the clinical course of coronary heart disease: the results of retrospective analysis. *ScienceRise. Medical Science*. 2017. № 11. С. 52-55. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2017.116826>
- [4] Михайловська Н. С., Олійник Т. В., Михайловський Я. М. Клініко-патогенетична роль імунзапальних процесів та ендотеліальної дисфункції у хворих на ішемічну хворобу серця коморбідну з гіпотеріозом. *Буковинський медичний вісник*. 2015. Т. 19, № 1. С. 227-231.
- [5] Цитовський М. Н. Статистичний клінічний та морфологічний аспекти впливу цукрового діабету на стан серцево-судинної системи. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина*. 2017. Вип. 1. С. 168-177.
- [6] Cardiovascular Disease and Type 2 Diabetes: Has the Dawn of a New Era Arrived? / M. Abdul-Ghani, R. A. DeFronzo, S. Del Prato et al. *Diabetes Care*. 2017. Vol. 40, Iss. 7. P. 813-820. <https://doi.org/10.2337/dc16-2736>
- [7] Пяньків В. І. Порушення вуглеводного обміну в клінічній практиці. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2017. Т. 13, № 1. С. 39-44. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.13.1.2017.96754>
- [8] Huxley R., Barzi F., Woodward M. Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *Bmj-British Medical Journal*. 2006. Vol. 332, Iss. 7533. P. 73-78. <https://doi.org/10.1136/bmj.38678.389583.7C>
- [9] Фактори ризику ішемічної хвороби серця та розвиток гострого коронарного синдрому в осіб з нормальними показниками ліпідного обміну / Л. В. Хіміон, О. Б. Ященко, В. В. Ватага, О. Г. Дубчак. *Семейная медицина*. 2016. № 2. С. 95-98.
- [10] 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD / F. Cosentino, P. J. Grant, V. Aboyans et al. *European Heart Journal*. 2020. Vol. 41, Iss. 2. P. 255-323. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz486>

- [11] Diabetes control: Incidence of acute myocardial infarction and all-cause mortality among patients with 3-6 years' disease duration / O. Reges, M. Leibowitz, M. Hoshen et al. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2017. Vol. 24, Iss. 10. P. 1083-1092. <https://doi.org/10.1177/2047487317702041>
- [12] Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017 / T. R. Einarson, A. Acs, C. Ludwig, U. H. Panton. *Cardiovasc Diabetology*. 2018. Vol. 17. P. 83-109. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6>
- [13] Saklayen M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*. 2018. Vol. 20, Iss. 2. P. 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- [14] Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / R. M. Lang, L. P. Badano, V. Mor-Avi et al. *Journal of American Society of Echocardiography*. 2015. Vol. 28, Iss. 1. P. 1-39. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
- [15] Prevalence, pattern and clinical relevance of ultrasound indices of congestion in outpatients with heart failure / P. Pellicori, P. Shah, J. Cuthbert et al. *European Journal of Heart Failure*. 2019. Vol. 21, Iss. 7. P. 904-916. <https://doi.org/10.1002/ehfj.1383>
- [16] Recommendations on the use of echocardiography in adult hypertension: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the American Society of Echocardiography (ASE) / T. H. Marwick, T. C. Gillebert, G. Aurigemma et al. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2015. Vol. 28, Iss. 7. P. 727-754. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2015.05.002>
- [17] 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension / B. Williams, G. Mancia, W. Spiering et al. *European Heart Journal*. 2018. Vol. 39, Iss. 33. P. 3021-3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- [18] Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / S. F. Nagueh, O. A. Smiseth, C. P. Appleton et al. *European Heart Journal – Cardiovascular Imaging*. 2016. Vol. 17, Iss. 12. P. 1321-1360. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jev082>
- [19] Родинський О. Г., Басиста К. І., Гузь Л. В. Нейрохімічні та поведінкові процеси в геронтогенезі за умов експериментальної гіперглікемії. *Медичні перспективи*. 2018. Т. 23, № 2. С. 4-13. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2.133691>
- [20] Сыволап В. Д., Капшитарь Н. И. Кардиальное ремоделирование в остром периоде Q-инфаркта миокарда, осложненного острой сердечной недостаточностью на фоне гипергликемии. *Патология*. 2019. Т. 16, № 1. С. 45-52. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166236>
- [21] Abdominal obesity and postinfarction cardiometabolic continuum in the development of chronic heart failure / E. B. Petrova, E. I. Shkrebneva, T. V. Statkevich et al. *Emergency cardiology and cardiovascular risks*. 2019. Vol. 3, Iss. 1. P. 507-512.
- [22] Долженко М. М., Перепельченко Н. А., Базилевич А. Я. Ішемічна хвороба серця на тлі цукрового діабету типу 2: особливості перебігу та обґрунтування терапії. Київ : Медкнига, 2010. 100 с.
- [23] Insulin resistance and dysglycemia are associated with left ventricular remodeling after myocardial infarction in non-diabetic patients / C. D. Yang, Y. Shen, L. Lu et al. *Cardiovascular Diabetology*. 2019. Vol. 18, Iss. 7. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0904-3>
- [24] Evaluation of heart failure with preserved ejection fraction in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus / O. V. Bilchenko, K. Y. Lipakova, T. A. Rudenko et al. *Проблеми ендокринної патології*. 2020. № 1. С. 7-13. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2020.1.01>
- References**
- [1] Kovalenko, V. M. & Bortkevych, O. P. (2019). Komorbidnist: vyznachennia, mozhlivi napriamky diahnostyky ta likyvannia [Comorbidity: definitions, possible directions of diagnosis and treatment]. *Ukrainskyi revmatolohichnyi zhurnal*, (3), 33-45. [in Ukrainian].
- [2] Mykhailovska, N. S., & Miniaienko, L. Ye. (2017). The state of vascular endothelium, clinical and metabolic features of patients with coronary heart disease combined with nonalcoholic fatty liver disease. *Pathologia*, 14(1), 62-67. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.1.97505>
- [3] Mykhailovska, N. S., & Kulnych, T. (2017). The influence of community-acquired pneumonia on the clinical course of coronary heart disease: the results of retrospective analysis. *Sciencise: Medical Science*, (11), 52-56. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2017.116826>
- [4] Mykhailovska, N. S., Oliinyk, T. V., & Mykhailovskiy, Y. M. (2015). Kliniko-patohetnychna rol imunozapalnykh protsesiv ta endotelialnoi dysfunksii u khvorykh na ishemichnu khvorobu sertsia komorbidnu z hipoterozom [Clinical and pathogenetic role of immunoinflammatory disorders and endothelial dysfunction in patients with ischemic heart disease comorbid with hypothyroidism (reference review)]. *Bukovinian Medical Herald*, 19(1), 227-231. [in Ukrainian].
- [5] Tsytovs'kyi, M. N. (2017). Statystychni klinichnyi ta morfologichnyi aspekty vplyvu tsukrovoho diabetu na stan sertsevo-sudynnoi systemy [Statistical, clinical and morphological aspects of impact of diabetes on the cardiovascular system]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seria : Medytsyna*, (1), 168-177. [in Ukrainian].
- [6] Abdul-Ghani, M., DeFronzo, R. A., DelPrato, S., Chilton, R., Singh, R., & Ryder, R. E. J. (2017). Cardiovascular Disease and Type 2 Diabetes: Has the Dawn of a New Era Arrived? *Diabetes Care*, 40(7), 813-820. <https://doi.org/10.2337/dc16-2736>
- [7] Pankiv, V. I. (2017). Porushennia vuhlevodnogo obminu v klinichnii praktytsi [Disorders of carbohydrate metabolism in clinical practice]. *International Journal of Endocrinology*, 13(1), 39-44. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.13.1.2017.96754>
- [8] Huxley, R., Barzi, F., & Woodward, M. (2006). Excess risk of fatal coronary heart disease associated with diabetes in men and women: meta-analysis of 37 prospective cohort studies. *BMJ-British Medical Journal*, 332(7533), 73-76. <https://doi.org/10.1136/bmj.38678.389583.7C>
- [9] Himion, L. V., Yaschenko, O. B., Vataga, V. V., & Dubchak, A. G. (2016). Faktory ryzyku ishemichnoi khvoroby sertsia ta rozvytok hostroho koronarnoho syndromu v osob z normalnymy pokaznykamy lipidnogo obminu [Risk factors for coronary heart disease and the development of acute coronary syndrome in individuals with normal lipid metabolism]. *Semeinaya meditsina*, (2), 95-98. [in Ukrainian].
- [10] Cosentino, F., Grant, P. J., Aboyans, V., Bailey, C. J., Ceriello, A., Delgado, V., Federici, M., Filippatos, G., Grobbee, D. E., Hansen, T. B., Huikuri, H. V., Johansson, I., Juni, P., Lettino, M., Marx, N., Mellbin, L. G., Östgren, C. J., Rocca, B., Roffi, M., Sattar, N., ... ESC Scientific Document Group (2020). 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *European heart journal*, 41(2), 255-323. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz486>
- [11] Reges, O., Leibowitz, M., Hoshen, M., Leventer-Roberts, M., Greenland, P., & Balicer, R. (2017). Diabetes control: Incidence of acute myocardial infarction and all-cause mortality among patients with 3-6 years' disease duration. *European journal of preventive cardiology*, 24(10), 1083-1092. <https://doi.org/10.1177/2047487317702041>
- [12] Einarson, T. R., Acs, A., Ludwig, C., & Panton, U. H. (2018). Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017. *Cardiovascular diabetology*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6>
- [13] Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- [14] Lang, R. M., Badano, L. P., Mor-Avi, V., Afilalo, J., Armstrong, A., Ernande, L., Flachskampf, F. A., Foster, E., Goldstein, S. A., Kuznetsova, T., Lancellotti, P., Muraru, D., Picard, M. H., Rietzschel, E. R., Rudski, L., Spencer, K. T., Tsang, W., & Voigt, J. U. (2015). Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 28(1), 1-39.e14. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
- [15] Pellicori, P., Shah, P., Cuthbert, J., Urbinati, A., Zhang, J., Kallvikbakka-Bennett, A., Clark, A. L., & Cleland, J. (2019). Prevalence, pattern and clinical relevance of ultrasound indices of congestion in outpatients with heart failure. *European journal of heart failure*, 21(7), 904-916. <https://doi.org/10.1002/ehfj.1383>
- [16] Marwick, T. H., Gillebert, T. C., Aurigemma, G., Chirinos, J., Derumeaux, G., Galderisi, M., Gottdiener, J., Haluska, B., Ofili, E., Segers, P., Senior, R., Tapp, R. J., & Zamorano, J. L. (2015). Recommendations on the Use of Echocardiography in Adult Hypertension: A Report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the American Society of Echocardiography (ASE). *Journal of the American Society of Echocardiography*, 28(7), 727-754. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2015.05.002>
- [17] Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Rosei, E. A., Azizi, M., Burnier, M., & European Soc, H. (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *European Heart Journal*, 39(33), 3021-3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- [18] Nagueh, S. F., Smiseth, O. A., Appleton, C. P., Byrd, B. F., Dokainish, H., Edvardsen, T., Flachskampf, F. A., Gillebert, T. C., Klein, A. L., Lancellotti, P., Marino, P., Oh, J. K., Popescu, B. A., Waggoner, A. D., Amer Soc, E., & European Assoc Cardiovasc, I. (2016). Recommendations

- for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging*, 17(12), 1321-1360. <https://doi.org/10.1093/ehjci/ew082>
- [19] Rodynskiy, O., Basysta, K., & Guz, L. (2018). Neurokhimichni ta povedinkovi protsesy v herontohenezi za umov eksperimentalnoi hiperhlikemii [Neurochemical and behavioral processes in gerontogenesis in conditions of experimental hyperglycemia]. *Medical Perspectives-Medicni Perspektivi*, 23(2), 4-13. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2.133691>
- [20] Syvolap, V. D., & Kapshytar, N. I. (2019). Kardial'noe remodelirovanie v ostrom periode Q-infarkta miokarda, oslozhnennogo ostroi serdechnoi nedostatochnost'yu na fone gjperglikemii [Cardiac remodeling in the acute period of Q-myocardial infarction complicated by acute heart failure against hyperglycemia]. *Patologia*, 16(1), 45-52. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166236>
- [21] Petrova, E. B., Shkrebneva, E. I., Statkevich, T. V., Kartun, L. V., & Mitkovskaya, N. P. (2019). Abdominal obesity and postinfarction cardiosclerosis: cardiometabolic continuum in the development of chronic heart failure. *Emergency cardiology and cardiovascular risks*, 3(1), 507-512.
- [22] Dolzhenko, M. M., Perepelchenko, N. A., Bazylevych, A. Ya. (2010). Ishemichna khvoroba sertsia na tli tsukrovoho diabetu typu 2: osoblyvosti perebihu ta obgruntuvannia terapii [Coronary heart disease on the background of type 2 diabetes: features of the course and rationale for therapy]. Kyiv : Medknyha. [in Ukrainian].
- [23] Yang, C. D., Shen, Y., Lu, L., Ding, F. H., Yang, Z. K., Zhang, R. Y., Shen, W. F., Jin, W., & Wang, X. Q. (2019). Insulin resistance and dysglycemia are associated with left ventricular remodeling after myocardial infarction in non-diabetic patients. *Cardiovascular Diabetology*, 18(1), Article 100. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0904-3>
- [24] Bilchenko, O. V., Lipakova, K. Y., Rudenko, T. A., Vysotska, O. V., Porvan, A. P., & Karami Saliba, D. Y. (2020). Evaluation of heart failure with preserved ejection fraction in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus. *Problemy Endocrynnoi Patologii*, 1, 7-13. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2020.1.01>

# Evaluation of functional state of muscular system in children with diabetes mellitus

O. Ye. Pashkova \*<sup>A,E,F</sup>, N. I. Chudova <sup>B-D</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

## Key words:

type 1 diabetes, children, muscular strength, diabetic myopathy.

Pathologia  
2020; 17 (2), 164-169

\*E-mail:  
[elenapashkova0901@gmail.com](mailto:elenapashkova0901@gmail.com)

**Aim.** To evaluate the functional condition of skeletal muscles in children with type 1 diabetes (T1D), according to the duration of disease based on studying static and dynamic physical endurance.

**Materials and methods.** 76 children with T1D from 11 to 17 years old were examined. The first group included 20 kids with the duration of diabetes less than 1 year. The second group – 27 patients with T1D from 1 to 5 years. The third group – 29 kids with T1D over 5 years. The group of control included 16 conventionally healthy children. Static muscular endurance with evaluation of total static muscular endurance (TSME) and dynamic muscular endurance with evaluation of wrist strength index (WSI) were evaluated. The index of muscle quality (IMQ) was evaluated too.

**Results.** The greater duration of T1D was accompanied by the redistribution of percentage ratio of body components. The TSME was decreasing along with increase of T1D duration. Reverse correlation between glycated hemoglobin and TSME ( $r = -0.50$ ;  $P < 0.05$ ) was shown. The dynamic endurance revealed the progressing decrease of WSI before and after the physical exertion in children with T1D in comparison with the control group. The revealed peculiarities of functional condition of muscles were connected with TSME ( $r = +0.43$ ,  $P < 0.05$ ) and IMQ ( $r = +0.52$ ,  $P < 0.05$ ).

**Conclusions.** Functional condition of skeletal muscles in children with T1D is characterized by decrease of static and dynamic muscular endurance. The first signs of changes are observed over the first year of disease and progress as the duration of a disease increases and leads to decrease of muscle mass and diabetic myopathy developing. The major factor contributing the worsening of functional condition of muscles is insufficient glycemic control.

## Ключові слова:

цукровий діабет 1 типу, діти, витривалість м'язів, діабетична міопатія.

Патологія. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 164-169

## Оцінювання функціонального стану м'язової системи в дітей, які хворі на цукровий діабет

О. Є. Пашкова, Н. І. Чудова

**Мета роботи** – оцінити функціональний стан скелетної мускулатури в дітей із цукровим діабетом 1 типу (ЦД1) залежно від тривалості захворювання на основі вивчення статичної та динамічної фізичної витривалості.

**Матеріали та методи.** Під спостереженням перебували 76 дітей віком від 11 до 17 років, які хворі на ЦД1. У 1 групу ввійшли 20 дітей із тривалістю ЦД1 до 1 року, у 2 групу – 27 дітей із перебігом захворювання від 1 до 5 років, у 3 групу – 29 дітей із тривалістю ЦД1 понад 5 років. Групу контролю становили 16 умовно здорових дітей. Для оцінювання функціонального стану м'язової системи визначали статичну й динамічну витривалість скелетних м'язів з обчисленням сумарної статичної витривалості (ССВ) та індексу кистьової сили (ІКС). Також визначали показник якості м'язів (ПЯМ).

**Результати.** Збільшення «стажу» ЦД1 супроводжувалося перерозподілом компонентного складу тіла. Зі збільшенням тривалості ЦД1 погіршувався показник ССВ. Виявили зворотний кореляційний зв'язок між глікованим гемоглобіном і ССВ ( $r = -0.50$ ;  $p < 0,05$ ). Під час дослідження динамічної витривалості виявили зниження ІКС до та після навантаження в дітей із ЦД1 порівняно з групою контролю, що прогресувало в динаміці захворювання. Виявлені особливості функціонального стану м'язів пов'язані з показником ССВ ( $r = +0,43$ ,  $p < 0,05$ ), а також із ПЯМ ( $r = +0,52$ ,  $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Функціональний стан скелетної мускулатури в дітей із ЦД1 характеризувався зниженням статичної та динамічної м'язової витривалості. Перші ознаки змін спостерігали вже на першому році захворювання, вони прогресують зі збільшенням тривалості ЦД1 і призводять до зниження м'язової маси, розвитку діабетичної міопатії. Основний фактор ризику, що зумовлює погіршення функціонального стану скелетних м'язів, – недостатній глікемічний контроль.

## Ключевые слова:

сахарный диабет 1 типа, дети, выносливость мышц, миопатия.

Патология. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 164-169

## Оценка функционального состояния мышечной системы у детей, больных сахарным диабетом

Е. Е. Пашкова, Н. И. Чудова

**Цель работы** – оценить функциональное состояние скелетной мускулатуры у детей с сахарным диабетом 1 типа (СД1) в зависимости от длительности заболевания на основании изучения статической и динамической физической выносливости.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 76 детей в возрасте от 11 до 17 лет, больных СД1. В 1 группу вошли 20 детей с продолжительностью СД1 до 1 года, 2 группу составили 27 детей с длительностью заболевания от



1 до 5 лет, 3 группа состояла из 29 детей с длительностью СД1 более 5 лет. Группу контроля составили 16 условно здоровых детей. Для оценки функционального состояния мышечной системы определяли статическую и динамическую выносливость скелетных мышц с вычислением суммарной статической выносливости (ССВ) и индекса кистевой силы (ИКС). Также оценивали показатель качества мышц (ПКМ).

**Результаты.** Установлено, что увеличение «стажа» СД1 сопровождалось перераспределением компонентного состава тела. С увеличением продолжительности СД1 ухудшался показатель ССВ. Установлена обратная корреляционная связь между гликированным гемоглобином и ССВ ( $r = -0,50$ ;  $p < 0,05$ ). При исследовании динамической выносливости отмечено снижение ИКС до и после нагрузки у детей с СД1 в сравнении с группой контроля, которое прогрессировало в динамике заболевания. Особенности функционального состояния мышц связаны с показателем ССВ ( $r = +0,43$ ,  $p < 0,05$ ), а также с ПКМ ( $r = +0,52$ ,  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Функциональное состояние скелетной мускулатуры у детей с СД1 характеризуется снижением статической и динамической мышечной выносливости. Первые признаки изменений наблюдали уже на первом году заболевания, они прогрессируют с увеличением длительности СД1, приводят к снижению мышечной массы и развитию диабетической миопатии. Основным фактором риска, который способствует ухудшению функционального состояния скелетных мышц, – недостаточный гликемический контроль.

It is well known that type 1 diabetes (T1D) is considered to be one of the specific risk factors of sarcopenia developing in adults. At the same time, there is lack of publications regarded to disturbances of musculoskeletal system in children with T1D. Although it is a junior age that is being a critical period in formation of skeletal system. According to the latest researches it is noticed that there is a reduction in level of physical training in children with T1D compared to healthy kids even in terms of the equal level of physical activity [1]. That may point to the diabetic myopathy progress – the condition characterized by both muscle mass and function reduction [2].

Considering the importance of skeletal muscles in metabolism of lipids and glucose from the blood, the progress of diabetic myopathy may lead to both insulin resistance evolution and ability to lessen dysglycemic/dyslipidemic exertion [3]. The results of the latest researches have shown the increase of KLF15 protein in skeletal muscles of animals with induced T1D in terms of hyperglycemia due to lowering of ubiquitin-ligase E3WWP1 regulation and the further diminishing of KLF15 destruction, which depends on ubiquitin and thus, contributes to muscle atrophy [4].

The data of the effect of physical activity on glycemic control in T1D are controversial. But according to the data obtained by Chimen et al. (2012) physical exertion didn't cause any positive effect on the level of glycated hemoglobin (HbA1c) in children with T1D. The other resources revealed the data about the credible reduction of level of HbA1c in teenagers with T1D going through the dosed aerobic physical exertion [5].

The anxiety of hypoglycemia progressing after the physical training is considered to be one of the negative factors that restrict the physical activity in kids and teenagers with T1D. The other factor is lack of glycemic control. So that, tests applied for the early diagnosing of disturbances in skeletal muscles system, that always accompany the progress of diabetic myopathy, can be very useful.

## Aim

The aim was to evaluate the functional condition of skeletal muscles in children with T1D, according to the duration of disease based on studying static and dynamic physical stamina.

## Material and methods

76 children with T1D from 11 to 17 years old were monitored. According to the duration of the disease all children were divided into three groups. The first group included 20 kids with the duration of diabetes less than 1 year. The second group includes 27 patients with the duration of diabetes from 1 to 5 years. The third group was formed of 29 kids with the duration of diabetes over 5 years. The group of control includes 16 conventionally healthy children. All groups were representative according to the age, gender and body mass index (Table 1).

All the kids went through the measuring of body weight and length with the further evaluation of body mass index (BMI). The muscular mass in kids below 14 years old was estimated according to A.M. Peters' formula [6]. The P. Boer's formula was applied for kids above 15 years old and counted the gender [7]. In order to evaluate the condition of muscular system, the skeletal muscle index (SMI) was assessed according to the formula [8]:

$$SMI = (\text{skeletal muscle mass/body mass}) \times 100$$

In children under 15 years old the body fat percentage (BFP) was evaluated applying the following formula [9].

$$BFP = (1.51 \times BMI) - (0.70 \times \text{age}) - (3.6 \times S) + 1.4$$

Where: S – 1 for boys and 0 for girls; BMI – Body mass index; age – age in years.

In children over 15 years old the body fat percentage (BFP) was evaluated applying the following formula [9].

$$BFP = (1.20 \times BMI) + (0.23 \times \text{age}) - (10.8 \times S) - 5.4$$

Where: S – 1 for boys and 0 for girls; BMI – Body mass index; age – age in years.

Body fat mass (BFM) was evaluated applying the following formula:

$$BFM = (BFP/100) \times \text{weight},$$

Where: BFP – body fat percentage; weight – weight in kg.

The ratio between the fatty and muscle mass was evaluated in the following way: fatty mass in kg divided by muscle mass in kg and expressed in conventional units (CU).

Table 1. Distribution of children by age and gender, observation groups

Criteria, units	Group 1, n = 20	Group 2, n = 27	Group 3, n = 29	Group of control, n = 16
Average age (years), M±m	13.51 ± 0.52	14.08 ± 0.41	14.17 ± 0.36	14.41 ± 0.47
Number of boys, abs./ %	11/55.0	14/51.8	15/51.7	9/56.2
Number of girls, abs./ %	9/45.0	13/48.2	14/48.3	7/43.8

To define functional abilities of muscular system static and dynamic endurance of skeletal muscles was estimated while fixing the maximal time period of given testing position sustaining in seconds (sec).

At the time of the endurance functional tests of skeletal muscles of all children with T1D included in the research, feeling "before" and "after" testing were assessed as satisfactory. Tests were performed 1 hour after eating to determine the concentration of glucose before, immediately after and 1 hour after end samples (in accordance with the recommendations of the Protocol of rendering medical aid to children with diabetes mellitus approved by Order № 254 of the MH of Ukraine dated 04/27/2006 with changes made in accordance with the Ministry of Health Orders № 55 (v0055282-09) dated 02/03/2009; № 864 (v0864282-13) dated 7/10/2013). The criteria for inclusion of patients into the research were: the consent of the patient and his parents for participation in the research; lack of ketoacidosis (ketone bodies of the urine were determined before and after the samples); the maximal level of glycemia on an empty stomach on the day of research did not exceed 10.5 mmol/L, and the minimal level of glycemia was 5.7 mmol/L. The average level of glycemia on an empty stomach in the first group was  $7.34 \pm 0.48$  mmol/L, in the second group –  $7.38 \pm 0.52$  mmol/L, in the third group –  $7.84 \pm 0.48$  mmol/L. The research excluded patients with the lack of consent to participate in the research; children, with T1D with obesity and excess body weight; with the presence of acute inflammatory processes or congenital malformations in the stage of decompensation.

To define the endurance of neck flexor muscle groups all children were requested to hold the neck flexed when lying down on the back. The chest should be on the surface.

To define the static endurance of spinal extensors children were requested to lift the upper body and hold it above the surface while lying down on the abdomen with the head, the legs on the surface and hands crossed up behind

To define the muscular endurance of abs children were supposed to lift the legs upwards to the angle of  $45^\circ$  and hold when lying on the back on the surface [10].

To define the endurance of the gluteus medius children were supposed to lift the leg up to the side up to the possible height and hold without the rotation when standing [11].

Total static muscle endurance (TSME) was also evaluated. The range of muscle quality was evaluated as a ratio of TSME to skeletal muscle index.

Skeletal muscle strength was estimated using the wrist spring dynamometer, which was squeezed by the patients' hand, in order to offset the age of a kid when estimating the muscle strength, one has applied the wrist strength index (WSI):

$$WSI = (\text{wrist strength/body mass(kg)}) \times 100 \% [2].$$

The test was carried out using the wrist rubber ring-like expander with the resistance equal to 20 kg, one had to squeeze the expander during 30 sec.

All the results were analyzed using the set of statistic programs Statistica 13.0 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). Parametrical methods that helped to evaluate simple average, mean squared deviation and standard error were applied for normally distributed rates. The method of correlation analysis was used to calculate the Pearson correlation coefficient in the normal distribution of features and the Spearman's rank correlation coefficient in their absence. The reliability of the differences in the results obtained for different groups in the normal distribution of characteristics was determined by the parametric (Student's criterion) method. Differences were considered to be significant at  $P < 0.05$  [12].

In planning this work the bioethical commission gave permission to conduct research. All patients signed informed consent to participate in the study. All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and within the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. The full data set by children, their parents, and physician that support the findings of this study are not publicly available due to the ethics approval originally obtained.

## Results

According to the results of research it was established that there was no significant difference in BMI in all examined groups and all the rates were considered to be in normal ranges (Table 2).

Instead, as the duration of T1D was increasing, a gradual decrease in skeletal muscle index in patients with diabetes mellitus was observed compared with controls, becoming statistically significant after 5 years of the disease ( $P < 0.05$ ). Starting from the second year of the disease, there was a significant increase in the percentage of body fat ( $P < 0.05$ ). Also, there is the increase in the dynamics of the disease ratio of "fat mass / muscle mass" ( $P < 0.05$ ) compared with the indicator of both the control group and the 1<sup>st</sup> group of patients with diabetes (Table 2). That is, an increase in the "length of time" of diabetes was accompanied by a component redistribution of body composition.

Taking into the account that changes in structural component of body may affect the functional muscle condition the next step of our investigation included static and dynamic test to estimate the muscle endurance. According to the data obtained after carrying out static endurance tests for examined muscle groups it was established that there was a deterioration of ability to hold the test position

**Table 2.** The rates of BMI and fatty and muscle mass in children with T1D according the duration of disease, M ± m

Criteria, units	Group 1, n = 20	Group 2, n = 27	Group 3, n = 29	Group of control, n = 16
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	18.99 ± 0.7	20.78 ± 0.7	20.36 ± 0.57	20.51 ± 0.89
Percent of fat in organism, %	16.86 ± 0.91	19.09 ± 0.99 <sup>§</sup>	20.02 ± 0.86 <sup>§#</sup>	16.14 ± 0.98
Skeletal muscle index, %	81.39 ± 1.08	78.56 ± 1.14	77.33 ± 1.10 <sup>§#</sup>	81.10 ± 1.17
Fatty mass/muscle mass, CU*	0.21 ± 0.01	0.25 ± 0.01 <sup>§#</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>§#</sup>	0.20 ± 0.02

§: P < 0.05 in the period with the highest indicator of the control group; #: P < 0.05 in the period with the highest indicator of group 1; \*CU: conventional units.

**Table 3.** The rates of static muscular endurance in children with T1D counting the duration of disease, M ± m

Group of muscles examined, units	Group 1, n = 20	Group 2, n = 27	Group 3, n = 29	Group of control, n = 16
Neck flexors, sec.	53.57 ± 5.17 <sup>§</sup>	42.75 ± 2.91 <sup>§</sup>	35.84 ± 2.66 <sup>§#</sup>	90.82 ± 9.47
Muscles of abs, sec.	18.67 ± 2.2 <sup>§</sup>	21.12 ± 1.87 <sup>§</sup>	18.22 ± 1.52 <sup>§</sup>	52.83 ± 6.06
Spinal extensors, sec.	21.18 ± 1.87 <sup>§</sup>	20.54 ± 1.76 <sup>§</sup>	18.33 ± 1.16 <sup>§</sup>	38.25 ± 3.78
Left gluteus medius, sec.	29.47 ± 2.99 <sup>§</sup>	29.46 ± 2.73 <sup>§</sup>	29.67 ± 2.59 <sup>§</sup>	40.46 ± 4.3
Right gluteus medius, sec.	30.59 ± 3.45 <sup>§</sup>	30.36 ± 2.21 <sup>§</sup>	31.46 ± 2.77 <sup>§</sup>	43.23 ± 4.7
Total static muscle endurance, sec.	157.21 ± 11.47	138.13 ± 6.52	127.12 ± 8.13 <sup>§#</sup>	259.09 ± 18.18
Rate of muscular quality, CU*	2.00 ± 0.15 <sup>§</sup>	1.88 ± 0.10 <sup>§</sup>	1.59 ± 0.11 <sup>§#</sup>	3.26 ± 0.28

§: P < 0.05 in the period with the highest indicator of the control group; #: P < 0.05 in the period with the highest indicator of 1 group; CU\*: conventional units.

**Table 4.** The rates of dynamic endurance of wrist and arm muscles in children with type 1 diabetes according to the duration of the disease, M ± m

Indicators, units	Group 1, n = 20	Group 2, n = 27	Group 3, n = 29	Group of control, n = 16	
WSI left, CU	initial	38.11 ± 3.24 <sup>§</sup>	37.21 ± 1.28 <sup>§</sup>	36.51 ± 1.76 <sup>§</sup>	50.75 ± 2.12
	After test	32.85 ± 3.32 <sup>§</sup>	32.46 ± 1.78 <sup>§</sup>	30.61 ± 1.60 <sup>§</sup>	47.21 ± 2.82
WSI1/WSI2, left, CU		1.14 ± 0.02	1.16 ± 0.03	1.22 ± 0.03 <sup>§#</sup>	1.08 ± 0.03
WSI right, CU	initial	42.44 ± 3.22 <sup>§</sup>	39.73 ± 2.01 <sup>§</sup>	38.75 ± 2.02 <sup>§</sup>	55.15 ± 2.71
	After test	36.79 ± 3.25 <sup>§</sup>	34.38 ± 1.75 <sup>§</sup>	32.63 ± 1.90 <sup>§</sup>	51.52 ± 3.05
WSI1/WSI2, right, CU		1.12 ± 0.02 <sup>§</sup>	1.17 ± 0.04 <sup>§</sup>	1.20 ± 0.03 <sup>§#</sup>	1.07 ± 0.01

§: P < 0.05 in the period with the highest indicator of the control group; #: P < 0.05 in the period with the highest indicator of 1 group; CU: conventional units.

in children with T1D regardless of duration of disease, which led to statistically significant decrease of total static muscular endurance compared to results obtained from testing the group of control (Table 3).

The worst rates of muscle endurance were observed in abdominal muscles. It was 2.5–2.9 times lower compared to rates of the control group. It should be pointed out that, as the duration of disease increased the rates of total static muscle endurance were getting worse through the neck muscles. If in the first year of the disease the endurance of this muscle group was reduced by 1.7 times compared with the indicators of the control group, then with a long course of diabetes (group 3) this indicator not only statistically differed from the values of the control group (P < 0.05), but was 1.5 times less than the same indicator in group 1 (P < 0.05).

It was noticed that there was also worsening of muscle quality rates coming with changes in static muscle endurance in patients with T1D. There was a progressive decreasing of given indicator from 2.00 ± 0.15 CU in the first year of disease down to 1.59 ± 0.11 CU in patients from the 3<sup>rd</sup> group, which was 2 times less than the same indicator obtained in the group of control.

The level of glycosylated hemoglobin (HbA1c) in the research group increased with increase of duration of T1D and amounted to first group 8.9 ± 0.6 %, in the second group – 9.12 ± 0.38 %, in the third group – 10.31 ± 0.28 %, It was established, that the reduced static muscle endurance in patients with T1D is related to the increased level of HbA1c (r = -0.35, P < 0.05). This correlation became the most significant during the first 5

years of disease (r = -0.50, P < 0.05). That means that the lack of diabetes control causes significant changes in glycemia and causes the development of chronic complications of diabetes mellitus, as well as impaired function of skeletal muscles.

When examining the dynamic endurance of wrist and arm muscles using the rates of BMI it was indicated that there was a decreased initial rate compared to the control group, as well as its even bigger decreasing after physical exertion (Table 4).

While WSI in the group of control decreased on average by 6.8 % after physical exertion, patients with T1D had 13 % less WSI index in the first 5 years of disease increasing up to 16 % in patients of the 3<sup>rd</sup> group (P < 0.05), which spoke about worsening of functional state of skeletal muscles and increased muscle fatigue, which was observed during the first years of disease and was in progress in terms of growing endurance. Additionally, the determined particularities of functional state of wrist and arm muscles were related to total muscular static endurance (r = +0.43 and r = +0.37, respectively for the left and right upper limbs, P < 0.05) and to the muscle quality rate (r = +0.52 and r = +0.47, respectively, P < 0.05).

## Discussion

The results obtained show the children with T1D to have an obvious decrease of muscular endurance starting from the first year of disease. It is mostly affected by insufficient glycemic control which is proved by received correlation relationship between glycosylated hemoglobin

and total static muscular endurance ( $r = -0.35$ ,  $P < 0.05$ ). At the same time, statistically significant decreasing of muscle mass occurs only after the 5<sup>th</sup> year of the disease. Thus, disturbances in functional abilities of muscles on the background of chronic hyperglycemia already fixed during the first years of disease eventually lead to decrease of muscle mass, in other words to the development of diabetic myopathy. Moreover, in children with T1D an increase in the ratio between fat and muscle tissue in condition of normal body mass index was observed. One of the reasons causing increasing of fatty tissue percentage in patients with T1D is insufficient glycemic control ending up with chronic hyperglycemia. Wherein, excessed amount of glucose turns into a fat, because the fatty tissue is characterized by quite significant metabolic activity and is highly irresistible to insulin. The increasing percentage of fatty tissue leads to further metabolic response dysfunction to exogenous insulin, that is to say towards insulin resistance [13]. The receptors of insulin situated in muscles play the main role in glucose regulation, while muscle tissue itself is the main place of glucose utilization, because the glucose is considered to be the source energy material necessary for their functioning [14]. Monaco C. M. in his research supposed, that repeated insulin injections may cause periods of relapses intracellular hyperglycemia in myofibrils. Thus, patients with T1D have a greater dependence on glycolytic metabolism due to lack of mitochondrial function and accompanying changes in muscle structure [3]. At the same time, we taking into account, that insulin is considered to be a catabolic hormone promoting the synthesis of protein by facilitating the muscle proteins production. The defects of its signals transmitting leads to lack of protein production and excessed protein degradation, which eventually causes the muscle power and muscle mass deficiency [15].

## Conclusions

1. Functional condition of skeletal muscles in children with type 1 diabetes is characterized by deficiency of static and dynamic muscular endurance.

2. The first signs of violation of functional condition of skeletal muscles are observed over the first year of disease and progress as the duration of a disease increases and eventually leads to decrease of muscular mass and diabetic myopathy developing.

3. The major factor of risk contributing the worsening of functional condition of muscles is insufficient glycemic control.

**Prospects for further studies.** We plan to determine the predictors formation of diabetic myopathy in children with T1D.

## Funding

The performed study is a fragment of the scientific and research work of Zaporizhzhia State Medical University on the topic: "Prediction of the occurrence, diagnosis and treatment of disorders of the musculoskeletal system in children with diabetes" (state registration O119U100456).

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

Надійшла до редакції / Received: 04.05.2020

Після доопрацювання / Revised: 26.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 09.06.2020

## Information about authors:

Pashkova O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3935-5103](https://orcid.org/0000-0002-3935-5103)

Chudova N. I., MD, Assistant of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-5641-1843](https://orcid.org/0000-0001-5641-1843)

## Відомості про авторів:

Пашкова О. Є., д-р мед. наук, доцент, професор каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Чудова Н. І., асистент каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Пашкова Е. Е., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Чудова Н. И., ассистент каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- Maratova, K., Soucek, O., Matyskova, J., Hlavka, Z., Petruzelkova, L., Obermannova, B., Pruhova, St., Kolouskova, S., Sumnik, Z. (2018). Muscle functions and bone strength are impaired in adolescents with type 1 diabetes. *Bone*, 106, 22-27. <http://doi.org/10.1016/j.bone.2017.10.005>
- Dydysenko, Yu. V., & Shepel'kevich, A. P. (2015). Vozmozhnosti otsenki sostoyaniya myshechnogo komponenta v norme i pri sakharom diabete 1-go tipa [Opportunities for assessing the state of the muscle component in normal conditions and in type 1 diabetes mellitus]. *Meditsinskaya panorama*, (5), 45-50. [in Russian].
- Monaco, C. M. F., Perry, C. G. R., & Hawke, T. J. (2017). Diabetic Myopathy: current molecular understanding of this novel neuromuscular disorder. *Current Opinion in Neurology*, 30(5), 545-552. <https://doi.org/10.1097/wco.0000000000000479>
- Hirata, Y., Nomura, K., Senga, Y., Okada, Y., Kobayashi, K., Okamoto, S., Minokoshi, Y., Imamura, M., Takeda, S., Hosooka, T., & Ogawa, W. (2019). Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1/KLF15 axis. *Jci Insight*, 4(4), Article e124952. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.124952>
- Nakamura, P. M., Mielke, G. I., Horta, B. L., Assungdo, M. C., Goncalves, H., Menezes, A. M. B., Barros, F. C., Ekelund, U., Brage, S., Wehrmeister, F. C., Oliveira, I. O., & Hallal, P. C. (2017). Physical Activity Throughout Adolescence and Hba1c in Early Adulthood: Birth Cohort Study. *Journal of Physical Activity & Health*, 14(5), 375-381. <https://doi.org/10.1123/jpah.2016-0245>
- Peters, A. M., Snelling, H. L. R., Glass, D. M., & Bird, N. J. (2011). Estimation of lean body mass in children. *British Journal of Anaesthesia*, 106(5), 719-723. <https://doi.org/10.1093/bja/aer057>
- Zanardo, M., Doniselli, F. M., Esseridou, A., Tritella, S., Mattiuzi, C., Menicagli, L., Di Leo, G., & Sardaneli, F. (2018). Abdominal CT: a radiologist-driven adjustment of the dose of iodinated contrast agent approaches a calculation per lean body weight. *European radiology experimental*, 2(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s41747-018-0074-1>
- Kim, H. T., Kim, H. J., Ahn, H. Y., & Hong, Y. H. (2016). An analysis of age-related loss of skeletal muscle mass and its significance on osteoarthritis in a Korean population. *Korean Journal of Internal Medicine*, 31(3), 585-593. <https://doi.org/10.3904/kjim.2015.156>
- Kupusinac, A., Stokic, E., & Doroslovacki, R. (2014). Predicting body fat percentage based on gender, age and BMI by using artificial neural networks. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 113(2), 610-619. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2013.10.013>
- Proskurov, E. M. (2012). Funktsional'noe sostoyanie serdечно sosudistoi sistemy u mal'chikov 10-11 let posle staticheskikh uprazhnenii s sobstvennoi massoi tela [The functional state of cardiovascular system for boys 10 – 11 years old after static exercises with deadweight of body]. *Pedagogika, psihologiya ta mediko-biologichni problemi fizichnogo viovanna i sportu*, (11), 79-84. [in Russian]. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.97367.v1>

- [11] Vasil'eva, A. A., & Konovalova, T. G. (2019). Otsenka silovoi vynoslivosti myshts spiny i pressa kak sposob kontrolya profilaktiki skolioza studentov 3 kursa 2-oi funktsional'noi gruppy [Evaluation of strength endurance of the muscles of the back and the press as a way to control the prevention of scoliosis of 3rd year students of the 2nd functional group]. *Studencheskii*, (22). [in Russian]. <https://sibac.info/journal/student/42/122149>.
- [12] Truhacheva, N. V. (2017). *Meditsinskaya statistika: uchebnoye posobiye* [Medical statistics: training manual]. Rostov na Donu: Feniks. [in Russian].
- [13] Abdulkadirova, F. R., Ametov, A. S., Doskina, E. V., & Pokrovskaya, R. A. (2014). Rol' lipotoksichnosti v patogeneze sakharnogo diabeta 2 tipa i ozhirenii [The role of lipotoxicity in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity]. *Ozhirenie i metabolizm*, 11(2), 8-12. [in Russian]. <https://doi.org/10.14341/omet201428-12>
- [14] Carnagarin, R., Dharmarajan, A. M., & Dass, C. R. (2015). Molecular aspects of glucose homeostasis in skeletal muscle – A focus on the molecular mechanisms of insulin resistance. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 417(C), 52-62. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.09.004>
- [15] Umegaki, H. (2015). Sarcopenia and diabetes: Hyperglycemia is a risk factor for age-associated muscle mass and functional reduction. *Journal of Diabetes Investigation*, 6(6), 623-624. <https://doi.org/10.1111/jdi.12365>

## Значение CD44- и ALDH1-позитивных стволовых клеток в прогрессии колоректальной аденокарциномы

М. А. Шишкин\*<sup>A,B,C</sup>, В. А. Туманский<sup>E,F</sup>, Т. А. Христенко<sup>D</sup>

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи;  
E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

### Ключевые слова:

колоректальный рак, CD44 антиген, альдегиддегидрогеназа 1, пролиферация, апоптоз.

Патология. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 170-177

\*E-mail:  
Shishkin.stomat@gmail.com

**Цель работы** – проанализировать показатели иммуногистохимической экспрессии CD44 и ALDH1, а также их корреляции с пролиферативной и апоптотической активностью раковых клеток на I–IV стадиях (pTNM) развития колоректальной аденокарциномы (КРА).

**Материалы и методы.** Проведено комплексное патогистологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала 30 пациентов, прооперированных по поводу колоректальной аденокарциномы I–IV стадий.

**Результаты.** Установлено, что колоректальная аденокарцинома характеризуется мембранно-цитоплазматической экспрессией CD44 в клетках стромы опухоли (площадь иммунопозитивных клеток в КРА = 61,26 (42,58; 79,15) %). Площадь, занимаемая этими клетками, достоверно возрастает при прогрессии рака от I к III стадии, а также прямо коррелирует с глубиной инвазии опухоли, наличием регионарных и отдаленных метастазов. Колоректальная карцинома характеризуется цитоплазматической экспрессией ALDH1 в клетках стромы опухоли. Площадь иммунопозитивных клеток стромы в КРА = 40,22 (22,54; 47,77) %, достоверно возрастает при прогрессии опухоли от II к IV стадии, а также прямо коррелирует с глубиной ее инвазии. В колоректальной карциноме также отмечена цитоплазматическая экспрессия ALDH1 в раковых клетках; площадь иммунопозитивных раковых клеток в КРА = 42,15 (32,06; 50,42) %. Площадь иммунопозитивных раковых клеток достоверно возрастает при прогрессии опухоли от III к IV стадии и прямо коррелирует с каждым из показателей pTNM. Корреляционный анализ показателей экспрессии изученных маркеров стволовых клеток, а также маркеров пролиферации и апоптоза позволил установить закономерности: возрастающая при прогрессии КРА площадь CD44-позитивных клеток стромы ассоциируется со снижением уровня пролиферации раковых клеток, а также с активацией эпителиально-мезенхимального перехода последних; возрастающая на больших стадиях КРА площадь ALDH1-позитивных клеток стромы ассоциируется со снижением уровня апоптоза раковых клеток.

**Выводы.** Площадь CD44-позитивных клеток стромы достоверно возрастает при прогрессии опухоли от I к III стадии и ассоциируется со снижением пролиферации раковых клеток. Площадь ALDH1-позитивных клеток стромы достоверно возрастает при прогрессии опухоли от II к IV стадии и ассоциируется со снижением апоптоза раковых клеток, а площадь ALDH1-позитивных раковых клеток достоверно возрастает при прогрессии опухоли от III к IV стадии.

### Ключові слова:

колоректальний рак, CD44 антиген, альдегіддегідрогеназа 1, проліферація, апоптоз.

Патологія. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 170-177

## Значення CD44- і ALDH 1-позитивних стовбурових клітин у прогресії колоректальної аденокарциноми

М. А. Шишкін, В. О. Туманський, Т. О. Христенко

**Мета роботи** – проаналізувати показники імуногістохімічної експресії CD44 та ALDH1, а також їх кореляції з проліферативною та апоптотичною активністю ракових клітин на I–IV стадіях (pTNM) розвитку колоректальної аденокарциноми (КРА).

**Матеріали та методи.** Виконали комплексне патогістологічне та імуногістохімічне дослідження операційного матеріалу 30 пацієнтів, яких прооперували з приводу колоректальної аденокарциноми I–IV стадій.

**Результати.** Встановили, що колоректальна аденокарцинома характеризується мембранно-цитоплазматичною експресією CD44 у клітинах стромі пухлини (площа імунопозитивних клітин у КРА = 61,26 (42,58; 79,15) %). Площа, яку займають ці клітини, вірогідно збільшується під час прогресування раку від I до III стадії, а також прямо корелює з глибиною інвазії пухлини, наявністю регіонарних і віддалених метастазів. Колоректальна карцинома характеризується цитоплазматичною експресією ALDH1 у клітинах стромі пухлини. Площа імунопозитивних клітин стромі в КРА = 40,22 (22,54; 47,77) % вірогідно збільшується під час прогресування пухлини від II до IV стадії, а також корелює з глибиною її інвазії. В колоректальній аденокарциномі також наявна цитоплазматична експресія ALDH1 у ракових клітинах; площа імунопозитивних ракових клітин в КРА = 42,15 (32,06; 50,42) %. Площа імунопозитивних ракових клітин вірогідно зростає під час прогресування пухлини від III до IV стадії і прямо корелює з кожним із показників pTNM. Кореляційний аналіз показників експресії досліджених маркерів показав закономірності: площа CD44-позитивних клітин стромі, що збільшується під час прогресування КРА, асоціюється зі зниженням рівня проліферації ракових клітин, а також з активацією епітеліально-мезенхімального переходу останніх; площа ALDH1-позитивних клітин стромі, що збільшується на вищих стадіях КРА, асоціюється зі зниженням рівня апоптозу ракових клітин.

**Висновки.** Площа CD44-позитивних клітин стромі достовірно зростає при прогресії пухлини від I до III стадії та асоціюється зі зниженням проліферації ракових клітин. Площа ALDH1-позитивних клітин стромі вірогідно зростає при прогресії пухлини від II до IV стадії та асоціюється зі зниженням апоптозу ракових клітин, а площа ALDH1-позитивних ракових клітин вірогідно зростає при прогресії пухлини від III до IV стадії.

## Significance of CD44- and ALDH1-positive stem cells in colorectal adenocarcinoma progression

M. A. Shyshkin, V. O. Tumanskyi, T. O. Khrystenko

**Aim** – to analyze CD44 and ALDH1 immunohistochemical expression levels, as well as their correlations with proliferative and apoptotic activity of cancer cells in colorectal adenocarcinoma (CRA) of stages I–IV (pTNM).

**Materials and methods.** Pathohistological and immunohistochemical studies of surgical material from 30 patients who underwent surgical treatment of colorectal adenocarcinoma (stages I–IV) were carried out.

**Results.** It was established that colorectal adenocarcinoma is characterized by membranous and cytoplasmic CD44 expression in stromal cells (the area of immunopositive cells in CRA = 61.26 (42.58; 79.15) %), the area taken by the cells significantly increases during the tumor progression from stage I to stage III and directly correlates with the depth of the tumor invasion, as well as the presence of regional and distant metastases. Colorectal adenocarcinoma is characterized by cytoplasmic ALDH1 expression in the tumor stromal cells; the area of immunopositive cells in CRA = 40.22 (22.54; 47.77) % and significantly increases during the tumor progression from stage II to stage IV, as well as directly correlates with the depth of its invasion. Cytoplasmic ALDH1 expression in cancer cells of colorectal cancer was also revealed; the area of immunopositive cancer cells in CRA = 42.15 (32.06; 50.42) %. The area of immunopositive cancer cells significantly increases during the tumor progression from stage III to stage IV and directly correlates with each of the pTNM indexes. The correlation analysis of the indexes obtained for studied markers, as well as the markers of proliferation and apoptosis, made possible to reveal the next tendencies: the increasing area of CD44-positive stromal cells in CRA is associated with decreasing cancer cells proliferation level, and also with the activation of epithelial-to-mesenchymal transition; the increasing area of ALDH1-positive stromal cells is associated with decreasing cancer cells apoptosis level.

**Conclusions.** The area of CD44-positive stromal cells significantly increases with the tumor progression from stage I to stage III and is associated with decreasing of the cancer cells proliferation level. The area of ALDH1-positive stromal cells significantly increases with tumor progression from stage II to stage IV and is associated with decreasing of the cancer cells apoptosis level, while the area of ALDH1-positive cancer cells significantly increases with tumor progression from stage III to stage IV.

**Key words:**  
colorectal cancer, cd44 antigen, aldehyde dehydrogenase 1, cell proliferation, apoptosis.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 170-177

По данным GLOBOCAN 2018, колоректальный рак занимает третье место среди причин онкологической смертности и четвертое место среди наиболее часто диагностируемых злокачественных новообразований; в развивающихся странах отмечен рост заболеваемости [1]. Наиболее распространенный гистологический вариант этого рака – колоректальная аденокарцинома (КРА), развивающаяся из эпителиоцитов толстой кишки. Обобщая современные данные об онкогенезе, можно сказать, что КРА развивается в случаях, когда в эпителиоцитах накапливается серия генетических и эпигенетических аномалий, что приводит к изменению морфологических и функциональных свойств в последующих популяциях клеток [2].

Особый интерес вызывает теория о раковых стволовых клетках (РСК). РСК представляют собой субпопуляции стволовых клеток опухоли, которые локализованы в строме раковой опухоли (мезенхимальные стволовые клетки) и среди злокачественных эпителиоцитов опухоли (собственно раковые стволовые клетки) [3]. Взаимодействие между мезенхимальными стволовыми и собственно раковыми стволовыми клетками пока изучены недостаточно. РСК обладают способностью к самообновлению, симметричному и ассиметричному делению, частичной дифференцировке, а также к существованию, самообновлению и дифференцировке вне первичной опухоли [4]. Среди изученных свойств стволовых раковых и мезенхимальных стволовых клеток раковых новообразований – способность к промоции опухолевого роста, рецидивированию и метастазированию рака, формированию химиорезистентности некоторых опухолей [5,6]. Пул раковых и мезенхимальных стволовых клеток в различных видах рака оценивают по коэкспрессии этими клетками определенных ИГХ маркеров, при изучении КРА для

определения РСК наиболее часто применяют CD44, CD133, ALDH1, EpCAM [7].

CD44 – мембранный гликопротеин, обладающий широким спектром функциональных свойств. Роль CD44 опосредуется его способностью связывать различные компоненты внеклеточного матрикса, включая гиалуроновую кислоту и остеопоинин, а также молекулы-«мессенджеры», такие как факторы роста, присутствующие в опухолевом микроокружении. Гиалуроновая кислота и остеопоинин, в свою очередь, изобилуют в нише лейкемических стволовых клеток и в нише стволовых клеток различных солидных опухолей, где они способствуют поддержанию популяций РСК [8]. В ряде работ показано, что CD44 участвует в активации нескольких сигнальных путей, включая MAPK-, PI3K/Akt- и Wnt-каскады. Последние, как хорошо известно, регулируют пролиферацию и дифференцировку клеток, апоптоз и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), т. е. ключевые механизмы, дисрегуляция которых приводит к опухолевой прогрессии [9–13]. Доказана взаимосвязь между экспрессией CD44 и активностью MMP-9, регулирующей инвазивные свойства опухолей [11]. Однако изучение механизмов вовлечения CD44 в колоректальный канцерогенез еще далеко от завершения.

ALDH1 (альдегиддегидрогеназа 1) – «метаболический маркер» стволовых клеток человека. Это NAD(P)+-зависимый фермент, обеспечивающий окисление широкого спектра эндо- и экзогенных альдегидов, основная функция которого – защита в условиях оксидативного стресса. Детоксифицирующая способность ALDH1 – одна из основ «долголетия» РСК, обеспечивая их защиту от окислительного повреждения. Также ALDH1 играет ключевую роль в биосинтезе ряда молекул-регуляторов, таких как ре-

тиновая кислота,  $\gamma$ -аминоасляная кислота, бетаин [14]. ALDH1 обеспечивает трансформацию ретиноальдегида в ретиновую кислоту – сигнальную молекулу, необходимую для активации клеточной пролиферации и дифференцировки. Более того, ALDH1 обеспечивает устойчивость к алкилирующим химиотерапевтическим агентам, запуская необратимое окисление алкильных групп [15]. Маркер эффективно применяли для обнаружения пула РСК в раке молочной железы, протоковой карциноме поджелудочной железы, а также в КРП [15–21]. Доказана роль ALDH1 как промотора ЭМП раковых клеток: атипичные эпителиоциты утрачивают дифференцировку и обретают свойства стволовых, что прямо коррелирует с возрастанием глубины инвазии опухоли и ее метастазированием [17].

Таким образом, по данным научной литературы, оба маркера (CD44 и ALDH1) вовлечены в колоректальный онкогенез путем опосредования различных сигнальных каскадов, включая те, что регулируют пролиферацию, дифференцировку, выживаемость клеточных популяций и ЭМП.

Число работ, посвященных сравнительному анализу экспрессии CD44 и ALDH1 в КРА ограничено, а противоречивость результатов этих работ оставляет вопрос о значимости экспрессии этих маркеров в КРА открытым.

### Цель работы

Проанализировать показатели иммуногистохимической экспрессии CD44 и ALDH1, а также их корреляции с пролиферативной и апоптотической активностью раковых клеток на I, II, III, IV стадиях (pTNM) развития колоректальной аденокарциномы.

### Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование КРА в операционном материале 30 пациентов в возрасте 43–72 года, которым проведено оперативное вмешательство в связи с раком дистального отдела толстой кишки. На основании результатов патоморфологического исследования в соответствии с действующей классификацией pTNM сформировали 4 группы наблюдения: I стадия КРА ( $T_{1-2} N_0 M_0$ ) – 5 больных, II стадия КРА ( $T_{3-4} N_0 M_0$ ) – 9 больных, III стадия КРА ( $T_{1-4} N_{1-3} M_0$ ) – 10 больных, IV стадия КРА ( $T_{1-4} N_{1-3} M_1$ ) – 6 больных. В качестве группы контроля использован секционный материал 10 умерших больных – фрагменты стенки дистальной толстой кишки обычной гистологической структуры.

Операционный и секционный материал фиксировали в 10 % забуференном формалине и заливали в парафин. Особенности гистологического строения исследованных образцов изучали в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ-исследование проводили по стандартной методике, предусмотренной производителем антител. Использовали поликлональные антитела к CD44 (CD44 Std./HCAM Ab-4, Thermo Scientific, USA), моноклональные антитела к ALDH1 (ALDH1A1, Clone 5A11, Thermo Scientific, USA), систему визуализации EnVision FLEX с диаминобензидином (DAKO, USA).

Результаты ИГХ-реакций изучали в микроскопе Axioplan-2 (Carl Zeiss, Germany). В каждом случае оценивали площади CD44-позитивных и ALDH1-позитивных клеток в опухоли методом фотоцифровой морфометрии в 5 стандартизованных полях зрения микроскопа при увеличении  $\times 200$  путем расчета числа пикселей иммунопозитивного цифрового изображения соответствующего маркера к общему числу пикселей в изображении, выраженному в %.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия № JPZ8041382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ); сравнение между двумя группами наблюдений проводили при помощи критерия Манна–Уитни, между тремя и более группами наблюдений – при помощи критерия Краскела–Уоллиса; корреляционный анализ проведен с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ( $p < 0,05$ ).

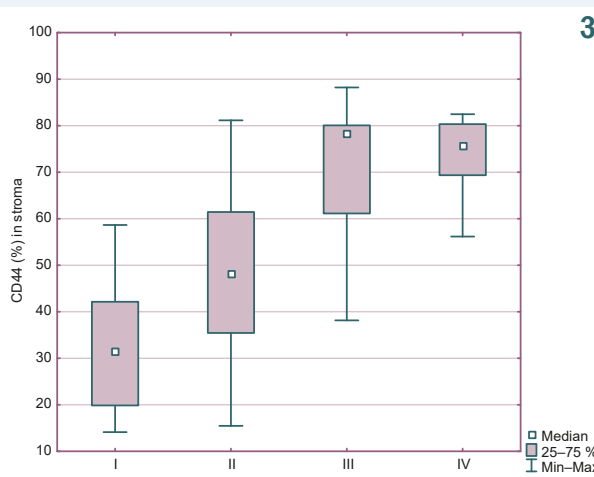
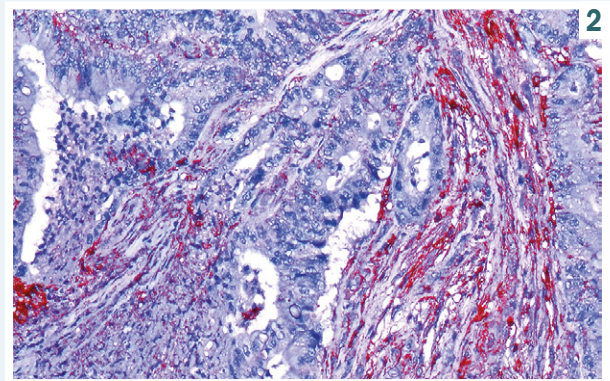
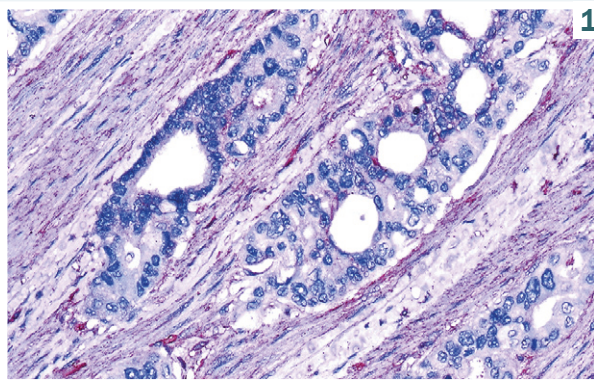
### Результаты

При ИГХ-исследовании с использованием антител к CD44 положительное мембранно-цитоплазматическое окрашивание наблюдали в клетках стромы опухоли. Площадь CD44-позитивных клеток в строме КРА составила 61,26 (42,58; 79,15) %. При сравнительном анализе площади CD44-позитивных клеток стромы на разных стадиях развития КРА установлено, что в КРА I и II стадий площадь CD44-позитивных клеток стромы составила 31,41 (19,87; 42,15) % (рис. 1) vs. 48,26 (35,44; 61,45) % стандартизованного поля зрения опухоли,  $p < 0,05$ ; в КРА II и III стадий – 48,26 (35,44; 61,45) % vs. 78,36 (61,13; 80,06) % (рис. 2),  $p < 0,05$ ; в КРА III и IV стадий – 78,36 (61,13; 80,06) % vs. 75,70 (69,35; 80,33) % стандартизованного поля зрения опухоли,  $p > 0,05$ . Таким образом, установлено наличие достоверного роста площади, занимаемой CD44-позитивными клетками стромы при прогрессии КРА от I к III стадии (рис. 3).

Положительная ИГХ-экспрессия ALDH1 отмечена в цитоплазме клеток стромы КРА, а при прогрессии опухоли – и в цитоплазме раковых клеток (ALDH1<sup>+</sup> раковые клетки обнаружены в 50 % случаев КРА II–IV стадий).

Площадь ALDH1-позитивных клеток стромы КРА составила 40,22 (22,54; 47,77) %, а площадь ALDH1-позитивных раковых клеток – 42,15 (32,06; 50,42) % стандартизованного поля зрения опухоли. При сравнительном анализе площади ALDH1-позитивных клеток стромы на разных стадиях КРА установлено: в КРА I и II стадий они составляли 20,66 (18,51; 21,47) % vs. 25,75 (20,56; 32,86) % площади опухоли (рис. 4),  $p < 0,05$ ; в КРА II и III стадий – 25,75 (20,56; 32,86) % vs. 44,93 (41,17; 50,01) %,  $p < 0,05$ ; в КРА III и IV стадий – 44,93 (41,17; 50,01) % vs. 48,36 (42,15; 55,17) % площади опухоли,  $p > 0,05$ . При сравнительном анализе площади ALDH1-позитивных раковых клеток отмечено, что в КРА II и III стадий их площадь составляла 37,17 (31,07; 47,18) % vs. 34,25





**Рис. 1.** Экспрессия CD44 в строме колоректальной аденокарциномы I стадии. CD44 Std./HCAM Ab-4 (Thermo Scientific, USA). 36. ×200.

**Рис. 2.** Экспрессия CD44 в строме колоректальной аденокарциномы III стадии. CD44 Std./HCAM Ab-4 (Thermo Scientific, USA). 36. ×200.

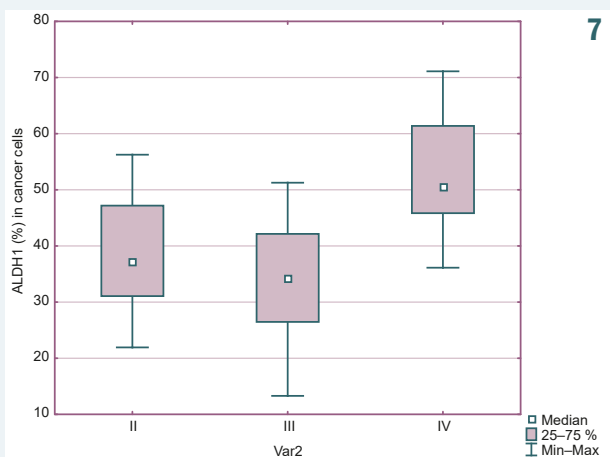
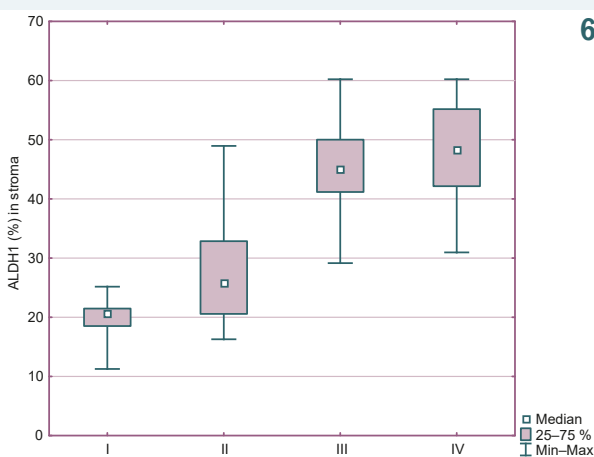
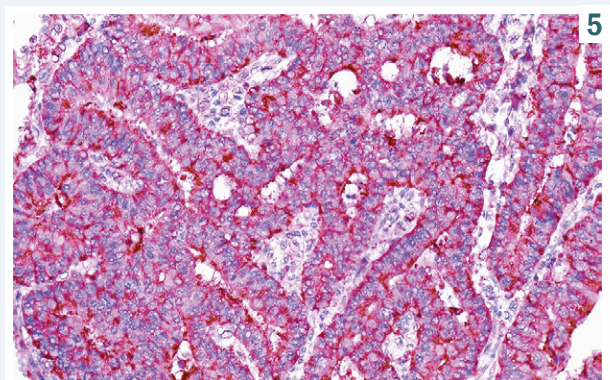
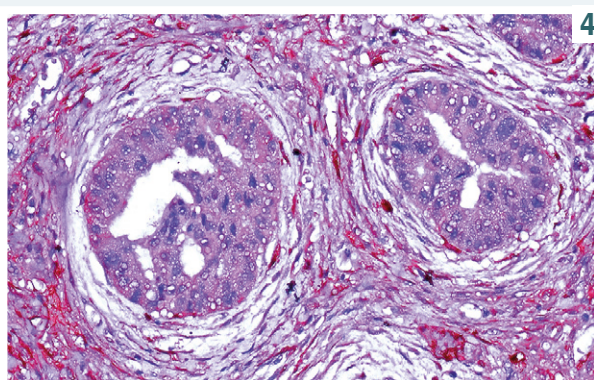
**Рис. 3.** Показатели площади CD44-позитивных клеток в строме колоректальной аденокарциномы I, II, III, IV стадий (pTNM).

**Рис. 4.** Экспрессия ALDH1 в колоректальной аденокарциноме II стадии. ALDH1A1/Clone 5A11 (Thermo Scientific, USA). 36. ×200.

**Рис. 5.** Экспрессия ALDH1 в колоректальной аденокарциноме IV стадии. ALDH1A1/Clone 5A11 (Thermo Scientific, USA). 36. ×200.

**Рис. 6.** Показатели площади ALDH1-позитивных клеток стромы в колоректальной аденокарциноме I, II, III, IV стадий (pTNM).

**Рис. 7.** Показатели площади ALDH1-позитивных раковых клеток в колоректальной аденокарциноме II, III, IV стадий (pTNM).



**Таблиця 1.** Результати кореляційного аналізу показателів експресії маркерів CD44, ALDH1, Ki-67, каспазы-3 і показателів pTNM в колоректальній аденокарциномі (с урахуванням даних [18,19])

	CD44	ALDH1 стромы	ALDH1 раковые клетки	Ki-67 [18,19]	каспаза-3 [18,19]	pT	pN	pM	pG
CD44	1,00	0,29	0,78*	-0,62*	-0,10	0,48*	0,53*	0,38*	0,27
ALDH1 стромы	0,29	1,00	0,55*	-0,10	-0,49*	0,45*	0,28	0,21	0,19
ALDH1 раковые клетки	0,78*	0,55*	1,00	-0,11	-0,23	0,33*	0,39*	0,62*	0,23
Ki-67 [18,19]	-0,62*	-0,10	-0,11	1,00	0,70*	-0,41*	0,01	-0,14	-0,29
Каспаза-3 [18,19]	-0,10	-0,49*	-0,23	0,70*	1,00	0,29	0,10	0,26	0,31

\*: наличие корреляционной связи ( $p < 0,05$ ).

(26,47; 42,15) % стандартизованной площади среза опухоли,  $p > 0,05$ ; в KPA III и IV стадий – 34,25 (26,47; 42,15) % vs. 50,56 (45,84; 61,38) % (рис. 5) площади опухоли,  $p < 0,05$ . Таким образом, установлено наличие достоверного увеличения площади, занимаемой ALDH1-позитивными клетками стромы KPA при ее прогрессии от I к III стадии (рис. 6), а также достоверный рост площади ALDH1-позитивных раковых клеток опухоли при ее прогрессии от III к IV стадии (рис. 7).

В предыдущих работах описаны молекулярно-иммуногистохимические особенности пролиферации и апоптоза в KPA [21,22]. Установлено, что опухолевые клетки KPA характеризуются средним уровнем экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67 (41,20 (36,62; 59,42) %), а также обратной корреляцией ( $r = -0,41$ ) между уровнем их пролиферативной активности клеток и глубиной инвазии (pT) опухоли. Эти данные согласуются с данными параллельно проведенного ПЦР-исследования, в котором показано, что при прогрессии KPA от I к IV стадии снижается транскрипционная активность гена Ki-67. Отмечено также, что раковые клетки KPA характеризуются низким уровнем апоптоза, оцененным по экспрессии каспазы-3 (28,72 (15,64; 76,71) УЕОП) на каждой из последовательных стадий прогрессии опухоли.

В контексте данной работы проведен корреляционный анализ показателей площади CD44-позитивных и ALDH1-позитивных клеток в KPA, параметров опухоли по pTNM и уровней пролиферации и апоптоза раковых клеток, оцененных по ИГХ-экспрессии маркеров Ki-67 и каспазы-3 соответственно. Установленные корреляции представлены в таблице 1.

## Обсуждение

Согласно полученным данным, KPA характеризуется мембранно-цитоплазматической экспрессией CD44 клетками стромы, которые оценивают как PCK [9]. Площадь CD44+ клеток стромы составляет 61,26 (42,58; 79,15) % площади стандартизованного поля зрения опухоли. Отмечено достоверное возрастание площади CD44-позитивных клеток стромы при прогрессии KPA от I к III стадии, а также установлена прямая корреляция между площадью CD44-позитивных клеток стромы и стадией прогрессии pTNM опухоли.

Известно, что CD44-позитивные клетки могут как активировать, так и угнетать пролиферативную активность раковых клеток в зависимости от их плотности в микроокружении опухоли: при низкой плотности белок merlin фосфорилируется и образует комплексы

с ERM и CD44. Комплекс merlin + CD44 связывается с RTK-рецепторами, что приводит к активации Ras/Raf/Mek/Erk-сигнального пути, среди эффектов которой – стимуляция пролиферации раковых клеток. При высокой плотности клеток микроокружения угнетается фосфорилирование белка merlin, соответственно, «выключается» описанный вариант активации Ras/Raf/Mek/Erk-каскада [13].

Корреляционный анализ между площадью CD44-позитивных клеток стромы и уровнем экспрессии маркера пролиферативной активности Ki-67 опухолевыми клетками указал на наличие обратной связи средней силы ( $r = -0,52$ ) между данными показателями: возрастающая при прогрессии KPA площадь CD44-позитивных клеток стромы ассоциируется со снижением пролиферативной активности раковых клеток. Описанный механизм, опосредованный белком merlin, объясняет эту ассоциацию: при возрастании площади, занимаемой в строме опухоли CD44-позитивными PCK, подавляется пролиферативная активность раковых клеток. Принимая во внимание, что эти процессы происходят на фоне прогрессии опухоли от I к III стадиям, а также учитывая результаты изучения пролиферации и апоптоза клеток в полипах-прекурсорах KPA [24], можно полагать, что возрастающая пролиферативная активность атипичных эпителиоцитов играет ключевую роль на ранних этапах колоректального онкогенеза, в частности, на этапе малигнизации полипа. При дальнейшей прогрессии KPA на стадиях реализации ее инвазивных и метастатических свойств ключевую роль, вероятно, играет ЭМП раковых клеток, в который CD44 задействован следующим образом. Одним из драйверных факторов транскрипции ЭМП служит ZEB1. ЭМП-индуцированная супрессия ESRP1 (epithelial splicing regulatory protein 1) контролирует альтернативный сплайсинг CD44, что служит причиной сдвига в экспрессии CD44 от вариантных (v) к стандартной (s) изоформе. CD44s обладает способностью самостоятельно активировать экспрессию ZEB1, способствуя таким образом запуску (поддержанию) ЭМП и поддержанию экспрессии CD44s. Описанный механизм называют CD44s-ZEB1-регуляторной петлей, ключевая роль которой заключается в независимой от внешних стимулов стимуляции ZEB1, угнетении ESRP1 и последующей промоции синтеза CD44s [25].

Показано, что KPA характеризуется цитоплазматической экспрессией ALDH1 клетками стромы (площадь ALDH1-позитивных клеток стромы составляет 40,22 (22,54; 47,77) % стандартизованной площади среза опухоли), а также цитоплазматической экс-

прессией ALDH1 раковыми клетками на II–IV стадиях прогрессии опухоли (площадь ALDH1-позитивных раковых клеток равна 42,15 (32,06; 50,42) % стандартизированной площади среза опухоли). Установлено достоверное возрастание площади, занимаемой ALDH1-позитивными клетками стромы КРА при ее прогрессии от I к III стадии, а также прямая корреляция между данным показателем и глубиной инвазии опухоли. Кроме того, обнаружена обратная корреляционная связь между площадью ALDH1-позитивных стромальных клеток КРА и уровнем апоптоза раковых клеток. Таким образом, ALDH1-позитивные ПСК вовлекаются в прогрессию больших стадий КРА, а также в угнетение апоптоза раковых клеток. В научной литературе найдена информация, что для ALDH1<sup>+</sup>-клеток характерна коэкспрессия анти-апоптотических молекул Bcl-2 и ABCG2 [17,19]. Кроме того, S. Tian, D. H. Liu, D. Wang et al. [26] описана обратная взаимосвязь между TRAIL-индуцированным апоптозом и количеством ALDH1<sup>+</sup> клеток в немелкоклеточном раке легкого. Показано, что высокий уровень экспрессии ALDH1 ассоциируется с увеличенным числом DR4- и DR5-рецепторов, что приводит к избыточной активации MEK/ERK-сигнального каскада, одним из эффектов которой является резистентность к апоптотическим стимулам [26]. Выяснение механизма ассоциации между возрастанием площади ALDH1-позитивных стромальных стволовых клеток и снижением уровня апоптоза раковых клеток при прогрессии в КРА требует проведения дальнейших молекулярно-генетических исследований.

Установлено достоверное увеличение площади ALDH1-позитивных раковых клеток при прогрессии КРА от III к IV стадии, а также наличие прямой корреляции между площадью ALDH1-позитивных стромальных и раковых клеток КРА, а также прямых корреляций между площадью ALDH1-позитивных раковых клеток и стадией прогрессии pTNM опухоли. Наибольшей силы корреляция характеризует ассоциацию ALDH1-позитивных раковых клеток с наличием отдаленных метастазов (pM) КРА, что согласуется с достоверным ростом площади ALDH1-позитивных раковых клеток при прогрессии КРА от III к IV стадии.

По данным специализированной литературы, ALDH1 – маркер стволовых клеток, который экспрессируется как обычными стволовыми клетками (в толстой кишке экспрессия отмечена в основании кишечных крипт), так и ПСК [16,17]. Экспрессия ALDH1 обнаружена в клетках стромы и в раковых клетках КРА [20]. Описана значительная экспрессия ALDH1 раковыми клетками веретеновидной формы, которые обнаруживают в инвазивном фронте назофарингеального рака, а также значимая корреляция экспрессии ALDH1 с экспрессией маркеров ЭМП: возрастание экспрессии ALDH1 ассоциируется с возрастанием экспрессии виментина на фоне снижения экспрессии E-кадгерина [27]. Многие мезенхимальные стволовые клетки секретируют ЭМП-индуцирующие факторы: цитокины (IL-1, IL-6), хемокины (CCL5, CXCL1, CXCL5, CXCL7, CXCL8) и факторы роста (EGF, HGF, PDGF, TGF- $\beta$ ), которые паракринно «оркестрируют» программу ЭМП раковых клеток посредством активации

факторов транскрипции Twist, Snail, Slug, ZEB1 и ZEB2. Последние, в свою очередь, угнетают активность генов, кодирующих белки адгезии, десмосом и плотных контактов, а также повышают активность генов, кодирующих N-кадгерин, фибронектин и виментин [28,29].

Ранее описан механизм ассоциации высокого уровня экспрессии ALDH1 с увеличенным числом DR4- и DR5-рецепторов, что приводит к избыточной активации MEK/ERK-сигнального каскада [26], активирующего запуск ЭМП раковых клеток.

Данные о корреляции экспрессии ALDH1 с показателями pTNM прогрессии КРА согласуются с данными научной литературы. В ряде работ показана ассоциация возрастающей экспрессии этого маркера с увеличением показателя глубины инвазии КРА, наличием региональных и отдаленных метастазов, ухудшением прогноза для жизни больных [17,21–23]. Отмеченная корреляция между площадью ALDH1<sup>+</sup> раковых клеток и площадью CD44<sup>+</sup> клеток опухолевой стромы также свидетельствует о параллельном вовлечении этих молекул в ЭМП, который реализуется в ходе опухолевой прогрессии.

Таким образом, полученные данные о CD44-позитивных и ALDH1-позитивных стволовых клетках в КРА указывают на ведущую роль ЭМП в прогрессии опухоли на ее высших (II–IV) стадиях.

## Выводы

1. Колоректальная аденокарцинома характеризуется мембранно-цитоплазматической экспрессией CD44 клетками стромы опухоли. Площадь CD44-позитивных клеток стромы КРА равна 61,26 (42,58; 79,15) % стандартизированной площади среза опухоли, достоверно возрастает при прогрессии опухоли от I к III стадии, а также ассоциируется со снижением пролиферативной активности раковых клеток.

2. Цитоплазматическая экспрессия характеризует ALDH1-позитивные клетки стромы колоректальной карциномы, площадь которых равна 40,22 (22,54; 47,77) % стандартизированной площади среза опухоли, достоверно возрастает при ее прогрессии от II к IV стадии, а также ассоциируется со снижением уровня апоптоза раковых клеток.

3. Раковые клетки на II–IV стадиях прогрессии колоректальной аденокарциномы характеризуются цитоплазматической экспрессией ALDH1: площадь ALDH1-позитивных раковых клеток равна 42,15 (32,06; 50,42) % стандартизированной площади среза опухоли, достоверно возрастает при прогрессии опухоли от III к IV стадии, отражая эпителиально-мезенхимальный переход раковых клеток.

**Перспективы дальнейших исследований.** Перспективным является дальнейшее изучение роли раковых стволовых клеток в прогрессии колоректальной аденокарциномы с использованием маркера EPCAM, а также оценка корреляций экспрессии изученных маркеров раковых стволовых клеток с маркерами ЭМП (e-cadherin, vimentin).

**Финансирование**

Исследование проведено в рамках НИР Запорожского государственного медицинского университета «Раннее молекулярно-генетическое и иммуногистохимическое прогнозирование склонности к прогрессии рака легких и органов пищеварения» (№ госрегистрации O117U002580).

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.04.2020

Після доопрацювання / Revised: 12.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 22.05.2020

**Сведения об авторах:**

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, Украина, заслуженный деятель науки и техники Украины.  
Христенко Т. О., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Відомості про авторів:**

Шишкін М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет Україна, заслужений діяч науки і техніки України.  
Христенко Т. О., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Information about authors:**

Shyshkin M. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Vice-Rector for Research, Zaporizhzhia State Medical University, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine.  
Khrystenko T. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.





**Список литературы**

- [1] Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram et al. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018. Vol. 68, Iss. 6. P. 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Rawla P., Sunkara T., Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przeglad gastroenterologiczny*. 2019. Vol. 14, Iss. 2. P. 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>
- [3] Туманский В. А., Коваленко И. С. Раковые стволовые и мезенхимальные стволовые клетки в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы. *Патологія*. 2019. Т. 16. № 1. С. 131-138. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166476>
- [4] Cancer stem cells: An insight / R. B. Moharil, A. Dive, S. Khandekar, A. Bodhade. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*. 2017. Vol. 21, Iss. 3. P. 463. [https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp.132\\_16](https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp.132_16)
- [5] Najafi M., Farhood B., Mortezaee K. Cancer stem cells (CSCs) in cancer progression and therapy. *Journal of cellular physiology*. 2019. Vol. 234, Iss. 6. P. 8381-8395. <https://doi.org/10.1002/jcp.27740>
- [6] Najafi M., Mortezaee K., Majidpoor J. Cancer stem cell (CSC) resistance drivers / M. Najafi, K. Mortezaee, J. Majidpoor. *Life sciences*. 2019. Vol. 234. P. 116781. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116781>

- [7] Cancer stem cells in progression of colorectal cancer / Y. Zhou, L. Xia, H. Wang et al. *Oncotarget*. 2017. Vol. 9, Iss. 70. P. 33403-33415. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23607>
- [8] Morath I., Hartmann T. N., Orian-Rousseau V. CD44: More than a mere stem cell marker. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2016. Vol. 81, Pt. A. P. 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2016.09.009>
- [9] The Role of CD44 and Cancer Stem Cells / L. Wang, X. Zuo, K. Xie, D. Wei. *Methods in molecular biology*. 2018. Vol. 1692. P. 31-42. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6_3)
- [10] The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications / C. Chen, S. Zhao, A. Karnad, J. W. Freeman. *Journal of hematology & oncology*. 2018. Vol. 11, Iss. 1. P. 64. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0605-5>
- [11] Senbanjo L. T., Chelliah M. A. CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2017. Vol. 5. P. 18. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00018>
- [12] Xia P., Xu X. Y. Prognostic significance of CD44 in human colon cancer and gastric cancer: Evidence from bioinformatic analyses. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7, Iss. 29. P. 45538-45546. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9998>
- [13] Inoue K., Fry E. A. Aberrant Splicing of Estrogen Receptor, HER2, and CD44 Genes in Breast Cancer. *Genetics & Epigenetics*. 2015. Vol. 7. P. 19-32. <https://doi.org/10.4137/GEG.S35500>
- [14] Vassalli G. Aldehyde Dehydrogenases: Not Just Markers, but Functional Regulators of Stem Cells. *Stem Cells International*. 2019. Vol. 2019. P. 3904645. <https://doi.org/10.1155/2019/3904645>
- [15] Acetaldehyde and Retinaldehyde Metabolizing Enzymes in Colon and Pancreatic Cancers / S. Singh, J. Arcaroli, D. C. Thompson et al. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2015. Vol. 815. P. 281-294. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-09614-8\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-319-09614-8_16)
- [16] Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) expression is an independent prognostic factor in triple negative breast cancer (TNBC) / F. Ma, H. Li, Y. Li et al. *Medicine*. 2017. Vol. 96, Iss. 14. P. e6561. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006561>
- [17] Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis / J. Chen, Q. Xia, B. Jiang et al. *PLoS One*. 2015. Vol. 10, Iss. 12. P. e0145164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145164>
- [18] Шишкин М. А. Сравнительная иммуногистохимическая характеристика пролиферации и апоптоза колоректальной аденокарциномы. *Патологія*. 2016. № 3. С. 65-72. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2016.3.87497>
- [19] Шишкин М. А. Молекулярно-иммуногистохимическая характеристика пролиферации и апоптоза опухолевых клеток колоректальной аденокарциномы. *Патологія*. 2018. Т. 15, № 1. С. 49-56. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.1.129447>
- [20] Molecular profiling of ALDH1+ colorectal cancer stem cells reveals preferential activation of MAPK, FAK, and oxidative stress pro-survival signalling pathways / R. Vishnubalaji, M. Manikandan, M. Fahad et al. *Oncotarget*. 2018. Vol. 9, Iss. 17. P. 13551-13564. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24420>
- [21] Mahmood N. A., Abdulghany Z. S., Al-Sudani I. M. Expression of Aldehyde Dehydrogenase (ALDH1) and ATP Binding Cassette Transporter G2 (ABCG2) in Iraqi Patients with Colon Cancer and the Relation with Clinicopathological Features. *International journal of molecular and cellular medicine*. 2018. Vol. 7, Iss. 4. P. 234-240. <https://doi.org/10.22088/IJMCM.BUMS.7.4.234>
- [22] Evaluation of the Role of ALDH1 as Cancer Stem Cell Marker in Colorectal Carcinoma: An Immunohistochemical Study / N. S. Holah, H. A. Aiad, N. Y. Asaad et al. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 2017. Vol. 11, Iss. 1. P. EC17-EC23. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22671.9291>
- [23] ALDH1A1 expression is associated with poor differentiation, 'right-sidedness' and poor survival in human colorectal cancer / L. M. van der Waals, I. Borel Rinkes, O. Kranenburg. *PLoS One*. 2018. Vol. 13, Iss. 10. P. e0205536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205536>
- [24] Shyshkin M. A., Khrystenko T. O. Distal colonic polyps: immunohistochemical study of proliferation and apoptosis. *Morphologia*. 2019. Vol. 13, Iss. 1. P. 67-75. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.1.67-75>
- [25] A self-enforcing CD44s/ZEB1 feedback loop maintains EMT and stemness properties in cancer cells / B. T. Preca, K. Baidak, K. Mock et al. *International journal of cancer*. 2015. Vol. 137, Iss. 11. P. 2566-2577. <https://doi.org/10.1002/ijc.29642>
- [26] Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) Promotes the Toxicity of TRAIL in Non-Small Cell Lung Cancer Cells via Post-Transcriptional Regulation of MEK-1 Expression / S. Tian, D. H. Liu, D. Wang et al. *Cellular physiology and biochemistry*. 2018. Vol. 51, Iss. 1. P. 217-227. <https://doi.org/10.1159/000495202>

- [27] Aldehyde dehydrogenase 1, a functional marker for identifying cancer stem cells in human nasopharyngeal carcinoma / A. Wu, W. Luo, Q. Zhang et al. *Cancer Letters*. 2013. Vol. 330, Iss. 2. P. 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.11.046>
- [28] Lazennec G., Lam P. Y. Recent discoveries concerning the tumor – mesenchymal stem cell interactions. *Biochimica et biophysica acta*. 2016. Vol. 1866, Iss. 2. P. 290-299. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.10.004>
- [29] Tumor specific recruitment and reprogramming of mesenchymal stem cells in tumorigenesis / L. Berger, Y. Shamai, K. L. Skorecki, M. Tzukerman. *Stem Cells*. 2016. Vol. 34, Iss. 4. P. 1011-1026. <https://doi.org/10.1002/stem.2269>
- ## References
- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Rawla, P., Sunkara, T., & Barsouk, A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przeglad gastroenterologiczny*, 14(2), 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>
- [3] Tumanskiy, V. O., & Kovalenko, I. S. (2019). Rakovye stvolovye i mezenkhimal'nye stvolove kletki v protokovoi adenokartsinome podzheludochnoi zhelezy [Cancer stem cells and mesenchymal stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma]. *Pathologia*, 16(1), 131-138. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166476>
- [4] Moharil, R. B., Dive, A., Khandekar, S., & Bodhade, A. (2017). Cancer stem cells: An insight. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 21(3), 463. [https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP\\_132\\_16](https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_132_16)
- [5] Najafi, M., Farhood, B., & Mortezaee, K. (2019). Cancer stem cells (CSCs) in cancer progression and therapy. *Journal of cellular physiology*, 234(6), 8381-8395. <https://doi.org/10.1002/jcp.27740>
- [6] Najafi, M., Mortezaee, K., & Majidpoor, J. (2019). Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. *Life sciences*, 234, 116781. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116781>
- [7] Zhou, Y., Xia, L., Wang, H., Oyang, L., Su, M., Liu, Q., Lin, J., Tan, S., Tian, Y., Liao, Q., & Cao, D. (2017). Cancer stem cells in progression of colorectal cancer. *Oncotarget*, 9(70), 33403-33415. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23607>
- [8] Morath, I., Hartmann, T. N., & Orian-Rousseau, V. (2016). CD44: More than a mere stem cell marker. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 81(Pt A), 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2016.09.009>
- [9] Wang, L., Zuo, X., Xie, K., & Wei, D. (2018). The Role of CD44 and Cancer Stem Cells. *Methods in molecular biology*, 1692, 31-42. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7401-6_3)
- [10] Chen, C., Zhao, S., Karnad, A., & Freeman, J. W. (2018). The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *Journal of hematology & oncology*, 11(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0605-5>
- [11] Senbanjo, L. T., & Chellaiah, M. A. (2017). CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 18. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00018>
- [12] Xia, P., & Xu, X. Y. (2016). Prognostic significance of CD44 in human colon cancer and gastric cancer: Evidence from bioinformatic analyses. *Oncotarget*, 7(29), 45538-45546. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9998>
- [13] Inoue, K., & Fry, E. A. (2015). Aberrant Splicing of Estrogen Receptor, HER2, and CD44 Genes in Breast Cancer. *Genetics & epigenetics*, 7, 19-32. <https://doi.org/10.4137/GEG.S35500>
- [14] Vassalli, G. (2019). Aldehyde Dehydrogenases: Not Just Markers, but Functional Regulators of Stem Cells. *Stem cells international*, 2019, 3904645. <https://doi.org/10.1155/2019/3904645>
- [15] Singh, S., Arcaroli, J., Thompson, D. C., Messersmith, W., & Vasilou, V. (2015). Acetaldehyde and retinaldehyde-metabolizing enzymes in colon and pancreatic cancers. *Advances in experimental medicine and biology*, 815, 281-294. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-09614-8\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-319-09614-8_16)
- [16] Ma, F., Li, H., Li, Y., Ding, X., Wang, H., Fan, Y., Lin, C., Qian, H., & Xu, B. (2017). Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) expression is an independent prognostic factor in triple negative breast cancer (TNBC). *Medicine*, 96(14), e6561. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006561>
- [17] Chen, J., Xia, Q., Jiang, B., Chang, W., Yuan, W., Ma, Z., Liu, Z., & Shu, X. (2015). Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS one*, 10(12), e0145164. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145164>
- [18] Shyshkin, M. A. (2016). Sravnitel'naya immunogistokhimicheskaya kharakteristika proliferatsii i apoptoza kolorektal'noi adenokartsinomy [Comparative immunohistochemical study of proliferation and apoptosis in colorectal adenocarcinoma]. *Pathologia*, (3), 65-72. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2016.3.87497>
- [19] Shyshkin, M. A. (2018). Molekulyarno-immunogistokhimicheskaya kharakteristika proliferatsii i apoptoza opukhovevkh kletok kolorektal'noi adenokartsinomy [Molecular-immunohistochemical characteristics of proliferation and apoptosis of tumor cells in colorectal adenocarcinoma]. *Pathologia*, 15(1), 49-56. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.1.129447>
- [20] Vishnubalaji, R., Manikandan, M., Fahad, M., Hamam, R., Alfayez, M., Kassem, M., Aldahmash, A., & Alajez, N. M. (2018). Molecular profiling of ALDH1<sup>+</sup> colorectal cancer stem cells reveals preferential activation of MAPK, FAK, and oxidative stress pro-survival signalling pathways. *Oncotarget*, 9(17), 13551-13564. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24420>
- [21] Mahmood, N. A., Abdulghany, Z. S., & Al-Sudani, I. M. (2018). Expression of Aldehyde Dehydrogenase (ALDH1) and ATP Binding Cassette Transporter G2 (ABCG2) in Iraqi Patients with Colon Cancer and the Relation with Clinicopathological Features. *International journal of molecular and cellular medicine*, 7(4), 234-240. <https://doi.org/10.22088/IJMCM.BUMS.7.4.234>
- [22] Holah, N. S., Aiad, H. A., Asaad, N. Y., Elkhouly, E. A., & Lasheen, A. G. (2017). Evaluation of the Role of ALDH1 as Cancer Stem Cell Marker in Colorectal Carcinoma: An Immunohistochemical Study. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 11(1), EC17-EC23. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/22671.9291>
- [23] van der Waals, L. M., Borel Rinkes, I., & Kranenburg, O. (2018). ALDH1A1 expression is associated with poor differentiation, 'right-sidedness' and poor survival in human colorectal cancer. *PLoS one*, 13(10), e0205536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205536>
- [24] Shyshkin, M. A., & Khrystenko, T. O. (2019). Distal colonic polyps: immunohistochemical study of proliferation and apoptosis. *Morphologia*, 13(1), 67-75. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.1.67-75>
- [25] Preca, B. T., Bajdak, K., Mock, K., Sundararajan, V., Pfannstiel, J., Maurer, J., Wellner, U., Hopt, U. T., Brummer, T., Brabletz, S., Brabletz, T., & Stemmler, M. P. (2015). A self-enforcing CD44s/ZEB1 feedback loop maintains EMT and stemness properties in cancer cells. *International journal of cancer*, 137(11), 2566-2577. <https://doi.org/10.1002/ijc.29642>
- [26] Tian, S., Liu, D. H., Wang, D., Ren, F., & Xia, P. (2018). Aldehyde Dehydrogenase 1 (ALDH1) Promotes the Toxicity of TRAIL in Non-Small Cell Lung Cancer Cells via Post-Transcriptional Regulation of MEK-1 Expression. *Cellular physiology and biochemistry*, 51(1), 217-227. <https://doi.org/10.1159/000495202>
- [27] Wu, A., Luo, W., Zhang, Q., Yang, Z., Zhang, G., Li, S., & Yao, K. (2013). Aldehyde dehydrogenase 1, a functional marker for identifying cancer stem cells in human nasopharyngeal carcinoma. *Cancer letters*, 330(2), 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.11.046>
- [28] Lazennec, G., & Lam, P. Y. (2016). Recent discoveries concerning the tumor – mesenchymal stem cell interactions. *Biochimica et biophysica acta*, 1866(2), 290-299. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.10.004>
- [29] Berger, L., Shamai, Y., Skorecki, K. L., & Tzukerman, M. (2016). Tumor Specific Recruitment and Reprogramming of Mesenchymal Stem Cells in Tumorigenesis. *Stem cells*, 34(4), 1011-1026. <https://doi.org/10.1002/stem.2269>

## BRAF-статус у цитоморфологічній діагностиці тиреоїдних вузлів

Ю. М. Тарашченко  \*1,B,C,D, А. Є. Коваленко  1,A,D,F, М. В. Остафійчук  1,E,  
К. А. Некрасов  2,B,C,E

<sup>1</sup>ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, <sup>2</sup>ДУ «Інститут молекулярної біології та генетики НАН України», м. Київ

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

### Ключові слова:

карцинома, щитоподібна залоза, мутація BRAF V600E, хірургічне лікування, тонкогловка аспіраційна пункційна біопсія.

Патологія. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 178-183

\*E-mail: [yutar0380@gmail.com](mailto:yutar0380@gmail.com)

**Мета роботи** – визначення значущості наявності мутації BRAF V600E в цитоморфологічній діагностиці тиреоїдних вузлів.

**Матеріали та методи.** У дослідження залучили 65 пацієнтів, які потребували хірургічного лікування з приводу вузлової патології щитоподібної залози (ЩЗ). Матеріал для визначення мутації BRAF V600E брали шляхом тонкогловкової пункційної аспіраційної біопсії на доопераційному етапі. Мутацію BRAF V600E визначали шляхом здійснення аналізу методом ПЛР у режимі реального часу.

**Результати.** Остаточне морфологічне дослідження видалених вузлів показало відсутність BRAF-мутацій у всіх 22 доброякісних вузлах. Серед патогістологічно підтверджених 43 папілярних карцином (ПК) BRAF-позитивними були 20 (46,5 %). Аналізуючи наявність генетичних мутацій залежно від підтипів папілярних карцином ЩЗ, виявили: BRAF-мутації вірогідно частіше ( $p < 0,001$ ) визначали в пацієнтів із класичним та оксифільноклітинним варіантами папілярної карциноми (60 % і 100 % відповідно) порівняно з фолікулярним варіантом папілярної карциноми ЩЗ (6,7 %). Оцінюючи інвазивність пухлин, встановили, що серед локально інвазивних ПК ЩЗ вірогідно частіше переважали BRAF-негативні випадки ( $p < 0,05$ ) над неінвазивними ПК (75,0 % і 37,5 % відповідно). Під час аналізу інвазивності пухлини залежно від її морфологічного варіанта виявили, що всі випадки фолікулярного варіанта ПК мали ознаки інвазії, їх вірогідно частіше визначали ( $p < 0,01$ ) порівняно з класичним та оксифільноклітинними варіантами. Мутація BRAF V600E встановлена і в пухлинах із метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли шиї (55,0 %), і в пухлинах без метастазів (37,5 %) без вірогідної різниці.

**Висновки.** Наявність мутації гена BRAF V600E – діагностичний маркер папілярної карциноми щитоподібної залози, його виявлення підтверджує наявність злоякісності. BRAF-позитивні карциноми виявили в 46,5 % спостережень. Відсутність мутації гена BRAF V600E в поєднанні з цитологічними висновками груп V і VI за Bethesda може свідчити про наявність фолікулярного варіанта ПК. Розширення кількості молекулярно-генетичних маркерів у доопераційній діагностиці раку ЩЗ може суттєво поліпшити якість діагностики та хірургічного лікування.

### Key words:

papillary thyroid, cancer, BRAF V600E mutation, surgical treatment, fine needle aspiration biopsy.

Pathologia 2020; 17 (2), 178-183

### BRAF status in cito-morphological diagnosis of thyroid nodules

Yu. M. Tarashchenko, A. Ye. Kovalenko, M. V. Ostafiichuk, K. A. Nekrasov

**The aim of study** – to determine the significance of the BRAF V600E mutation presence in the cytomorphological diagnosis of thyroid nodules.

**Materials and methods.** The study included 65 patients requiring surgical treatment for thyroid nodular pathology. Material to determine the BRAF V600E mutation was taken by means of a fine needle aspiration biopsy before surgery. The BRAF V600E mutation was detected by real-time PCR analysis.

**Results.** A pathomorphological study of the removed thyroid nodules showed that all 22 benign nodules were BRAF-negative. Among the 43 papillary thyroid cancer only 20 were BRAF-positive (46.5 %). BRAF mutations were found more often ( $P < 0.001$ ) in patients with classical and oxyphilic cell papillary thyroid cancer (60 % and 100 %, respectively) than in patients with follicular variant of PTC (6.7 %). Locally invasive tumors were more often BRAF-negative cases ( $P < 0.05$ ) than non-invasive tumors and amounted to 75.0 % and 37.5 %, respectively. But, when comparing the morphological variant and invasive properties of the tumor, it was found that all cases of the follicular variant of the PC had signs of invasion and were significantly more often observed ( $P < 0.01$ ) compared with the classical and oxyphilic cell variants. The BRAF V600E mutation was observed both in tumors with metastasis to the regional lymph nodes (55.0 %) and in tumors without metastases (37.5 %), with no significant difference.

**Conclusions.** The presence of the BRAF V600E mutation is a diagnostic marker for papillary thyroid carcinoma, and its detection confirms the presence of malignancy. BRAF positive carcinomas were in 46.5 % of cases. The combination of BRAF-negative and the cytology of groups V and VI by Bethesda may indicate about a follicular variant of PTC. An increase in the number of molecular genetic markers in the preoperative diagnosis of thyroid cancer can significantly improve the quality of diagnosis and surgical treatment.

### BRAF-статус в цитоморфологической диагностике тиреоидных узлов

Ю. Н. Тарашченко, А. Е. Коваленко, М. В. Остафийчук, К. А. Некрасов

**Цель работы** – определение значимости наличия мутации BRAF V600E в цитоморфологической диагностике тиреоидных узлов.

**Матеріали та методи.** В дослідження включено 65 пацієнтів, нуждаючись в хірургічному ліченні по поводу узлової патології щитовидної залози (ЩЗ). Матеріал для визначення мутації BRAF V600E брали путем тонкоігольної пункційної аспіраційної біопсії на доопераційному етапі. Мутацію BRAF V600E визначали путем проведення аналізу методом ПЦР в режимі реального часу.

**Результати.** Окончателіне морфологічне дослідження удалених вузлів показало відсутність BRAF-мутацій во всіх 22 доброякісних вузлах. Серед 43 папілярних карцином (ПК) BRAF-положителіними були 20 (46,5 %).

BRAF-мутації достовірно чаще ( $p < 0,001$ ) обнаружены у пацієнтів с класическим і оксифіліноклеточним варіантами папілярної карциноми (60 % і 100 % відповідно) по сравнению с фолікулярним варіантом (6,7 %). При оцінці інвазивності опухолей обнаружено, что середі локально інвазивних ПК щитовидної залози достовірно чаще преобладали BRAF-отрицательні випадки ( $p < 0,05$ ) над неінвазивними ПК (75,0 % і 37,5 % відповідно). В ході аналізу інвазивності опухолі і морфологічного варіанта установлено, что все випадки фолікулярного варіанта ПК мали ознаки інвазії, їх достовірно чаще отмечали ( $p < 0,01$ ) по сравнению с класическим і оксифіліноклеточним варіантами. Мутація BRAF V600E обнаружена і в опухоліях с метастазуванням в регіонарні лімфатическіє вузли шее (55,0 %), і в опухоліях без метастазів (37,5 %) без достовірної різниці.

**Висновки.** Наявність мутації гена BRAF V600E – діагностический маркер папілярної карциноми щитовидної залози, і її установлення підтверджує наявність злоякісності. BRAF-положителіні карциноми отмечені в 46,5 % наблюденій. Відсутність мутації гена BRAF V600E в поєднанні с цитологісеским висновком V і VI груп по Bethesda може свідечувати про наявність фолікулярного варіанта ПК. Розширення кількості молекулярно-генетических маркерів в доопераційній діагностиці раку щитовидної залози може значесно улущити якість діагностики і хірургісеского лічення.

**Ключевые слова:**

карцинома, щитовидная железа, мутация BRAF V600E, хирургическое лечение, тонкоигольная аспирационная биопсия.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 178-183

Останнім часом спостерігають збільшення кількості хворих із вузловими утвореннями щитоподібної залози (ЩЗ), які виявляють у 5–70 % населення. Актуальність проблеми диференційної діагностики вперше виявлених тиреоїдних вузлів полягає в тому, що до 13 % із них є злоякісними. Захворюваність на високодиференційований тиреоїдний рак збільшується в усьому світі, а 5-річна безрецидивна виживаність становить понад 95 % за останні 20 років [1].

Для диференційної діагностики тиреоїдних вузлів виконують тонкоігольову аспіраційну біопсію з наступним цитологічним дослідженням біоптату. Американська тиреоїдна асоціація (2015 р.) рекомендує класифікувати вперше виявлені тиреоїдні вузли та здійснювати їхню біопсію залежно від сонографічних критеріїв, що визначають ризик злоякісності [2].

Результати цитологічного дослідження вузлів стандартизовані відповідно до категорій системи Bethesda: BI – неінформативне дослідження; BII – доброякісність; BIII – атипія невизначеного значення/фолікулярна пухлина невизначеного значення; BIV – фолікулярне новоутворення/припущення про наявність фолікулярного новоутворення; BV – припущення про злоякісність; BVI – злоякісність.

Доброякісні та злоякісні діагнози Bethesda точні, під час метааналізу гістологічно оцінюваних вузлів після їх видалення рівень злоякісності становить менше ніж 4 % і 99 % відповідно. Однак цитологічний метод має певні обмеження. Невизначені результати біопсій пов'язані з відсутністю точних цитологічних критеріїв для диференційної діагностики низки доброякісних і злоякісних захворювань щитоподібної залози. Частка таких висновків доволі висока та становить в середньому 25–30 %. Від 20 % до 25 % результатів біопсій відповідають вимогам однієї з категорій BIII або BIV з діапазоном злоякісності від 5 % до 75 % [3]. Отже, неможливість на доопераційному етапі наявними методами виключити пухлинну природу тиреоїдного вузла є показанням до виконання діагностичної операції. Під час хірургічного втручання в 15–20 % невизначених результатів цитологічного дослідження

виявляють злоякісний процес [4,5]. Остаточний діагноз нині може бути встановлений тільки за результатами гістологічного дослідження.

Пошук нових методів доопераційної диференційної діагностики вузлів щитоподібної залози – одна з актуальних проблем сучасної тиреоїдології. Її розв'язання дасть змогу поліпшити діагностику карцином і зменшити кількість діагностичних операцій.

Дослідження подій молекулярного рівня посідає визначальне місце у вивченні патогенезу різних форм раку щитоподібної залози й може бути застосоване з діагностичною метою. Молекулярне тестування з'явилося як доповнення до цитологічно невизначеного дослідження, даючи змогу точніше оцінити ймовірність малигнізації та передопераційне прогнозування агресивності злоякісності [6,7].

Основою молекулярного тестування є виявлення генетичних змін, що пов'язані з онкогенезом раку щитоподібної залози. Більшість мутацій генів, пов'язаних з раком щитоподібної залози, є драйверами шляхів, які активуються мітоген-активованою протеїнкіназою (MAPK) і фосфатидилінозитол-3-кіназа-Akt (PI3K-AKT), включаючи рецептори клітинної мембрани тирозинкінази, внутрішньоклітинні сигнальні білки та ядерні рецептори, котрі кодуються генами BRAF, RAS, RET і PPAR $\gamma$ , а також регуляторні гени (PTEN і PAX8) [8].

Одним із часто досліджуваних молекулярних маркерів при раку щитоподібної залози є активувальна точкова мутація гена BRAF V600E. Мутація BRAF V600E – специфічний, найчастіше ідентифікований генетичний маркер для папілярних тиреоїдних карцином, включаючи класичний і високотітинний підтипи; її виявляють у 40–80 % випадків. Наявність мутації BRAF V600E призводить до дестабілізації в RAF-кіназному гені, що врешті спричиняє активацію MAP-кіназного шляху й підвищення мітотичної та проліферативної активності клітини. Під час дослідження гістологічного матеріалу хворих, яких прооперували з приводу раку щитоподібної залози, наявність BRAFV600E мутації визначена з частотою 38–69 % [9,10].

Таблиця 1. Визначення BRAF-статусу в доопераційних біоптатах вузлів щитоподібної залози

Тип цитологічного висновку в системі Bethesda	BRAF-статус у доопераційних біоптатах	Карцинома ЩЗ за ПГЗ
BII (доброякісний), n = 3	BRAF- n = 3 (100,0 %)	1 (33,3 %)
BIII (атипія), n = 4	BRAF+ n = 1 (25,0 %)	1 (100,0 %)
	BRAF- n = 3 (75,0 %)	0
BIV (фолікулярна неоплазія), n = 22	BRAF+ n = 1 (4,5 %)	1 (100,0 %)
	BRAF- n = 21 (95,5 %)*	6 (28,6 %)
BV (припущення про наявність карциноми), n = 7	BRAF+ n = 2 (28,6 %)	2 (100,0 %)
	BRAF- n = 5 (71,4 %)	4 (80,0 %)
BVI (карцинома), n = 29	BRAF+ n = 16 (55,2 %)	16 (100,0 %)
	BRAF- n = 13 (44,8 %)*	13 (100,0 %)

\*: вірогідність відмінностей  $p < 0,001$ .

BRAF V600E-позитивні папілярні карциноми (ПК) мають більший ризик розвитку локального рецидиву, регіонарного метастазування, нечутливості до радіоактивного йоду та несприятливого прогнозу [11,12].

Виявлення мутації BRAF 600E у передопераційних цитологічних біоптатах прогнозувало поганий клініко-патологічний результат карциноми та було предиктором метастазування в лімфатичні вузли. Передопераційне оцінювання BRAF V600E у цитологічних зразках пунктів рекомендують для стратифікації ризику, визначення хірургічної та терапевтичної тактики в пацієнтів із папілярною тиреоїдною карциномою [13].

## Мета роботи

Визначення значущості наявності мутації BRAF V600E в цитоморфологічній діагностиці тиреоїдних вузлів.

## Матеріали і методи дослідження

У дослідження залучили 65 пацієнтів, яких обстежили й прооперували у відділенні хірургії залоз внутрішньої секреції ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України» у період із 2018 до 2019 р. Середній вік пацієнтів – 48,0 ± 8,5 року; співвідношення чоловіків і жінок – 1:10. Усім пацієнтам здійснили стандартне клінічне обстеження: визначення рівня ТТГ, вільн.Т4, УЗД щитоподібної залози, тонкоголково аспіраційну біопсію вузлів із цитологічним дослідженням.

Матеріал використовували для цитологічного дослідження та для молекулярних тестів. Гістологічну діагностику й оцінювання ступеня поширення раку щитоподібної залози виконали відповідно до класифікації TNM UICC 2017 р.

Здійснили молекулярно-генетичні дослідження для виявлення в пункційному матеріалі можливих мутацій V600E гена BRAF.

**Підготовчий етап.** Матеріал, що отримали методом пункційної тонкоголкової біопсії, відразу поміщали у пробірки зі стабілізуювальним агентом «Транспортне середовище з протектором нуклеїнових кислот» («Укр-гентех», Україна). Зразки зберігали за температури -20 °С до екстракції ДНК.

**Виділення ДНК.** ДНК виділяли з матеріалу пункційної біопсії щитоподібної залози, використовуючи «Набір для виділення ДНК із магнітним сорбентом

100» («Укр-гентех», Україна) згідно з інструкцією виробника. Зразки ДНК зберігали за температури -20 °С.

**Виконання аналізу методом ПЛР у реальному часі.** Точкові мутації BRAFV600E визначали методом двобічної альельспецифічної ампліфікації з детекцією результатів у режимі реального часу («real-time» ПЛР).

Реакційна суміш містила 100 нг ДНК, по 15 пмоль кожного праймера, 5 пмоль кожної проби, 4х суміш для ПЛР без барвників для флуоресцентних проб («Укр-гентех», Україна).

Ампліфікацію виконали на приладі CFX96 real-time PCR detection system («Bio-Rad», США). Програма ампліфікації складалася з початкової денатурації (95 °С, 12 хв) і 45 циклів, що включали денатурацію (95 °С, 10 с), гібридизацію матриці з праймерами (61 °С, 10 с), елонгацію (72 °С, 40 с). Результати аналізували за допомогою програмного забезпечення приладу, який використали. Результати інтерпретували на підставі наявності (або відсутності) перетину кривої флуоресценції на використовуюваному каналі з установленою на відповідному рівні пороговою лінією, що визначає наявність (або відсутність) для цієї проби ДНК значення порогового циклу Ct (cycle threshold). Зразок вважали позитивним, якщо значення Ct на каналі FAM/Green було менше ніж 38.

Статистичне опрацювання даних під час порівняння BRAFV600E-позитивних і BRAFV600E-негативних пухлин, а також під час оцінювання частоти мутацій BRAF V600E виконали, використовуючи  $\chi^2$ -тест.

## Результати

Дослідження BRAF-статусу виконали в 65 пацієнтів з уперше виявленими тиреоїдними вузлами. Досліджували вузли з невизначеним цитологічним діагнозом (категорії BIII і BIV) та вузли категорії BV і BVI для стратифікації ризику карцином. Серед усіх цитологічних висновків кількість BRAF-позитивних випадків становила 20 (30,8 %).

У групах BIII і BIV дослідження BRAF мутацій не мало суттєвого прогностичного значення: в обох групах мутації виявлені тільки в 1 пацієнта в кожній групі (відповідно 25,0 % і 4,5 %) (табл. 1).

Остаточне морфологічне дослідження видалених вузлів показало відсутність BRAF-мутацій серед 22 доброякісних вузлів. Серед патогістологічно підтверджених 43 папілярних карцином BRAF-позитивними були 20 (46,5 %). У групі BVI, де діагноз злякості підтверджений до операції, позитивний BRAF-статус визначили в 16 спостереженнях із 28 карцином (57,1 %) (табл. 1). Кількість BRAF-позитивних випадків у групах зростала зі збільшенням імовірності діагностики карцином, починаючи з BIV, і є вірогідно більшою ( $p < 0,001$ ) у групі BVI порівняно з BIV (рис. 1).

Аналіз заключних морфологічних діагнозів показав: вузлові форми зоба, фолікулярні аденоми, пухлини невизначеного потенціалу малігнізації та неінвазивні фолікулярні пухлини були BRAF-негативними в доопераційній діагностиці.

Аналізуючи наявність генетичних мутацій залежно від підтипів папілярних карцином ЩЗ, виявили: BRAF-мутації вірогідно частіше ( $p < 0,001$ ) визначали



в пацієнтів із класичним та оксифільноклітинним варіантами папілярної карциноми (60 % і 100 % відповідно) порівняно з фолікулярним варіантом папілярної карциноми ЩЗ (6,7 %) (рис. 2).

Агресивність папілярних карцином встановлювали за наявністю ознак інвазії як макроскопічно, під час інтраопераційної ревізії пухлини, так і за наявністю патогістологічних даних про периневральну інвазію, інвазію у кровоносні та лімфатичні судини. Окремо оцінювали наявність метастазування в регіонарні лімфатичні вузли середнього та яремних колекторів шиї, що були підтверджені морфологічно. Слід відзначити, що загалом серед локально інвазивних ПК ЩЗ вірогідно частіше переважали BRAF-негативні випадки ( $p < 0,05$ ) над неінвазивними ПК і становили 75 % і 37,5 % відповідно (табл. 2).

Але, аналізуючи інвазивність пухлини залежно від її морфологічного варіанта, виявили, що всі випадки фолікулярного варіанта ПК мали ознаки інвазії, їх достовірно частіше визначали ( $p < 0,01$ ) порівняно з класичним та оксифільноклітинними варіантами (рис. 3).

Аналіз залежності частоти метастазування ПК ЩЗ у регіонарні лімфатичні вузли шиї та BRAF-статусу не показав вірогідні відмінності – 55,0 % ПК із метастазуванням та 37,5 % ПК без метастазів (табл. 2).

## Обговорення

Дослідження з виявлення мутації гена BRAF V600E на доопераційному етапі вказує на недостатньо високу чутливість ізольованого використання цього показника (46,5 %) як маркера папілярної карциноми ЩЗ у загальній групі пацієнтів, хоча і має високу (100 %) специфічність саме до цієї пухлини. Тому одним зі шляхів розв'язання проблеми є розширення молекулярно-генетичної панелі з визначенням інших генетичних мутацій гена RAS і генетичних перебудов, як-от RET/PTC1, RET/PTC3 і PAX8/PPAR $\gamma$ , що рекомендовані Американською тиреоїдною асоціацією [2].

Більша кількість BRAF-позитивних випадків у групі Bethesda III порівняно з Bethesda IV може свідчити про більший відсоток папілярних карцином у групі Bethesda III, що підтверджує попередній аналіз результатів хірургічного лікування пацієнтів із невизначеними цитологічними висновками [14] та відомості фахової літератури [15], а також про більшу кількість класичного й оксифільноклітинного варіантів папілярної карциноми у групі Bethesda III, для яких більш притаманна наявність мутації BRAF V600E. Нтім невелика кількість пацієнтів у групах зумовлює необхідність продовження досліджень у цьому напрямі.

Враховуючи вірогідну відмінність у виявленні BRAF V600E залежно від морфологічних варіантів, можна припустити: її відсутність вказує на наявність фолікулярного варіанта ПК, для якого характерне інвазивне зростання порівняно з іншими варіантами ПК. Тому під час персоналізації лікування пацієнтів у таких випадках можна віддавати перевагу радикальній терапії.

Сучасний підхід до динамічного ведення пацієнтів, оперованих із приводу ПК ЩЗ, передбачає здійснення

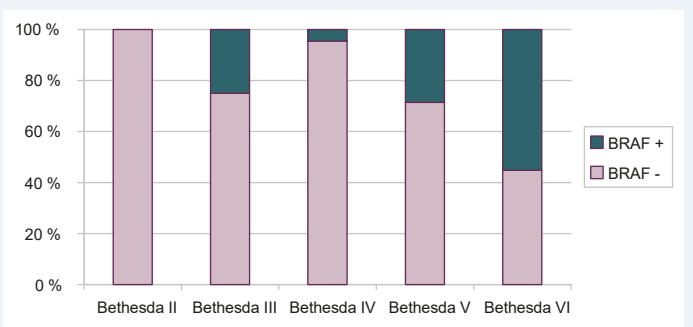


Рис. 1. Розподіл BRAF V600E позитивних випадків залежно від типу цитологічного висновку за Bethesda.

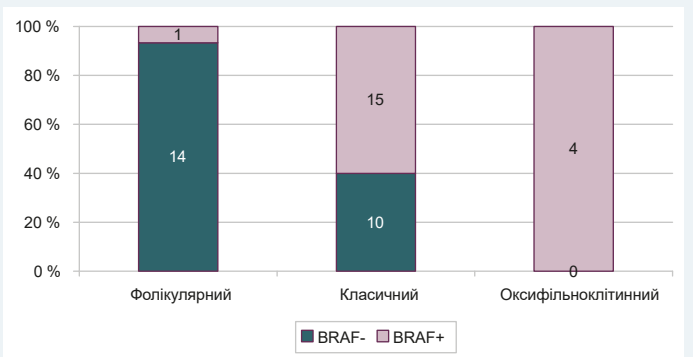


Рис. 2. Наявність BRAF-мутацій у підтипах ПК ЩЗ.



Рис. 3. Наявність BRAF мутацій у підтипах ПК ЩЗ.

Таблиця 2. Наявність локальної інвазії та метастазування папілярних карцином ЩЗ залежно від BRAF-статусу

Наявність локальної інвазії та метастазування	BRAF статус + n = 20	BRAF статус – n = 24
Неінвазивна папілярна карцинома, n = 24	n = 15 (62,5 %)	n = 9 (37,5 %)*
Локально інвазивна папілярна карцинома, n = 20	n = 5 (25 %)	n = 15 (75 %)*
Папілярна карцинома з метастазуванням, n = 20	n = 11 (55 %)	n = 9 (45 %)
Папілярна карцинома без метастазування, n = 24	n = 9 (37,5 %)	n = 15 (62,5 %)

\*: достовірність відмінностей  $p < 0,05$ .

стратифікації ризику розвитку рецидивів у відділеному післяопераційному періоді та поділ пацієнтів на групи низького, проміжного та високого ризику з відповідними лікувально-діагностичними рекомендаціями. Слід відзначити, що під час поділу на групи, крім радикальності операції, наявності метастазування та інвазивності, враховують також BRAF-статус [2], але

для аналізу потрібно суттєво розширювати вибірку пацієнтів і молекулярно-генетичну панель.

## Висновки

1. Мутація гена BRAF V600E – діагностичний маркер папілярної карциноми щитоподібної залози, його виявлення підтверджує наявність злоскісності. BRAF позитивні карциноми відзначені в 46,5 % спостережень.

2. Виявлення мутації гена BRAFV600E можна використовувати як додатковий метод доопераційної діагностики папілярної карциноми щитоподібної залози, але чітку залежність позитивного BRAF-статусу й агресивності злоскісного процесу не виявили.

3. Відсутність мутації гена BRAFV600E в поєднанні з цитологічними висновками груп V і VI за Bethesda може свідчити про наявність фолікулярного варіанта ПК.

4. Негативні за BRAF цитологічно невизначені вузли щитоподібної залози (III та IV групи за Bethesda) повністю не виключають злоскісність, і таким пацієнтам може бути рекомендоване хірургічне лікування чи ретельне спостереження.

5. Розширення кількості молекулярно-генетичних маркерів у доопераційній діагностиці раку ЩЗ і розроблення специфічної генетичної панелі може істотно поліпшити якість діагностики, а отже й хірургічного лікування.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у розширенні вибірки пацієнтів, а також визначенні ролі інших молекулярно-генетичних маркерів у пухлинах щитоподібної залози для поліпшення доопераційної діагностики раку ЩЗ, індивідуалізації терапевтичної тактики, стратифікації та ведення пацієнтів у віддаленому післяопераційному періоді. Одним з очікуваних і бажаних результатів досліджень може бути створення молекулярно-генетичної панелі ранньої діагностики раку щитоподібної залози.

## Фінансування

Робота є фрагментом НДР ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України»: «Оптимізація діагностики, хірургічного лікування та прогнозування перебігу пухлин щитоподібної залози, інцидентом надниркових залоз та паратиреоїдних аденом», № державної реєстрації 0120U100647.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 10.03.2020

Після доопрацювання / Revised: 20.03.2020

Прийнято до друку / Accepted: 15.05.2020

## Відомості про авторів:

Тарашенко Ю. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу хірургії ендокринних залоз, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.  
ORCID ID: [0000-0003-4787-359X](https://orcid.org/0000-0003-4787-359X)

Коваленко А. Є., д-р мед. наук, професор, керівник відділу хірургії ендокринних залоз, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-0326-6421](https://orcid.org/0000-0003-0326-6421)

Остафійчук М. В., молодший науковий співробітник відділу хірургії ендокринних залоз, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-0446-051X](https://orcid.org/0000-0002-0446-051X)

Некрасов К. А., аспірант відділу молекулярної онкогенетики, Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, м. Київ.  
ORCID ID: [0000-0002-2441-2304](https://orcid.org/0000-0002-2441-2304)

## Information about authors:

Tarashchenko Yu. M., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Endocrine Glands Surgery, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Kovalenko A. Ye., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Endocrine Glands Surgery, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Ostafiiichuk M. V., Junior Researcher of the Department of Endocrine Glands Surgery, SI "V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Nekrasov K. A., Postgraduate Student of the Department of Molecular Oncogenetics, Institute of Molecular Biology and Genetics of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.

## Сведения об авторах:

Тарашенко Ю. Н., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела хирургии эндокринных желез, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Коваленко А. Е., д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела хирургии эндокринных желез, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Остафийчук М. В., младший научный сотрудник отдела хирургии эндокринных желез, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.  
Некрасов К. А., аспирант отдела молекулярной онкогенетики, Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г. Киев.

## Список літератури


- [1] Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, Featuring Cancer in Men and Women Age 20-49 Years / E. M. Ward, R. L. Sherman, S. J. Henley et al. *Journal of the National Cancer Institute*. 2019. Vol. 111, Iss. 12. P. 1279-1297. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz106>
- [2] American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer / B. R. Haugen, E. K. Alexander, K. C. Bible et al. *Thyroid*. 2016. Vol. 26, Iss. 12. P. 1-133. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>
- [3] Cibas E. S., Ali S. Z. The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. NCI Thyroid FNA State of the Science Conference. *American Journal of Clinical Pathology*. 2009. Vol. 132, Iss. 5. P. 658-665. <https://doi.org/10.1309/AJCPHLM3JV4LA>
- [4] Value of BRAF V600E in high-risk thyroid nodules with benign cytology results / X. Chen, Q. Zhou, F. Wang et al. *American Journal of Neuroradiology*. 2018. Vol. 39, Iss. 12. P. 2360-2365. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A5898>
- [5] BRAFV600E mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: A systematic review and meta-analysis / M. Jinih, N. Foley, O. Osho et al. *European Journal of Surgical Oncology*. 2017. Vol. 43, Iss. 7. P. 1219-1227. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2016.11.003>
- [6] Nikiforov Y. E. Role of molecular markers in thyroid nodule management: then and now. *Endocrine Practice*. 2017. Vol. 23, Iss. 8. P. 979-988. <https://doi.org/10.4158/ep171805.ra>
- [7] Molecular markers for the classification of cytologically indeterminate thyroid nodules / M. Muzza, C. Colombo, G. Pogliaghi et al. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2019. Vol. 43. P. 703-716 <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01164-w>

- [8] European Thyroid Association Guidelines regarding Thyroid Nodule Molecular Fine-Needle Aspiration Cytology Diagnostics / R. Paschke, S. Cantara, A. Crescenzi et al. *European Thyroid Journal*. 2017. Vol. 6, Iss. 3. P. 115-129. <https://doi.org/10.1159/000468519>
- [9] Molecular testing in the diagnosis of differentiated thyroid carcinomas / S. M. Ferrari, P. Fallahi, I. Ruffilli et al. *Gland Surgery*. 2018. Vol. 7, Iss. 1. P. S19-S29. <https://doi.org/10.21037/ggs.2017.11.07>
- [10] Pusztaszeri M. P., Krane J. F., Faquin W. C. BRAF testing and thyroid FNA *Cancer Cytopathology*. 2015. Vol. 123, Iss. 12. P. 689-695. <https://doi.org/10.1002/cncy.21614>
- [11] The utility of the Bethesda category and its association with BRAF mutation in the prediction of papillary thyroid cancer stage / A. Beiša, M. Kvietkauskas, V. Beiša et al. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2017. Vol. 402, Iss. 2. P. 227-234. <https://doi.org/10.1007/s00423-017-1560-2>
- [12] Highly Concordant Key Genetic Alterations in Primary Tumors and Matched Distant Metastases in Differentiated Thyroid Cancer / S. Y. Sohn, W. Y. Park, H. T. Shin et al. *Thyroid*. 2016. Vol. 26, Iss. 5. P. 672-682. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0527>
- [13] BRAF<sup>V600E</sup> mutation analysis in fine-needle aspiration cytology specimens for diagnosis of thyroid nodules: The influence of false-positive and false-negative results / C. K. Zhao, J. Y. Zheng, L. P. Sun et al. *Cancer Medicine*. 2019. Vol. 8, Iss. 12. P. 5577-5589. <https://doi.org/10.1002/cam4.2478>
- [14] Хірургічне лікування тиреоїдних вузлів невизначеної цитологічної структури / Ю. М. Тарашченко, А. Є. Коваленко, М. В. Остафійчук та ін. *Клінічна хірургія*. 2019. Т. 86, № 5. С. 59-63. <https://doi.org/10.26779/2522-1396.2019.05.59>
- [15] Prospective Study of Bethesda Categories III and IV Thyroid Nodules: Outcomes and Predictive Value of BRAF<sup>V600E</sup> Mutation / S. R. Chirayath, P. Pavithran, N. Abraham et al. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2019. Vol. 23, Iss. 3. P. 278-281. <https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM-635-18>

## References

- [1] Ward, E. M., Sherman, R. L., Henley, S. J., Jemal, A., Siegel, D. A., Feuer, E. J., Firth, A. U., Kohler, B. A., Scott, S., Ma, J., Anderson, R. N., Benard, V., & Cronin, K. A. (2019). Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, Featuring Cancer in Men and Women Age 20-49 Years. *Journal of the National Cancer Institute*, 111(12), 1279-1297. <https://doi.org/10.1093/nci/djz106>
- [2] Haugen, B. R., Alexander, E. K., Bible, K. C., Doherty, G. M., Mandel, S. J., Nikiforov, Y. E., Pacini, F., Randolph, G. W., Sawka, A. M., Schlumberger, M., Schuff, K. G., Sherman, S. I., Sosa, J. A., Steward, D. L., Tuttle, R. M., & Wartofsky, L. (2016). 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*, 26(1), 1-133. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>
- [3] Cibas, E. S., & Ali, S. Z. (2009). The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology. *American Journal of Clinical Pathology*, 132(5), 658-665. <https://doi.org/10.1309/AJCPPLWMI3JV4LA>
- [4] Chen, X., Zhou, Q., Wang, F., Zhang, F., Du, H., Zhang, Q., Wu, W., & Gong, X. (2018). Value of BRAF V600E in high-risk thyroid nodules with benign cytology results. *American Journal of Neuroradiology*, 39(12), 2360-2365. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A5898>
- [5] Jinih, M., Foley, N., Osho, O., Houlihan, L., Toor, A. A., Khan, J. Z., Achakzai, A. A., & Redmond, H. P. (2017). BRAFV600E mutation as a predictor of thyroid malignancy in indeterminate nodules: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology*, 43(7), 1219-1227. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2016.11.003>
- [6] Nikiforov Y. E. (2017). Role of molecular markers in thyroid nodule management: then and now. *Endocrine Practice*, 23(8), 979-988. <https://doi.org/10.4158/ep171805.ra>
- [7] Muzza, M., Colombo, C., Pogliaghi, G., Karapanou, O., & Fugazzola, L. (2020). Molecular markers for the classification of cytologically indeterminate thyroid nodules. *Journal of Endocrinological Investigation*, 43, 703-716 (2020). <https://doi.org/10.1007/s40618-019-01164-w>
- [8] Paschke, R., Cantara, S., Crescenzi, A., Jarzab, B., Musholt, T. J., & Sobrinho Simoes, M. (2017). European Thyroid Association Guidelines regarding Thyroid Nodule Molecular Fine-Needle Aspiration Cytology Diagnostics. *European Thyroid Journal*, 6(3), 115-129. <https://doi.org/10.1159/000468519>
- [9] Ferrari, S. M., Fallahi, P., Ruffilli, I., Elia, G., Ragusa, F., Paparo, S. R., Baldini, E., Giannini, R., Miccoli, P., Antonelli, A., & Basolo, F. (2018). Molecular testing in the diagnosis of differentiated thyroid carcinomas. *Gland Surgery*, 7(1), S19-S29. <https://doi.org/10.21037/ggs.2017.11.07>
- [10] Pusztaszeri, M. P., Krane, J. F., & Faquin, W. C. (2015). BRAF testing and thyroid FNA. *Cancer Cytopathology*, 123(12), 689-695. <https://doi.org/10.1002/cncy.21614>
- [11] Beiša, A., Kvietkauskas, M., Beiša, V., Stoškus, M., Ostanevičiūtė, E., Jasiūnas, E., Griškevičius, L., & Strupas, K. (2017). The utility of

# Інтерлейкіновий і простагландиновий статус хворих на оперізувальний лишай залежно від ступеня важкості захворювання

О. М. Новицький \*<sup>1,2,A,B,C</sup>, І. С. Гайдаш <sup>1,D,E,F</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна, <sup>2</sup>КНП «Кремінська багатопрофільна лікарня», Україна

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

**Ключові слова:** оперізувальний лишай, запалення, інтерлейкіни, простагландини, матриксні металопротеїнази.

**Патологія.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 184-190

\*E-mail: [doktornov@gmail.com](mailto:doktornov@gmail.com)

**Мета роботи** – вивчити інтерлейкіновий і простагландиновий статус хворих на оперізувальний лишай залежно від ступеня важкості захворювання.

**Матеріали та методи.** Досліджували кров 27 хворих на оперізувальний лишай (ОЛ) віком від 52 до 69 років; 11 (40,7 %) жінок, 16 (59,3 %) чоловіків. Легкий перебіг ОЛ визначили у 7 (25,9 %) пацієнтів, середньотяжкий – у 12 (44,4 %), тяжкий – у 8 (29,6 %) хворих. Контрольна група – 12 практично здорових осіб (7 чоловіків і 5 жінок віком 50–67 років), які раніше на ОЛ не хворіли, але в дитинстві хворіли на вітряну віспу.

Кількісний вміст інтерлейкінів (IL), фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), простагландинів (PG), тромбоксану (TXB2) і матриксної металопротеїнази-8 (MMP-8) у сироватці крові визначили твердофазним імуноферментним методом. Статистичне опрацювання результатів дослідження виконали, використовуючи критерій Манна–Уїтні та програму Statistica v. 10.0.

**Результати.** Клінічна маніфестація ОЛ супроводжується збільшенням у сироватці крові хворих концентрацій цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ ), простаноїдів (PGE2, PGF2 $\alpha$ , 6KPGF1 $\alpha$ , TXB2) і матриксної протеїнази-8 (MMP-8). Ступінь зміни інтерлейкінового та простагландинового статусу залежить від ступеня тяжкості ОЛ, найменшим є в разі легкого перебігу ОЛ, найбільшим – при важкому перебігу. В інтерлейкіновому статусі хворих на ОЛ ступені збільшення концентрацій прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) переважають над ступенями збільшення цитокінів із протизапальними властивостями (IL-2, IL-4, IL-10). У гострому періоді ОЛ у простагландиновому статусі хворих спостерігали дисбаланс у системах PGE2/PGF2 $\alpha$  і 6KPGF1 $\alpha$ /TXB2 з переважанням сироваткових концентрацій PGE2 над PGF2 $\alpha$ , TXB2 над 6KPGF1 $\alpha$ .

**Висновки.** Ступінь порушення інтерлейкінового та простагландинового статусу хворих на оперізувальний лишай прогресивно збільшується зі зростанням ступеня важкості хвороби.

**Key words:** shingles, inflammation, interleukins, prostaglandins, matrix metalloproteinases.

**Pathologia** 2020; 17 (2), 184-190

## Interleukin and prostaglandin status of patients with shingles depending on the severity of the disease

O. M. Novytskyi, I. S. Haidash

**Aim.** The aim of the work is to study the interleukin and prostaglandin status of patients with shingles depending on the severity of the disease.

**Materials and methods.** We examined the blood of 27 patients with shingles, aged from 52 to 69 years, with 11 women (40.7 %) and 16 men (59.3 %) among them. Mild shingles was observed in 7 patients (25.9 %), moderate shingles was observed in 12 patients (44.4 %) and severe shingles was observed in 8 patients (29.6 %). The control group consisted of 12 practically healthy people (7 men and 5 women aged from 50 to 67 years old), who had not been ill with shingles before, but had suffered from chickenpox in childhood.

Determination of the quantitative content of interleukins (IL), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), prostaglandins (PG), thromboxane (TXB2) and matrix metalloproteinase-8 (MMR-8) in blood serum was performed using a solid-phase enzyme immunoassay. Statistical processing of the study results was performed using the Mann–Whitney test and the program Statistica v. 10.0.

**Results.** Clinical manifestation of shingles is accompanied by the increase of concentrations of cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ ), prostanoids (PGE2, PGF2 $\alpha$ , 6KPGF1 $\alpha$ , TXB2) and matrix proteinase-8 (MMR-8) in blood serum. The degree of change in interleukin and prostaglandin status depends on the severity of shingles, and it is the lowest in its mild course, and the highest in its severe course. In interleukin status of patients with shingles the degree of increased concentrations of proinflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) prevails over the degrees of increasing of cytokines with anti-inflammatory properties (IL-2, IL-4, IL-10). In the acute period of shingles in prostaglandin status of patients, there is an imbalance in the PGE2/PGF2 $\alpha$  and 6KPGF1 $\alpha$ /TXB2 systems with a predominance of concentrations of PGE2 over PGF2 $\alpha$ , and TXB2 over 6KPGF1 $\alpha$  in the blood serum.

**Conclusions.** The degree of violation of the interleukin and prostaglandin status of patients with shingles progressively increases as the severity of the disease increases.

## Интерлейкиновый и простагландиновый статус больных опоясывающим лишаем в зависимости от степени тяжести заболевания

А. Н. Новицкий, И. С. Гайдаш

**Цель работы** – изучить интерлейкиновый и простагландиновый статус больных опоясывающим лишаем в зависимости от степени тяжести заболевания.

**Материалы и методы.** Исследовали кровь 27 больных опоясывающим лишаем (ОЛ) в возрасте от 52 до 69 лет, 11 (40,7 %) женщин, 16 (59,3 %) мужчин. Лёгкое течение ОЛ отмечено у 7 (25,9 %) пациентов, среднетяжёлое – у 12 (44,4 %), тяжёлое течение – у 8 (29,6 %) больных. Контрольную группу составили 12 практически здоровых человек (7 мужчин и 5 женщин в возрасте 50–67 лет), не болевших ранее опоясывающим лишаем, но в детстве перенесших ветряную оспу. Количественное содержание интерлейкинов (IL), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), простагландинов (PG), тромбоспандина (ТХВ2) и матриксной металлопротеиназы-8 (ММР-8) в сыворотке крови определено твердофазным иммуноферментным методом. Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием критерия Манна–Уитни и программы Statistica v. 10.0.

**Результаты.** Клиническая манифестация ОЛ сопровождается увеличением в сыворотке крови больных концентраций цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ ), простагландинов (PGE2, PGF2 $\alpha$ , 6KPGF1 $\alpha$ , ТХВ2) и матриксной протеиназы-8 (ММР-8). Степень изменения интерлейкинового и простагландинового статуса зависит от степени тяжести ОЛ, наименьшая – при его лёгком течении, наибольшая – при тяжёлом. В интерлейкиновом статусе больных ОЛ степени увеличения концентраций провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) преобладают над степенями увеличения цитокинов с противовоспалительными свойствами (IL-2, IL-4, IL-10). В остром периоде ОЛ в простагландиновом статусе больных отмечен дисбаланс в системах PGE2/PGF2 $\alpha$  и 6KPGF1 $\alpha$ /ТХВ2 с преобладанием сывороточных концентраций PGE2 над PGF2 $\alpha$ , ТХВ2 над 6KPGF1 $\alpha$ .

**Выводы.** Степень нарушения интерлейкинового и простагландинового статуса больных опоясывающим лишаем прогрессивно увеличивается по мере возрастания степени тяжести заболевания.

**Ключевые слова:** опоясывающий лишай, воспаление, интерлейкины, простагландины, матриксные металлопротеиназы.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 184-190

Оперізувальний лишай (ОЛ) – рецидивна форма латентної нейротропної ДНК-альфагерпесвірусної інфекції, збудником якої є вірус *Varicella zoster* (VZV), що локалізується після первинної інфекції (вітряна віспа) в гангліях черепних нервів, гангліях спинного мозку і вегетативних гангліях [1,2]. Активація VZV відбувається у випадку ослаблення специфічного імунітету, що спостерігають у літніх людей на тлі інволюції імунної системи, або у зв'язку з розвитком вторинного імунодефіцитного стану в осіб молодого та зрілого віку [3,4].

Реактивація VZV і розвиток клінічно-маніфестного перебігу оперізувального герпесу супроводжуються запальною реакцією, що виявляється однобічними корінцевими болями та везикулярним висипом у пошкодженій ділянці [5]. Частим ускладненням ОЛ є пост-герпетична невралгія, що характеризується тривалим гострим болем після зникнення шкірної екзантеми [6]. Додатковим ускладненням ОЛ може бути інфікування артерій головного мозку, яке внаслідок патологічного судинного ремоделювання може спричинити інсульт [7]. Безсумнівно, розвиток цих ускладнень при ОЛ пов'язаний зі ступенем вираженості запальної реакції організму.

Важливою складовою запалення під час ОЛ є активація перекисного окислення ліпідів при недостатності системи антиоксидантного захисту [8]. Ключові медіатори запалення – прозапальні цитокіни-інтерлейкіни (IL), фактор некрозу пухлин (TNF $\alpha$ ), простагландини (PG), що зумовлюють міграцію імунокомпетентних клітин в осередок ураження, впливають на тонус судин мікроциркуляторного русла та реологічні властивості крові [9,10]. Важливу роль у запаленні відіграють матриксні металопротейнази (ММР), що викликають деструкцію позаклітинного матриксу [11].

Знання про вираженість порушень інтерлейкинового та простагландинового статусів у хворих на ОЛ

із різними ступенями важкості важливе не тільки для розуміння особливостей патогенезу клінічних варіантів хвороби, але й має суттєве практичне значення для визначення тактики використання лікувальних засобів під час лікування ОЛ різних ступенів тяжкості.

### Мета роботи

Вивчити інтерлейкиновий і простагландиновий статус хворих на оперізувальний лишай залежно від ступеня важкості захворювання.

### Матеріали і методи дослідження

Обстежили 27 пацієнтів з ОЛ віком від 52 до 69 років (середній вік – 61,5  $\pm$  3,1 року), 11 (40,7 %) жінок, 16 (59,3 %) чоловіків. Хворі перебували на стаціонарному лікуванні в неврологічному відділенні Кременської багатопрофільної лікарні Луганської області (Україна). Діагноз ОЛ встановлювали на підставі анамнезу, клінічних даних (однобічні везикулярні висипання на шкірі в ділянках іннервації відповідними нервами, що супроводжуються вираженим больовим синдромом) і індикації ДНК *Varicella zoster* методом полімеразної ланцюгової реакції.

Легкий перебіг ОЛ визначили в 7 (25,9 %) пацієнтів, середньоважкий – у 12 (44,4 %), важкий – у 8 (29,6 %) осіб.

Легкий перебіг ОЛ характеризувався підвищенням температури тіла до 37,5–38,5 °С протягом 2–3 діб. Симптоми інтоксикації відсутні або виражені незначно. Висипання нечисленні, зникали безслідно [12]. При середньоважкому перебігу ОЛ температура тіла підвищувалася до 38,6–39,5 °С протягом 3–5 діб. Симптоми інтоксикації виражені помірно. Висипання ясні, наявні на слизових оболонках,

після їх зникнення могла залишатися короткочасна пігментація [12]. Важкий перебіг ОЛ характеризувався лихоманкою понад 39,6 °С протягом 7–10 днів, можливий розвиток менінгоенцефалітичних реакцій. Висипання рясні, великі, «застиглі» в одній стадії розвитку, були і на шкірі, і на слизових оболонках (верхніх дихальних шляхів і сечостатевого тракту). Після зникнення висипу поряд із пігментацією можуть залишатися рубчики [12].

Вік пацієнтів із легким перебігом ОЛ коливався від 55 до 61 року, захворювання перебігало без ускладнень, маніфестацію супутньої патології не зареєстрували. Пацієнти із середньоважким перебігом ОЛ – віком 58–64 років, з-поміж супутніх патологій зареєстрували гіпертонічну хворобу (4 особи), холецистит (3 особи); у 3 пацієнтів ускладненням ОЛ було вторинне піококове інфікування шкіри в місцях везикулярних висипів. Пацієнти з тяжким перебігом ОЛ – віком 65–69 років; 5 осіб мали компенсований цукровий діабет 2 типу, у 2 хворих діагностована виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки; з-поміж ускладнень ОЛ у цій групі пацієнтів зареєстрували піококове інфікування шкіри в місцях везикулярних висипів (2 особи), постгерпетичну невралгію (1 особа), ураження вегетативної нервової системи – сухість шкіри в місці висипу (1 особа).

Із 27 хворих на ОЛ ніхто не отримувал імуносупресивну терапію. У всіх обстежених пацієнтів негативні результати дослідження на маркери ВІЛ-інфекції.

Герпетична екзантема в ділянках іннервації міжреберних нервів визначена у 13 пацієнтів (48,1 %), в ділянці плечового сплетення – у 5 (18,5 %), ураження в ділянці поперекового сплетення – у 6 (22,2 %) хворих, у проекції лицьового і трійчастого нервів – у 3 (11,1 %). Еритематозне ураження шкіри виявили в 4 (14,8 %) пацієнтів, ерозивне – в 10 (37,0 %), ерозивно-виразкове – у 13 (48,1 %).

Контрольна група – 12 практично здорових осіб (7 чоловіків і 5 жінок віком 50–67 років, середній вік – 58,5 ± 2,9 року), які раніше не хворіли на ОЛ, але в дитинстві хворіли на вітряну віспу.

Усі обстежені підписали інформаційну угоду про добровільну участь у дослідженні після детального роз'яснення його мети.

Матеріал для лабораторного дослідження – сироватка венозної крові, яку брали з вени осіб контрольної групи та хворих на ОЛ одноразово вранці натще. Сироватку крові до виконання лабораторного дослідження зберігали у криостаті за температури -20 °С.

Кількісний вміст інтерлейкінів, простагландинів і матриксної металопротеїнази-8 у сироватці крові визначали твердофазним імунферментним методом на автоматичному імунферментному комплексі «GBG Star Fax 2100» виробництва фірми «Awareness Technology Inc.» (USA). Концентрації IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 і TNFα, відповідно до інструкцій виробника, вимірювали за допомогою стандартних тест-систем виробництва ООО «Цитокін» (РФ), концентрації PGE2, PGF2α, 6KPGF1α, TXB2 – за допомогою тест-систем фірми LifeSpan BioSciences Inc. (USA), концентрації MMP-8 – за допомогою тест-системи Human MMP-8 (total) (R&D Diagnostics Inc., USA). Концентрації всіх

цитокінів розраховували за стандартними кривими для кожної зі сполук, які отримані з використанням різних концентрацій стандартів. Дослідження інтерлейкінів, простагландинів і матриксної металопротеїнази-8 виконували на 1–2 день перебування у стаціонарі, від моменту виникнення перших симптомів хвороби – 3–5 днів. Дослідження виконали в імунферментній лабораторії кафедри неврології, психіатрії та наркології ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконали параметричними методами з використанням програми Statistica v. 10.0 (StatSoft Inc., USA), ліцензійний № STA999K347156-W. Дані наведені як медіана (Me) та квартильний розмах (Q25–Q75). Вірогідність відмінностей визначали, використовуючи критерій U Манна-Уїтні для незалежних вибірок. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ . Кореляційно-регресивний аналіз виконали за коефіцієнтом Пірсона ( $r$ ).

## Результати

У гострому періоді ОЛ у групі обстежених визначили збільшення в сироватці крові концентрацій усіх досліджуваних цитокінів: інтерлейкінів, простагландинів, фактора некрозу пухлин, матриксної металопротеїнази-8, – але ступінь змін концентрацій цих цитокінів був різним залежно від класу (*табл. 1*).

У загальній групі хворих на ОЛ концентрація IL-1β у гострому періоді хвороби збільшена щодо контролю у 8,2 раза, IL-2 – у 2,25 раза, IL-4 – в 1,34 раза, IL-6 – у 4,5 раза, IL-8 – у 4,4 раза, IL-10 – у 2,0 раза, TNFα – в 6,1 раза, MMP-8 – в 1,66 раза. Ступені збільшення концентрацій прозапальних інтерлейкінів (IL-1β, IL-6, IL-8) і TNF-α істотно перевищували ступені збільшення концентрацій протизапальних інтерлейкінів (IL-4, IL-10).

Реакція простагландинової системи в гострому періоді ОЛ характеризувалася зростанням концентрації PGE2 в 4,8 раза щодо контролю, концентрація PGF2α збільшилася у 2,6 раза. Зважаючи на це, співвідношення PGE2/PGF2α збільшувалося в 1,81 раза щодо контрольного показника; це свідчило про переважання прозапального PGE2 над його фізіологічним антагоністом PGF2α. У групі контролю концентрація PGF2α в сироватці крові перевищувала таку для PGE2 в 1,3 раза.

У системі простагландинів/тромбоксану у хворих на ОЛ у гострому періоді хвороби концентрації стабільних метаболітів простагландину (6KPGF1α) і тромбоксану (TXB2) збільшилися щодо контрольних показників в 1,78 і у 2,58 раза відповідно. Співвідношення 6KPGF1α/TXB2 зменшилося в 1,37 раза проти аналогічного показника в контролі; це свідчило про переважання TXB2 в гострому періоді ОЛ над його фізіологічним антагоністом 6KPGF1α.

Ступені змін інтерлейкінового та простагландинового статусів у хворих на ОЛ залежали від ступеня важкості захворювання, найменші зміни визначили у випадку легкого перебігу ОЛ, помірні – середньоважкого, найбільші зміни – у випадку важкого перебігу ОЛ (*табл. 2*).

У випадку легкого перебігу ОЛ концентрація IL-1 $\beta$  у сироватці крові збільшувалася в 3,3 раза, цей показник у контролі, при середньоважкому і важкому перебігу – 8,76 і 12,54 раза відповідно. Порівнюючи ступені зростання концентрацій щодо показників групи контролю і пацієнтів з більшими ступенями важкості ОЛ, визначили: для IL-2 – в 1,44, 2,19 і 3,13 раза; для IL-4 – 1,11, 1,34 і 1,57 раза; для IL-6 – 2,21, 4,12 і 7,11 раза; для IL-8 – 2,22, 4,40 і 6,65 раза; для IL-10 – 1,31, 1,96 і 2,72 раза; для TNF $\alpha$  – 3,62, 5,19 і 9,42 раза відповідно.

Подібну спрямованість фіксували й щодо концентрацій простагландинів. При легкому перебігу концентрації PGE2 і PGF2 $\alpha$  були збільшені щодо відповідних показників у контролі у 2,76 і 1,84 раза відповідно; співвідношення PGE2/PGF2 $\alpha$  збільшилося в 1,51 раза. При середньоважкому перебігу ОЛ збільшення концентрацій PGE2 і PGF2 $\alpha$ , а також співвідношення PGE2/PGF2 $\alpha$  становили 5,24, 2,84 і 1,84 раза відповідно; а при важкому перебігу ці зміни – на рівні 6,46, 3,14 і 2,05 раза відповідно.

Ступінь важкості ОЛ впливав на стан системи простагландинів/тромбоксан. Під час легкого перебігу ОЛ збільшення в сироватці крові рівня стабільного метаболіту простагландину 6KPGF1 $\alpha$  дорівнювало 1,28 раза, а стабільного метаболіту тромбоксану TXB2 – 1,48 раза; співвідношення 6KPGF1 $\alpha$ /TXB2 зменшилося в 1,15 раза. При середньоважкому перебігу ОЛ зміни показників 6KPGF1 $\alpha$ , TXB2 і 6KPGF1 $\alpha$ /TXB2 становили 1,77, 2,49 і 1,40 раза відповідно; при важкому перебігу – 2,29, 3,77 і 1,64 раза.

Концентрація MMP-8 у сироватці крові у хворих на ОЛ легкого перебігу збільшена щодо контрольного показника в 1,22 раза, у разі середньоважкого перебігу – в 1,62, важкого – у 2,14 раза.

Здійснили кореляційний аналіз параметрів інтерлейкінового та простагландинового статусу, а також кореляційний аналіз параметрів, які вивчали, та показників традиційного лабораторного обстеження пацієнтів.

Зв'язок між показниками більшості інтерлейкінів і простагландинів був прямим і високим. Так, коефіцієнт кореляції Пірсона під час порівняння концентрацій IL-1 $\beta$  і PGE2 становив 0,966, між IL-1 $\beta$  і PGF2 $\alpha$  – 0,929, між IL-1 $\beta$  і 6KPGF1 $\alpha$  – 0,943, між IL-1 $\beta$  і TXB2 – 0,961, між IL-1 $\beta$  і MMP-8 – 0,971, між IL-6 і PGE2 – 0,952, між IL-6 і PGF2 $\alpha$  – 0,970, між IL-6 і 6KPGF1 $\alpha$  – 0,970, між IL-6 і TXB2 – 0,965, між IL-6 і MMP-8 – 0,943, між кількістю лейкоцитів у крові та концентраціями IL-1 $\beta$ , IL-6 і PGE2 – 0,749, 0,693 і 0,721 відповідно.

## Обговорення

Результати свідчать, що в гострому періоді ОЛ показники інтерлейкінового та простагландинового статусів збільшуються, а зміни інтерлейкінового та простагландинового статусів, а також вмісту в сироватці крові MMP-8 у хворих на ОЛ відповідають ступеням важкості хвороби. Зміни кількісного вмісту цитокінів прогресивно зростають зі збільшенням ступеня важкості захворювання. Найбільші зміни інтерлейкінового та простагландинового статусів відбуваються в пацієнтів із важким перебігом ОЛ.

**Таблиця 1.** Вміст цитокінів у сироватці крові в загальній групі хворих на оперізувальний лишай у гострому періоді хвороби, Ме (Q25–Q75)

Показники, одиниці вимірювання	Контроль (n = 12)	Хворі на ОЛ (n = 27)	p
IL-1 $\beta$ , пг/мл	4,5 (4,025–5,025)	38,4 (20,6–55,5)	<0,05
IL-2, пг/мл	6,55 (5,2–6,8)	13,3 (10,4–17,2)	<0,05
IL-4, пг/мл	3,4 (3,02–3,80)	4,6 (3,95–5,45)	<0,05
IL-6, пг/мл	5,1 (4,15–5,80)	21,0 (14,6–27,9)	<0,05
IL-8, пг/мл	6,75 (5,9–8,9)	31,4 (19,5–43,1)	<0,05
IL-10, пг/мл	9,75 (8,7–10,9)	18,9 (15,6–22,2)	<0,05
TNF $\alpha$ , пг/мл	2,65 (2,1–3,0)	14,0 (10,10–20,25)	<0,05
PGE2, пг/мл	9,3 (8,2–10,5)	47,2 (32,9–57,4)	<0,05
PGF2 $\alpha$ , пг/мл	11,9 (11,35–12,80)	32,1 (26,80–40,15)	<0,05
PGE2/PGF2 $\alpha$ (у.од.)	0,76 (0,75–0,80)	1,4 (1,2–1,5)	<0,05
6KPGF1 $\alpha$ , пг/мл	15,1 (14,0–16,0)	25,9 (23,2–29,0)	<0,05
TXB2, пг/мл	12,35 (11,1–13,8)	31,0 (21,8–40,4)	<0,05
6KPGF1 $\alpha$ /TXB2, (у.од.)	1,2 (1,1–1,2)	0,8 (0,7–0,9)	<0,05
MMP-8, нг/мл	16,4 (15,3–17,7)	26,4 (21,8–32,3)	<0,05

Значення p розраховували щодо контролю.

**Таблиця 2.** Вміст цитокінів у сироватці крові хворих на оперізувальний лишай у гострому періоді хвороби залежно від ступеня важкості хвороби, Ме (Q25–Q75)

Показники, одиниці вимірювання	Контроль (n = 12)	Легкий перебіг (n = 7)	Середньоважкий перебіг (n = 12)	Важкий перебіг (n = 8)
IL-1 $\beta$ , пг/мл	4,5 (4,025–5,025)	15,4 (12,5–17,6) p < 0,05	39,45 (34,2–45,6) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	59,9 (52,8–66,9) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
IL-2, пг/мл	6,55 (5,2–6,8)	10,1 (8,6–12,6) p < 0,05	13,7 (11,7–15,6) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	18,6 (17,3–20,6) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
IL-4, пг/мл	3,4 (3,02–3,80)	3,9 (3,4–4,3) p < 0,05	4,55 (3,95–5,55) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	5,3 (4,8–6,1) p < 0,05 p <sub>2</sub> > 0,05
IL-6, пг/мл	5,1 (4,15–5,80)	10,8 (9,8–12,7) p < 0,05	21,0 (18,6–24,4) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	34,2 (29,3–41,2) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
IL-8, пг/мл	6,75 (5,9–8,9)	16,1 (14,3–18,1) p < 0,05	33,8 (25,7–40,7) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	47,2 (40,0–55,6) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
IL-10, пг/мл	9,75 (8,7–10,9)	12,6 (10,7–14,5) p < 0,05	18,8 (16,9–20,5) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	26,3 (21,3–32,9) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
TNF $\alpha$ , пг/мл	2,65 (2,1–3,0)	9,2 (8,30–10,25) p < 0,05	13,9 (10,4–14,6) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	23,4 (20,6–25,8) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
PGE2, пг/мл	9,3 (8,2–10,5)	26,0 (22,90–29,05) p < 0,05	49,1 (45,5–53,7) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	60,7 (53,2–70,6) p < 0,05 p <sub>2</sub> > 0,05
PGF2 $\alpha$ , пг/мл	11,9 (11,35–12,8)	22,4 (18,35–24,25) p < 0,05	34,05 (29,1–40,0) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	37,3 (32,7–42,9) p < 0,05 p <sub>2</sub> > 0,05
PGE2/PGF2 $\alpha$ (у.од.)	0,76 (0,75–0,80)	1,18 (1,11–1,22) p < 0,05	1,4 (1,36–1,50) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	1,59 (1,49–1,70) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
6KPGF1 $\alpha$ , пг/мл	15,1 (14,0–16,0)	19,0 (16,4–22,3) p > 0,05	26,4 (24,3–28,4) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	33,5 (28,0–39,0) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
TXB2, пг/мл	12,35 (11,1–13,8)	18,2 (16,6–20,2) p < 0,05	31,7 (25,4–35,6) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	49,35 (38,8–55,8) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
6KPGF1 $\alpha$ /TXB2 (у.од.)	1,2 (1,1–1,2)	1,02 (0,99–1,06) p < 0,05	0,83 (0,81–0,94) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	0,7 (0,68–0,74) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
MMP-8, нг/мл	16,4 (15,3–17,7)	20,7 (17,7–23,3) p > 0,05	26,6 (21,9–30,6) p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	35,9 (30,4–42,7) p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05

Значення p розраховували щодо контролю; p<sub>1</sub>: щодо групи пацієнтів із легким перебігом ОЛ; p<sub>2</sub>: щодо групи пацієнтів із середньоважким перебігом ОЛ.

В інтерлейкіновому статусі хворих на ОЛ концентрації інтерлейкінів із прозапальними властивостями переважають над концентраціями інтерлейкінів із протизапальними властивостями, а у простагландиновому статусі наявне переважання простагландинів із прозапальною, вазодилатаційною та проагрегантою діями над простагландинами з протизапальною, вазоконстрикторною та антиагрегаційною активностями.

Зміни інтерлейкінового і простагландинового статусів у хворих на ОЛ залежно від ступеня важкості, ймовірно, можуть бути зумовлені різною активністю реплікації VZV в уражених тканинах, що за легкого перебігу ОЛ є найменшою, а при важкому перебігу – найбільшою. Встановлена також здатність VZV впливати на експресію рецепторів і продукцію таких цитокінів, як інтерферон- $\alpha$  [1], інтерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) і TNF [2].

Результати дослідження узгоджуються з відомостями інших авторів щодо впливу VZV на продукцію цитокінів у пацієнтів із VZV-інфекцією.

Дослідження рівнів прозапальних цитокінів і матриксних металопротеїназ у лікворі хворих із вірусологічно підтвердженою васкулопатією, що зумовлена VZV [7], показало вірогідне підвищення рівнів IL-1 $\beta$  ( $p = 0,006$ ), IL-2 ( $p = 0,006$ ), IL-6 ( $p = 0,0001$ ), IL-8 ( $p = 0,0001$ ), TNF- $\alpha$  ( $p = 0,0012$ ), IFN $\gamma$  ( $p = 0,0004$ ), MMP-1 ( $p = 0,0002$ ), MMP-2 ( $p = 0,0001$ ), MMP-3 ( $p = 0,0002$ ), MMP-9 ( $p = 0,0001$ ) і MMP-10 ( $p = 0,0001$ ) порівняно з концентраціями цих цитокінів у лікворі здорових людей.

Відомо, що матриксні металопротеїнази беруть участь у деструкції міжклітинного матриксу. Така деструкція, безсумнівно, наявна і в осередках уражених тканин при ОЛ, де формується нашкірний висип. Підвищення в лікворі та крові пацієнтів із VZV-інфекцією матриксних металопротеїназ різних класів зареєстрували в дослідженнях [11,13]. Встановили, що в перебігу хвороби може відбуватися зміна експресії MMP: збільшення MMP-1, -3 і -9, зниження MMP-2 [13].

Оцінюючи рівні біомаркерів запального стресу в пацієнтів з ОЛ, високі рівні інтерлейкінів IL-6 і IL-8 зареєстрували в дослідженні [13], IL-4, IL-12, IL-17 і IL-23 – в роботі [14], IL-33 – автори [16]. За висновком дослідників [14], вірогідно вищі рівні IL-6 і IL-8 щодо контролю пов'язані з вираженістю висипу та болю. За даними [15], у хворих на ОЛ, крім рівнів сироваткових IL-4, IL-12, IL-17 і IL-23, статистично значуще підвищеними порівняно з контролем були титри IgG-антитіл до VZV. Це підтверджує широку активацію імунної системи за участю гуморального та клітинного імунітету.

Підвищений рівень IL-10, який визначили в дослідженні, особливо при важкому перебігу ОЛ може негативно впливати на формування імунної відповіді щодо VZV. Описані дослідження підтвердження цього є результатом дослідження [17], в якому перевіряли гіпотезу про те, що конститутивний рівень IL-10, який може бути високим у літніх людей, знижує ефективність вакцинації живої атенуйованої зостер-вакцини (Zostavax). Встановили, що високий конститутивний рівень IL-10 негативно впливає на ефективність вакцинації.

Відомо, що суттєвий вплив на формування імунної відповіді має IL-2, важливим є співвідношення цього цитокіну з IFN- $\gamma$ . За даними [18], тільки в молодих людей відбувається збільшення двофункціональних

VZV-специфічних CD4+ і CD8+ Т-клітинних ефektorів, визначених коекспресією IFN- $\gamma$  і IL-2. У літніх людей спостерігали збільшення CD8+, CD57+ Т-клітин, що старіють, з одночасним зниженням VZV-пам'яті і CD8+ ефektorних реакцій. Зробили висновок: висока частота VZV-специфічних Т-клітин, які старіють і виснажені, в літніх людей зумовлює їхню погану відповідь на виклик VZV. Це може бути основою їхньої нездатності запобігати реактивації VZV і розвитку ОЛ.

Важливу роль у запаленні та імунорегуляції відіграють ейкозаноїди – медіатори, що утворюються передусім під час гідролізу мембранних фосфоліпідів фосфоліпазою A2 до  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 жирних кислот C20, що потім перетворюються в лейкотрієни, простагландини, простацикліни і тромбоксани. Багато класичних ознак запалення, як-от гіперемія, набряк, біль, жар, викликані видами ейкозаноїдів з вазоактивними, піретичними і болезаспокійливими ефектами локально, деякі ейкозаноїди також регулюють функції Т-клітин [19].

PGE2 – найбільш поширений простаноїд в організмі, що має важливе значення для функціонування імунної та центральної нервової системи. PGE2 може сигналізувати через будь-який із 4 рецепторів: EP1, EP2, EP3, EP4 – часто з протилежними ефектами. PGE2 традиційно вважають імундепресантом, але визначили посилення впливу цього ейкозаноїда на диференціювання Th17 і Th1. PGE2 знижує експресію IFN $\gamma$  в Т-клітинах, а Th2-похідні цитокіни, включаючи IL-4, IL-5, IL-10 і IL-13, не піддаються впливу або регуляції у відповідь на сигналізацію PGE2. Через свої рецептори PGE2 контролює функцію Т-клітин різними способами, диференційовано регулює апоптоз у Т-клітинах залежно від субпопуляції та стану клітин, впливає на функцію CD8+ клітин та їхню цитотоксичність. PGE2 може інгібувати проліферацію Т-клітин у CD4+ і CD8+ субпопуляціях за допомогою синтезу IL-2 та експресії рецепторів IL-2 [19].

PGE2 як кінцевий продукт циклооксигенази-2 (COX-2) відіграє важливу роль у розвитку нейропатичного болю [20], впливаючи на інфільтруючі макрофаги та шванівські клітини пошкоджених нервів. Блокада сигналів COX-2/PGE2/EP4 на ранній стадії запалення має вирішальне значення для запобігання переходу від гострого болю до хронічного стану [21,22].

PGF2a має важливі функції у відтворенні, запаленні, серцево-судинній функції та інших (патофізіологічних) процесах. Припускають, що PGF2a разом із PGI2 спричиняє диференціювання прозапальних Th17 клітин [19].

У нашому дослідженні рівень PGE2 був підвищеним щодо контролю, а у хворих на ОЛ ступінь збільшення концентрації PGE2 зростає залежно від тяжкості хвороби, найбільший – у випадку важкого перебігу ОЛ. Подібні, але менш виражені зміни встановили для PGF2a, що супроводжувались збільшенням коефіцієнта PGE2/PGF2a. Це свідчило про переважання в цій системі прозапальної та імундепресивної складової.

Відомо, що важливу роль у запаленні відіграють також сполучення ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти – тромбоксан і простациклін.



Тромбоксан А2 – прозапальний простаноїд, що виробляється переважно у тромбоцитах, а також в активованих моноцитах, макрофагах і дендритних клітинах. Стабільний і неактивний метаболіт ТХА2 – ТХВ2 – виробляється Т-лімфоцитами хелперами. ТХА2 викликає вазоконстрикцію та агрегацію тромбоцитів, регулює рівень білка позаклітинного матриксу. Сигналізація ТХА2 через рецептор TP викликає апоптоз у незрілих тимоцитах, зокрема у CD4+, CD8+ клітинах, що може відігравати важливу роль у початковій активації Т-клітин макрофагами [19].

Простагландин І2 (простациклін) – інгібітор агрегації тромбоцитів, потужний вазодилататор і важливий імунорегулятор. Сигналізація через ІР-рецептор на клітинах призводить до інгібування секреції цитокінів. Так, продукція ІFN $\gamma$  в Th1-клітинах скасовується, а Th2-клітини експресують менше ІL-4, ІL-10 і ІL-13. PGI2 вважають протизапальним та імуносупресивним простагландином [19].

У дослідженні [23] встановлено, що мікрогліальний TNF- $\alpha$  індукуює експресію COX2 і PGI2-синтети в спінальних ендотеліальних клітинах під час невропатичного болю. PGI2 є посередником нейропатичного болю через ІL-1 $\beta$ , який експресується макрофагами [24].

У дослідженні, що здійснили, рівень ТХВ2 (стабільний метаболіт тромбоксану) був підвищеним дещо більше порівняно з рівнем 6KPGF1 $\alpha$  (стабільний метаболіт простацикліну) незалежно від ступеня важкості ОЛ. Це супроводжувалося зниженням коефіцієнта 6KPGF1 $\alpha$ /ТХВ2, який був найменшим при важкому перебігу ОЛ. Дисбаланс у системі 6KPGF1 $\alpha$ /ТХВ2 свідчив про переважання прозапальної, проагрегантної та імунодепресивної складової над протизапальною.

Результати дослідження показують важливу роль цитокінів: інтерлейкінів, простагландинів і матриксних металопротеїназ у патогенезі оперізувального лишаю.

## Висновки

1. Клінічна маніфестація ОЛ супроводжується збільшенням у сироватці крові хворих концентрацій цитокінів (ІL-1 $\beta$ , ІL-2, ІL-4, ІL-6, ІL-8, ІL-10, TNF $\alpha$ ), простаноїдів (PGE2, PGF2 $\alpha$ , 6KPGF1 $\alpha$ , ТХВ2) та матриксної металопротеїнази-8 (ММР-8). Ступінь зміни інтерлейкінового та простагландинового статусу залежить від ступеня важкості ОЛ, найменший – при його легкому перебігу, найбільший – при тяжкому.

2. В інтерлейкіновому статусі хворих ОЛ ступеня збільшення концентрацій прозапальних цитокінів (ІL-1 $\beta$ , ІL-6, ІL-8, TNF $\alpha$ ) переважають над ступенями збільшення цитокінів із протизапальними властивостями (ІL-2, ІL-4, ІL-10).

3. У гострому періоді ОЛ у простагландиновому статусі хворих виявили дисбаланс у системах PGE2/PGF2 $\alpha$  і 6KPGF1 $\alpha$ /ТХВ2 із переважанням сироваткових концентрацій PGE2 над PGF2 $\alpha$ , і ТХВ2 над 6KPGF1 $\alpha$ .

**Перспективи подальших досліджень.** Планується вивчення інтерлейкінового та простагландинового статусів у хворих на оперізувальний лишай у динаміці хвороби, враховуючи вік і стать пацієнтів.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflict of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 16.03.2020

Після доопрацювання / Revised: 22.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 26.05.2020

## Відомості про авторів:

Новицький О. М., зав. неврологічного відділення для хворих з порушенням кровообігу, КНП «Кремінська багатопрофільна лікарня», головний позаштатний експерт Департаменту охорони здоров'я Луганської обласної державної адміністрації зі спеціалізації «Неврологія»; асистент каф. неврології, психіатрії та наркології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8528-7829](https://orcid.org/0000-0001-8528-7829)

Гайдаш І. С., д-р мед. наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1502-4422](https://orcid.org/0000-0002-1502-4422)

## Information about authors:

Novytskyi O. M., MD, Head of the Neurological Department for Patients with Circulatory Disorders of Municipal non-profit enterprise "Kreminna Multiprofile Hospital", Chief External Expert of the Health Department of Luhansk Regional State Administration in specialization "Neurology", Assistant Professor of the Department of Neurology, Psychiatry and Narcology, State Establishment "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

Haidash I. S., MD, PhD, DSc, Professor, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, State Establishment "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Новицкий А. Н., зав. неврологическим отделением для больных с нарушением кровообращения, КНП «Кременская многопрофильная больница», главный внештатный эксперт Департамента охраны здоровья Луганской областной государственной администрации по специализации «Неврология», ассистент каф. неврологии, психиатрии и наркологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Гайдаш И. С., д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки и техники Украины, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.





## Список літератури

- [1] Molecular mechanisms of varicella zoster virus pathogenesis / L. Zerboni, N. Sen, S. L. Oliver, A. M. Arvin. *Nature reviews. Microbiology*. 2014. Vol. 12, Iss. 3. P. 197-210. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3215>
- [2] Manipulation of the innate immune response by Varicella Zoster Virus / C. Gerada, T. M. Campbell, J. J. Kennedy et al. *Frontiers in immunology*. 2020. Vol. 11. P. 1. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00001>
- [3] Hospital-based herpes zoster diagnoses in Denmark: rate, patient characteristics, and all-cause mortality / S. A. Schmidt, J. Kahler, M. Vestergaard et al. *BMC infectious diseases*. 2016. Vol. 16. P. 99. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1369-6>
- [4] Cho S. I., Lee D. H., Park Y. M. Identification of herpes zoster high-risk group using Charlson comorbidity index: A nationwide retrospective cohort study. *The Journal of dermatology*. 2020. Vol. 47, Iss. 1. P. 47-53. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15115>
- [5] Dyachenko P. A. Varicella-zoster virus cns disease clinical features in ukrainian patients. prospective study. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*. 2019. Vol. 72, Iss. 9(2). P. 1765-1768.
- [6] Xing X., Sun K., Yan M. Delayed initiation of supplemental pain management is associated with postherpetic neuralgia: A retrospective study. *Pain physician*. 2020. Vol. 23, Iss. 1. P. 65-72.
- [7] Proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in CSF of patients with VZV vasculopathy / D. Jones, E. Alvarez, S. Selva et al. *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*. 2016. Vol. 3, Iss. 4. P. e246. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000246>

- [8] Impaired oxidative status as a potential predictor in clinical manifestations of herpes zoster / M. Khazan, M. Hedayati, R. M. Robati et al. *Journal of medical virology*. 2018. Vol. 90, Iss. 10. P. 1604-1610. <https://doi.org/10.1002/jmv.25204>
- [9] Esser-von Bieren J. Immune-regulation and -functions of eicosanoid lipid mediators. *Biological chemistry*. 2017. Vol. 398, Iss. 11. P. 1177-1191. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0146>
- [10] Gomes F., Cunha F. Q., Cunha T. M. Peripheral nitric oxide signaling directly blocks inflammatory pain. *Biochemical pharmacology*. 2020. Vol. 176. P. 113862. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.113862>
- [11] Lind L., Eriksson K., Grahn A. Chemokines and matrix metalloproteinases in cerebrospinal fluid of patients with central nervous system complications caused by varicella-zoster virus. *Journal of neuroinflammation*. 2019. Vol. 16, Iss. 1. P. 42. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1428-1>
- [12] Опоясывающий лишай [herpes zoster] у взрослых : клинические рекомендации РФ. 2014. 95 с.
- [13] Differential regulation of matrix metalloproteinases in varicella zoster virus-infected human brain vascular adventitial fibroblasts / M. A. Nagel, A. Choe, A. Rempel et al. *Journal of the neurological sciences*. 2015. Vol. 358, Iss. 1-2. P. 444-446. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.349>
- [14] Measurement of melatonin, indole-dioxygenase, IL-6, IL-18, ferritin, CRP, and total homocysteine levels during herpes zoster / M. Khazan, S. Nasiri, S. M. Riahi et al. *Journal of medical virology*. 2019. <https://doi.org/10.1002/jmv.25484>
- [15] Evaluation of chosen cytokine levels among patients with Herpes Zoster as ability to provide immune response / A. Zajkowska, A. Garkowski, R. Świerzbńska et al. *PLoS one*. 2016. Vol. 11, Iss. 3. P. e0150301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150301>
- [16] Interleukin-33 is expressed in the lesional epidermis in herpes virus infection but not in verruca vulgaris / M. Jin, M. Komine, H. Tsuda et al. *The Journal of dermatology*. 2018. Vol. 45, Iss. 7. P. 855-857. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14334>
- [17] High constitutive interleukin 10 level interferes with the immune response to Varicella-Zoster Virus in elderly recipients of live attenuated Zoster Vaccine / A. A. Gershon, D. Brooks, D. D. Stevenson et al. *The Journal of infectious diseases*. 2019. Vol. 219, Iss. 8. P. 1338-1346. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy660>
- [18] Varicella-Zoster Virus-specific cellular immune responses to the live attenuated Zoster Vaccine in young and older adults / A. Weinberg, J. Canniff, N. Roupael et al. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2017. Vol. 199, Iss. 2. P. 604-612. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700290>
- [19] Lone A. M., Taskén K. Proinflammatory and immunoregulatory roles of eicosanoids in T cells. *Frontiers in immunology*. 2013. Vol. 4. P. 130. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00130>
- [20] Ma W., St-Jacques B., Duarte P. C. Targeting pain mediators induced by injured nerve-derived COX2 and PGE2 to treat neuropathic pain. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2012. Vol. 16, Iss. 6. P. 527-540. <https://doi.org/10.1517/14728222.2012.680955>
- [21] St-Jacques B., Ma W. Peripheral prostaglandin E2 prolongs the sensitization of nociceptive dorsal root ganglion neurons possibly by facilitating the synthesis and anterograde axonal trafficking of EP4 receptors. *Experimental neurology*. 2014. Vol. 261. P. 354-366. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.05.028>
- [22] Electroacupuncture alters pain-related behaviors and expression of spinal prostaglandin E2 in a rat model of neuropathic pain / H. Jiang, X. Yu, X. Ren, Y. Tu. *Journal of traditional Chinese medicine*. 2016. Vol. 36, Iss. 1. P. 85-91. [https://doi.org/10.1016/s0254-6272\(16\)30013-9](https://doi.org/10.1016/s0254-6272(16)30013-9)
- [23] Microglial TNF $\alpha$  induces COX2 and PGI2 synthase expression in spinal endothelial cells during neuropathic pain / H. Kanda, K. Kobayashi, H. Yamanaka et al. *eNeuro*. 2017. Vol. 4, Iss. 2. P. ENEURO.0064-17.2017. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0064-17.2017>
- [24] Prostacyclin mediates neuropathic pain through interleukin 1 $\beta$ -expressing resident macrophages / C. D. Schuh, S. Pierre, A. Weigert et al. *Pain*. 2014. Vol. 155, Iss. 3. P. 545-555. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.12.006>
- [6] Xing, X., Sun, K., & Yan, M. (2020). Delayed Initiation of Supplemental Pain Management is Associated with Postherpetic Neuralgia: A Retrospective Study. *Pain physician*, 23(1), 65-72.
- [7] Jones, D., Alvarez, E., Selva, S., Gildea, D., & Nagel, M. A. (2016). Proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in CSF of patients with VZV vasculopathy. *Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation*, 3(4), e246. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000246>
- [8] Khazan, M., Hedayati, M., Robati, R. M., Riahi, S. M., & Nasiri, S. (2018). Impaired oxidative status as a potential predictor in clinical manifestations of herpes zoster. *Journal of medical virology*, 90(10), 1604-1610. <https://doi.org/10.1002/jmv.25204>
- [9] Esser-von Bieren J. (2017). Immune-regulation and -functions of eicosanoid lipid mediators. *Biological chemistry*, 398(11), 1177-1191. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0146>
- [10] Gomes, F., Cunha, F. Q., & Cunha, T. M. (2020). Peripheral nitric oxide signaling directly blocks inflammatory pain. *Biochemical pharmacology*, 176, 113862. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.113862>
- [11] Lind, L., Eriksson, K., & Grahn, A. (2019). Chemokines and matrix metalloproteinases in cerebrospinal fluid of patients with central nervous system complications caused by varicella-zoster virus. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1428-1>
- [12] National Scientific Society of Infectious Diseases Doctors. (2014, October 30). *Opoyasyvayushchii lishai [herpes zoster] u vzroslykh : klinicheskie rekomendatsii RF* [Herpes zoster in adults: clinical recommendations of the Russian Federation].
- [13] Nagel, M. A., Choe, A., Rempel, A., Wyborny, A., Stenmark, K., & Gildea, D. (2015). Differential regulation of matrix metalloproteinases in varicella zoster virus-infected human brain vascular adventitial fibroblasts. *Journal of the neurological sciences*, 358(1-2), 444-446. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.349>
- [14] Khazan, M., Nasiri, S., Riahi, S. M., Robati, R. M., & Hedayati, M. (2019). Measurement of melatonin, indole-dioxygenase, IL-6, IL-18, ferritin, CRP, and total homocysteine levels during herpes zoster. *Journal of medical virology*, 10.1002/jmv.25484. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/jmv.25484>
- [15] Zajkowska, A., Garkowski, A., Świerzbńska, R., Kulakowska, A., Król, M. E., Ptaszyńska-Sarosiek, I., Nowicka-Cieluszecka, A., Pancewicz, S., Czupryna, P., Moniuszko, A., & Zajkowska, J. (2016). Evaluation of Chosen Cytokine Levels among Patients with Herpes Zoster as Ability to Provide Immune Response. *PLoS one*, 11(3), e0150301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150301>
- [16] Jin, M., Komine, M., Tsuda, H., Oshio, T., & Ohtsuki, M. (2018). Interleukin-33 is expressed in the lesional epidermis in herpes virus infection but not in verruca vulgaris. *The Journal of dermatology*, 45(7), 855-857. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14334>
- [17] Gershon, A. A., Brooks, D., Stevenson, D. D., Chin, W. K., Oldstone, M., & Gershon, M. D. (2019). High Constitutive Interleukin 10 Level Interferes With the Immune Response to Varicella-Zoster Virus in Elderly Recipients of Live Attenuated Zoster Vaccine. *The Journal of infectious diseases*, 219(8), 1338-1346. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy660>
- [18] Weinberg, A., Canniff, J., Roupael, N., Mehta, A., Mulligan, M., Whitaker, J. A., & Levin, M. J. (2017). Varicella-Zoster Virus-Specific Cellular Immune Responses to the Live Attenuated Zoster Vaccine in Young and Older Adults. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 199(2), 604-612. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700290>
- [19] Lone, A. M., & Taskén, K. (2013). Proinflammatory and immunoregulatory roles of eicosanoids in T cells. *Frontiers in immunology*, 4, 130. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00130>
- [20] Ma, W., St-Jacques, B., & Duarte, P. C. (2012). Targeting pain mediators induced by injured nerve-derived COX2 and PGE2 to treat neuropathic pain. *Expert opinion on therapeutic targets*, 16(6), 527-540. <https://doi.org/10.1517/14728222.2012.680955>
- [21] St-Jacques, B., & Ma, W. (2014). Peripheral prostaglandin E2 prolongs the sensitization of nociceptive dorsal root ganglion neurons possibly by facilitating the synthesis and anterograde axonal trafficking of EP4 receptors. *Experimental neurology*, 261, 354-366. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.05.028>
- [22] Jiang, H., Yu, X., Ren, X., & Tu, Y. (2016). Electroacupuncture alters pain-related behaviors and expression of spinal prostaglandin E2 in a rat model of neuropathic pain. *Journal of traditional Chinese medicine = Chung i tsa chih ying wen pan*, 36(1), 85-91. [https://doi.org/10.1016/s0254-6272\(16\)30013-9](https://doi.org/10.1016/s0254-6272(16)30013-9)
- [23] Kanda, H., Kobayashi, K., Yamanaka, H., Okubo, M., & Noguchi, K. (2017). Microglial TNF $\alpha$  Induces COX2 and PGI2 Synthase Expression in Spinal Endothelial Cells during Neuropathic Pain. *eNeuro*, 4(2), ENEURO.0064-17.2017. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0064-17.2017>
- [24] Schuh, C. D., Pierre, S., Weigert, A., Weichand, B., Altenrath, K., Schreiber, Y., Ferreiros, N., Zhang, D. D., Suo, J., Treutlein, E. M., Henke, M., Kunkel, H., Grez, M., Nüsing, R., Brüne, B., Geisslinger, G., & Scholich, K. (2014). Prostacyclin mediates neuropathic pain through interleukin 1 $\beta$ -expressing resident macrophages. *Pain*, 155(3), 545-555. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.12.006>

## References

## Особливості цитокінового профілю у структурах хоріона та плаценти при передчасному перериванні вагітності

А. А. Живецька-Денисова \*<sup>B,D,E</sup>, І. І. Воробйова <sup>A,E,F</sup>, Н. Я. Скрипченко <sup>A,F</sup>,  
В. Б. Ткаченко <sup>C,D</sup>

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

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

Цитокіни контролюють ангіогенез, процеси поділу, проліферації та диференціювання клітин, інвазію трофобласта та розвиток плаценти. Викликають інтерес дослідження щодо ролі цитокінів у регуляції гестаційного процесу при невиношуванні вагітності. Успішна імплантація – запорука формування здорової плаценти, а отже здорового майбутнього покоління.

**Мета роботи** – визначити маркери невиношування вагітності на підставі вивчення особливостей цитокінового профілю у структурах хоріона та плаценти при передчасному перериванні вагітності.

**Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь жінки з репродуктивними втратами в анамнезі та передчасним перериванням поточної вагітності (основна група). У контрольну групу ввійшли вагітні з фізіологічним перебігом вагітності та неускладненим анамнезом. Матеріал дослідження – 22 зразки хоріона і 26 плацент від жінок основної групи, що отримані в результаті передчасного переривання вагітності в різні терміни, а також 20 зразків хоріона після штучного абортів і 20 плацент від жінок контрольної групи, одержаних у результаті строкових пологів. У структурах хоріона та плаценти методом імуногістохімії визначали експресію TNF- $\alpha$ , CD31/PECAM-1, CD45/T200/LCA.

**Результати.** Основою невиношування вагітності в ранні терміни є ембріо-ендометріальна дисфункція. Цитокіновий профіль представлений виразною експресією TNF- $\alpha$  та низькою експресією CD31/PECAM-1, що свідчить про зміщення імунологічного балансу в бік прозапальної реакції та вказує на порушення цитотрофобластичної інвазії. У розвитку передчасних пологів визначальна роль належить запаленню. Структурні та функціональні зміни у плаценті саме на тлі запалення утворюють морфологічний субстрат хронічної плацентарної дисфункції, що в разі декомпенсації спричиняє передчасний розвиток пологової діяльності.

**Висновки.** Цитокіновим маркером невиношування вагітності ранніх термінів є виразна експресія TNF- $\alpha$  у структурах ворсинчастого хоріона, гравідарного ендометрія та низька експресія CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті. Передумовою передчасних пологів є запалення. Маркер запалення – помірна експресія TNF- $\alpha$  в інвазивному цитотрофобласті, децидуальних клітинах і термінальних ворсинах плаценти та надмірна експресія CD45/T200/LCA в децидуальній оболонці.

**Ключові слова:**  
вагітність,  
невиношування,  
хоріон, плацента,  
цитокіни TNF- $\alpha$ ,  
CD31/PECAM-1,  
CD45/T200/LCA.

**Патологія.** 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 191-201

\*E-mail:  
[alla.zhivetskaya@denisova@gmail.com](mailto:alla.zhivetskaya@denisova@gmail.com)

## Features of the cytokine profile in the structures of chorion and placenta in premature termination of pregnancy

A. A. Zhyvetska-Denysova, I. I. Vorobiova, N. Ya. Skrypchenko, V. B. Tkachenko

The placenta is a mirror of pregnancy. The formation of a healthy placenta predetermines embryo-endometrial relationships, which are regulated by cytokines. The study of the role of cytokines in the regulation of the gestation process in miscarriage is relevant.

**The aim of the work** is to establish markers of miscarriage based on the study of features of the cytokine profile in the structures of the chorion and placenta in premature termination of pregnancy.

**Materials and methods.** 22 chorions and 26 placentas from women with a history of reproductive loss and termination of current pregnancy were examined (the main group). The control was the tissue of the chorion, taken after artificial abortion in 20 women, and 20 placentas from uncomplicated pregnancy and physiological births in women with the first pregnancy. The placenta was examined according to the protocol (form No. 013-1/0). Expression of TNF- $\alpha$ , CD31/PECAM-1, CD45/T200/LCA in chorion and placenta structures were determined by immunohistochemistry.

**Results.** The termination of pregnancy in the first trimester is accompanied by a violation of the ratio of cytokines - an increase in the expression of TNF- $\alpha$  and a decrease in the expression of CD31/PECAM-1 in the structures of the endometrium and villous chorion. The results indicate a shift in the immunological balance towards an inflammatory response and a violation of the cytotrophoblastic invasion. Inflammation plays a leading role in the development of preterm birth. Structural and functional changes in the placenta against the background of inflammation make up the morphological substrate of chronic placental dysfunction, which, in a case of decompensation, triggers the process of preterm birth.

**Conclusions.** The cytokine marker of terminating pregnancy in the first trimester is the high expression of TNF- $\alpha$  in the structures of chorion and endometrium in combination with low expression of CD31/PECAM-1 in the endothelium of the spiral

**Key words:**  
pregnancy,  
miscarriage,  
chorion, placenta,  
cytokines TNF- $\alpha$ ,  
CD31/PECAM-1,  
CD45/T200/LCA.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 191-201

arteries, in the intravascular and interstitial cytotrophoblast. The marker of inflammation is a moderate expression of TNF- $\alpha$  in the invasive cytotrophoblast, decidual cells and terminal villi of placenta in combination with high expression of CD45/T200/LCA in the decidual membrane.

**Ключевые слова:**

беременность, невынашивание, хорион, плацента, цитокины TNF- $\alpha$ , CD31/PECAM-1, CD45/T200/LCA.

Патологія. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 191-201

## Особенности цитокинового профиля в структурах хориона и плаценты при преждевременном прерывании беременности

А. А. Живецкая-Денисова, И. И. Воробьева, Н. Я. Скрипченко, В. Б. Ткаченко

Цитокины контролируют ангиогенез, процессы деления, пролиферации и дифференцировки клеток, инвазию трофобласта, формирование плаценты. Интерес представляют исследования относительно их роли в регуляции гестационного процесса при невынашивании беременности. Успешная имплантация – залог формирования здоровой плаценты, а значит и здорового поколения.

**Цель работы** – определить маркеры невынашивания беременности на основе изучения особенностей цитокинового профиля в структурах хориона и плаценты при преждевременном прерывании беременности.

**Материалы и методы.** У женщин с репродуктивными потерями в анамнезе исследовали 22 хориона и 26 плацент, полученных в результате преждевременного прерывания настоящей беременности в разные сроки гестации (основная группа). Контроль – 20 образцов хориона после искусственного аборта и 20 плацент от срочных родов у первобеременных с физиологическим течением гестации. В структурах хориона и плаценты методом иммуногистохимии определяли экспрессию TNF- $\alpha$ , CD31/PECAM-1, CD45/T200/LCA.

**Результаты.** В основе невынашивания беременности в ранние сроки – эмбрио-эндометриальная дисфункция. Цитокиновый профиль представлен высокой экспрессией TNF- $\alpha$  и низкой экспрессией CD31/PECAM-1, что свидетельствует о смещении иммунологического баланса в сторону провоспалительного ответа и указывает на нарушение цитотрофобластической инвазии. В развитии преждевременных родов ведущая роль принадлежит воспалению. Структурные и функциональные изменения в плаценте на фоне воспаления составляют морфологический субстрат хронической плацентарной дисфункции, которая в случае декомпенсации запускает процесс преждевременных родов.

**Выводы.** Цитокиновый маркер невынашивания беременности ранних сроков – выраженная экспрессия TNF- $\alpha$  в структурах ворсинчатого хориона и gravidарного эндометрия в комбинации с низкой экспрессией CD31/PECAM-1 в эндотелии спиральных артерий, внутрисосудистом и интерстициальном цитотрофобласте. Маркер воспаления – умеренная экспрессия TNF- $\alpha$  в инвазивном цитотрофобласте, децидуальных клетках и терминальных ворсинах плаценты в сочетании с высокой экспрессией CD45/T200/LCA в децидуальной оболочке.

Невиношування вагітності (НВ) як мультифакторна патологія [1–3] залишається однією з найважливіших проблем сучасного акушерства, основним завданням якого є забезпечення та всебічне сприяння реалізації жінкою функції материнства, починаючи з етапу запліднення до народження здорової дитини. Нормальне виконання репродуктивної функції в жінок відбувається завдяки гармонійному функціонуванню імунологічних механізмів, що реалізується за допомогою цитокінів [4–10]. Цитокіни як диригенти імунних реакцій забезпечують інформаційний взаємозв'язок у межах імунної системи між специфічним імунітетом та неспецифічною захисною реакцією організму, між гуморальним і клітинним імунітетом, між різними за функціями лімфоцитами [5, 7, 11]. Цитокіни регулюють майже всі етапи гестаційного процесу: імплантацію бластоцисти, ангиогенез, апоптоз, формування плаценти, розвиток плода, продукцію гормонів плацентою, дозрівання шийки матки та механізм пологів. Успіх імплантації визначає взаємодія зародка з епітелієм матки та готовність ендометрія до імплантації, що передбачає високий ступінь розвитку спіральних артерій і високу проліферативну активність. Високий рівень проліферації та клітинної диференціації, низький рівень апоптозу під час імплантації зародка визначають формування повноцінного матково-плацентарного кровообігу [4, 5, 12, 13].

Відомо, що фізіологічна вагітність залежить від переваги протизапальних цитокінів, які сприяють

розвитку трофобласта, контролюють ангиогенез, підвищують продукцію хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ), здійснюють імносупресію. Прозапальні цитокіни стимулюють діяльність натуральних кілерів, активують каскад коагуляції, здатні руйнувати клітини трофобласта. Надмірна кількість у крові прозапальних цитокінів спричиняє викидень у I триместрі гестації. За умови збереження вагітності надалі формується первинна плацентарна недостатність. Упродовж фізіологічної вагітності співвідношення прозапальних/протизапальних цитокінів у крові змінюється. Прозапальні цитокіни переважають на етапі імплантації бластоцисти, що зумовлено локальною активацією медіаторів запалення у відповідь на її проникнення. Фізіологічному перебігу вагітності притаманна перевага протизапальних цитокінів. Зменшення супресивного впливу відбувається, починаючи з 37 тижня вагітності, водночас із підвищенням хелперного ефекту – провісника пологів. Передчасні пологи пов'язують із підвищеним вмістом у крові прозапальних цитокінів, як-от TNF- $\alpha$ , що індукують синтез простагландинів [7, 10–12, 14, 15].

Імуногистохімічним маркером запалення є CD45RO<sup>+</sup> RA<sup>+</sup>, який виконує важливу роль у процесі імунологічної адаптації плода до материнського організму на ранніх етапах розвитку [14], регулює мітотичний цикл, диференціацію та проліферацію клітин. Рівень експресії CD45 – параметр, що визначає функції імунокомпетентних клітин. Зниження експресії

CD45 призводить до дефектів позитивної та негативної селекції лімфоцитів, потенціює апоптоз.

Початок вагітності супроводжується ангіогенезом – важливим біологічним процесом, з яким пов'язують нормальний розвиток судин плаценти та формування матково-плацентарної циркуляції. Дисфункція процесу ангіогенезу разом із порушенням процесу проліферації, міграції та інвазії трофобласта призводять до відхилень у нормальному перебігу вагітності. Тригером внутрішньосудинної цитотрофобластичної інвазії в ендометрії є CD31/PECAM-1 (Endothelial Cell Marker) [4, 5, 16–19].

Аналітичний огляд сучасної наукової літератури дав змогу оцінити значення фактора некрозу пухлини (TNF- $\alpha$ ), загального лейкоцитарного антигена (CD45), ендотеліального клітинного маркера CD31/PECAM-1 у розвитку різних патологічних станів і соматичних розладів [20]. Досліджень щодо ролі цих факторів у розвитку плаценти в нормі та при патології, особливо у випадку формування звичного НВ, небагато [6, 14, 21], вони містять результати пошукового характеру.

Враховуючи, що хоріон/плацента – важливий діагностичний об'єкт, має високий інформаційний потенціал [13, 22, 23], дослідження цитокинових маркерів НВ у цих структурах сприятиме розширенню знань про механізм репродуктивних втрат і розробці новітніх технологій запобігання НВ на прегравідарному етапі та впродовж гестації.

## Мета роботи

Визначити маркери невиношування вагітності на підставі вивчення особливостей цитокинового профілю у структурах хоріона та плаценти при передчасному перериванні вагітності.

## Матеріали і методи дослідження

У дослідженні взяли участь жінки із репродуктивними втратами в анамнезі та передчасним перериванням поточної вагітності (основна група), які перебували під спостереженням в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України». У контрольну групу ввійшли вагітні з фізіологічним перебігом вагітності та неускладненим анамнезом. Вік обстежених в обох групах становив 22–46 років.

З анамнезу встановили, що 77,1 % жінок основної групи втрачали вагітність у I триместрі. 3-поміж них звичне НВ (від 2 до 9 переривань) діагностували в 37,1 % жінок. Гормональний дисбаланс у системі гіпоталамус – гіпофіз – яєчники наявний у 72,9 % обстежених основної групи: порушення оваріально-менструального циклу, гормонозалежні доброякісні пухлини матки та придатків, патології ендометрія – 60,0 %, гіперандрогенія – 12,9 %, гіперпролактинемія – у 37,1 % жінок. У 30 % обстежених з основної групи виявили антифосфоліпідний синдром, мутацію V фактора G1691A (FV Leiden), мутацію гена протромбіну G20210A і MTHFR C677T.

Майже 41 % жінок основної групи хворіли на хламідіоз, уреоплазмоз, мікоплазмоз. Інфікування

піхви та шийки матки (до 53,3 % випадків) зумовлює виникнення дисплазії шийки матки (до 33,3 % випадків) та наявність запального процесу ендометрія. В урогенітальному тракті 44,3 % жінок основної групи виявили умовно-патогенну флору – ентерокок у концентрації Ig 4,0–6,2 КУО/мл. Висока концентрація (Ig 6,2–8,1 КУО/мл) грибів роду *Candida* у піхві 30 % обстежених вказує на пригнічення системного та місцевого імунітету [24]. Неодноразове інструментальне втручання з приводу штучного або мимовільного абортів на тлі хронічної інфекції створило умови для розвитку істміко-цервікальної недостатності.

Видовий спектр бактерій урогенітального тракту жінок групи порівняння включав *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus viridans* у концентрації не більше ніж Ig 1,6–2,0 КУО/мл. Наявність високого титру IgG до TORCH у майже половини жінок обох груп свідчить про інфікування в минулому; загострення TORCH протягом вагітності не діагностували. Жінки основної групи вразливіші до вірусу простого герпесу людини 2 типу (HSV<sub>2</sub>), а жінки групи контролю – до цитомегаловірусу ( $p < 0,05$ ).

У 45,8 % жінок основної групи поточна вагітність припинила розвиток до 12 тижня гестації, у решти жінок вагітність збереглась, але її перебіг відбувався з порушенням компенсаторно-приспосувальних механізмів у фетоплацентарному комплексі: затримка росту плода та дистрес плода – 13,3 % і 33,3 % спостережень відповідно; утробне інфікування, ознаками якого були маловоддя/багатоводдя, – в 46,7 % випадків. Хронічний запальний процес у 86,7 % вагітних спровокував передчасний розрив плодових оболонок, що позначило початок розвитку передчасних пологів.

Матеріал для гістологічного, морфометричного та імуногістохімічного дослідження – 22 зразки хоріона та 26 плацент від жінок основної групи, що отримані в результаті передчасного переривання вагітності в різні терміни, а також 20 зразків хоріона після штучного аборту і 20 плацент після строкових пологів, котрі отримані від жінок контрольної групи. Плаценту дослідили згідно з протоколом (форма № 013-1/0) [13, 22]. Гістологічне дослідження виконали за стандартною схемою: серійні зрізи завтовшки  $5 \pm 1$  мкм забарвлювали за ван Гізеном, використовуючи гематоксилін-еозин і пікрофуксин. За допомогою мікроскопів Olympus BX51 і Axioskop 40 у структурах хоріона та плаценти визначали наявність інволюційно-дистрофічних, дисциркуляторних і запальних змін. За рекомендаціями [25], методом морфометричного дослідження з залученням цитологічного аналізатора «Інтеграл-2 МТ» та калібрувальної точкової сітки, що вмонтована в окуляр мікроскопа, визначали співвідношення основних гістологічних структур хоріона та плаценти. За даними кількісних морфометричних вимірювань підраховували загальну площу ворсинчастого хоріона, площу предецидуальних клітин, інтерстиціального цитотрофобласта, артерій, індекс васкуляризації (середнє арифметичне коефіцієнтів васкуляризації ворсин, де коефіцієнтом васкуляризації ворсини є співвідношення сумарної площі капілярів ворсини до площі самої ворсини).

У названих структурах визначали експресію TNF- $\alpha$  (клон 2C8, Santa Cruz Biotechnology; кат. № MA1-22744; непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення), CD31/PECAM-1 (клон JC/70A, Thermo Scientific; № MS-353-S0) та CD45/T200/LCA (клон PD7/26/16+2B11, Thermo Scientific; № MS-353-P0) за допомогою імуногістохімічної реакції (ІГХП) з використанням «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB» (Thermo Scientific; № TL-015-QHD). Методом напівкількісного аналізу визначали поширеність, виразність реакції (в 100 клітинах у 10 полях зору при збільшенні  $\times 400$ ) у балах. Поширеність реакції оцінювали за шкалою: 0 – немає забарвлення; 1 бал – позитивно забарвлених клітин менше ніж 10 %; 2 бали – забарвлених клітин понад 10 % до 50 %; 3 бали – забарвлених клітин понад 50 %. Виразність реакції оцінювали за шкалою: 0 – немає забарвлення; 1 бал – слабе забарвлення; 2 бали – помірне забарвлення; 3 бали – виразне забарвлення.

Індекс експресії цитокінів розраховували за формулою:  $IE = \sum P(i) \times i/100$ , де IE – індекс експресії;  $i$  – виразність забарвлення в балах;  $P(i)$  – відсоток структур, що забарвлені з різною виразністю.

Результати опрацювали статистично на ПК за допомогою пакета Microsoft Excel-2016, використовуючи кутовий критерій перетворення Фішера. Вірогідно вважали різницю між двома величинами, які порівнювали, за умови  $p < 0,05$  (показник вірогідності понад 95 %).

Пакет досліджень схвалено комісією з медичної етики ДУ «ІПАГ імені академіка О. М. Лук'янової НАМНУ» (протокол № 3 від 07.06.2017 р.).

## Результати

У лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМНУ» дослідили зразки хоріона та плаценти, що отримані від жінок після передчасного переривання поточної вагітності в різні терміни, – основна група; а також зразки хоріона і плаценти, які одержані від неускладненої вагітності, – група контролю.

У результаті дослідження встановлено, що в 16 (72,7 %) зразках хоріона основної групи переважали аваскулярні ворсини, вкриті одношаровим синцитіотрофобластом. У стромі 5 (22,7 %) гіповаскулярних ворсин визначали 1–2 капіляри, в отворах яких містились ядерні або без'ядерні еритроцити. Через мезенхімальні ворсини без ознак диференціювання ворсинчастий хоріон був монотрофним. Ворсинчастий хоріон із вогнищами некрозу та набряком строми виявили в 15 (68,2 %) зразках, зі склерозом строми – в 4 (18,2 %), з некрозом, десквамацією епітелію та оголенням базальної мембрани – в 7 (31,8 %) зразках. Частина ворсин виглядала наче «замурованою» у фібрин. Від 5 до 12 тижня гестації прогресивно зменшувалася (майже в 1,5 раза) загальна площа ворсинчастого хоріона, що пов'язано зі склерозом строми. Порівняно з контролем зменшилася (в 4,3 раза) товщина епітеліального покриву ворсинчастого хоріона ( $p < 0,001$ ). Ядра склерозованих ворсин синцитіотрофобласта виглядали витягнутими, з розташованим субмембранно

або по центру гетеро- та еухроматином. Частина клітин цитотрофобласта неправильної форми внаслідок інвагінації ядра; інша частина клітин без'ядерна, з мінімальною кількістю цитоплазми та органел. У стромі аваскулярних і склерозованих ворсин відсутні клітини Кащенко–Гофбауера; в гіповаскулярних ворсинах їхня кількість зменшена у 3–4 рази. У випадку мимовільного викидня в 5–6 тижнів гестації індекс васкуляризації у ворсинчастому хоріоні зменшений щодо контролю у 2,6 раза (до 0,002 ум. од.). У разі мимовільного викидня, що стався ближче до 12 тижня вагітності, індекс васкуляризації (0,035 ум. од.) зменшений щодо показника контролю у 2,9 раза. Унаслідок недостатньої васкуляризації, що залежить від формування судин і розвитку периваскулярної строми, у зразках хоріона основної групи спостерігали порушення диференціювання ворсин у стовбурі.

У зразках ендометрія основної групи виявили вогнищевий набряк і фокальний некроз строми на тлі неповноцінної секреції та мікрокістозної трансформації залоз. У 13 (59,1 %) зразках ендометрія переважали незрілі й дозрівали предецидуальні клітини зі зменшеною площею, в цитоплазмі яких визначали розширені цистерни ретикулуму, вогнищеву деструкцію та деградуляцію мембрани з формуванням м'ясоподібних структур. Децидуалізація строми ендометрія відбувалася сповільнено. У стромі спостерігали перигландулярну, периваскулярну або дифузну лімфоцитарну запальну інфільтрацію; багатоядерні трофобластичні клітини відсутні. Інтерстиціальна інвазія цитотрофобласта в 59,1 % випадків відбулась тільки в поверхневих відділах функціонального шару ендометрія. Середня площа клітин інтерстиціального цитотрофобласта коливалася від  $94,9 \pm 1,6$  мкм<sup>2</sup> до  $104,3 \pm 2,1$  мкм<sup>2</sup>. Зрозуміло, на якість кровопостачання хоріона впливає загальна площа судин ендометрія. Природне максимальне збільшення площі артерій, що відбувається в 7–8 тижнів гестації у зв'язку з піком інвазії цитотрофобласта, становить майже  $3482,3 \pm 158,3$  мкм<sup>2</sup>. При НВ артерії ендометріальних сегментів виглядали спіралеподібно, мали тонку стінку, у структурі якої визначені поодинокі клітини цитотрофобласта та розрізнені депозити фібрину; ендотеліальна вистілка збережена. У зразках ендометрія основної групи впродовж I триместру прогресивно зменшувалася середня площа артерій, яка в 5–6 тижнів гестації становила  $733,8 \pm 65,5$  мкм<sup>2</sup>, в 11–12 тижнів –  $235,1 \pm 10,7$  мкм<sup>2</sup>; у групі контролю –  $1497,1 \pm 115,7$  мкм<sup>2</sup> та  $7634,4 \pm 618,7$  мкм<sup>2</sup> відповідно,  $p < 0,001$ .

Типовим представником прозапальних цитокінів є TNF- $\alpha$ , продукція має несприятливий вплив на розвиток ембріона та плода. У випадку НВ спостерігали виразну експресію TNF- $\alpha$  у синцитіотрофобласті та цитотрофобласті: IE TNF- $\alpha$  у клітинних острівцях цитотрофобласта та вільних симпластах ворсинчастого хоріона перевищував показник контролю щонайменше в 1,25 раза ( $p < 0,001$ ), в децидуальних клітинах базального шару ендометрія – в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ), у внутрішньосудинному цитотрофобласті – у 2,9 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

Надмірна експресія TNF- $\alpha$  у структурах ворсинчастого хоріона (ВХ) і гравідарного ендометрія при НВ

свідчить про зміщення імунологічного балансу в бік прозапальної реакції. На загальну імунну агресію, кінцевим проявом якої є загибель плодового яйця, вказує підвищений вміст TNF- $\alpha$  у сироватці крові обстежених жінок із НВ ранніх термінів, за даними [20,21].

Тригером внутрішньосудинної цитотрофобластичної інвазії в ендометрії є цитокин CD31/PECAM-1. На відміну від контролю, у зразках абортівного матеріалу основної групи (5–12 тижнів гестації) виявили низьку експресію CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій ( $p < 0,01$ ), внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті ( $p < 0,001$ ) (табл. 2). Це вказує на відсутність своєчасної трансформації ендометріальних фрагментів спіральних артерій і є проявом порушення цитотрофобластичної інвазії.

Отже, порушення диференціювання ворсин хоріона, набряк і склероз строми ворсин, неповноцінна децидуалізація строми ендометрія, неспроможність першої хвилі інвазії цитотрофобласта, порушення гестаційного ремоделювання ендометріальних фрагментів спіральних артерій на тлі виразної експресії TNF- $\alpha$  в синцитіотрофобласті, цитотрофобласті, стромі ендометрія та низької експресії CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті становлять основу первинної плацентарної дисфункції, що завершується викиднем.

Надалі дослідження пов'язане з визначенням цитокінового профілю та морфофункціональних змін у плаценті, що призводять до розвитку передчасних пологів. У результаті макроскопічного дослідження встановили: плаценти від передчасних пологів у 33–36 тижнів гестації варіабельні за масою: гіперплазія органа – 5 (19,2 %) зразків, гіпоплазія – 14 (53,8 %). Аномальною була форма 14 (53,8 %) плацент: неправильно-овальною – 10 (38,5 %), фестончатою – 3 (11,5 %) зразки; 1 (3,8%) плацента виглядала подвійною, з вузьким перешийком між частками; по краю 12 (46,2 %) плацент сформований тонкий, переривчастий обідок, у 2 (7,7 %) зразках – щільний валик.

За результатами мікроскопічного дослідження, майже в половини плацент основної групи виявили зміни ворсинчастого дерева, що свідчать про порушення процесу дозрівання та васкуляризації ворсин. Синцитіотрофобласт плоский, розташований ланцюжком паралельно базальній мембрані, з деформованими ядрами – пікноз або ізольовані фрагменти. Цитоплазма синцитію представлена великими порожніми цистернами у зоні деструкції органел. Середня площа ворсин плаценти зменшена внаслідок дисоційованого розвитку ворсин у 6 (23,1 %) зразках, склерозу та хаотичного розташування ворсин – у 5 (19,2 %), гіпоплазії термінальних ворсин – у 6 (23,1 %), незрілості проміжних ворсин – в 1 (3,8 %) випадку. Мікрворсини поодинокі, з вакуолями, частина з них – у стадії некрозу та відторгнення. Відповідно зменшена й сумарна площа ворсин у судинах, індекс васкуляризації становив  $0,41 \pm 0,04$  ум. од. Цитотрофобласт плоский, розташований уздовж мембрани, з ядрами неправильної форми. Основна речовина базальної мембрани потовщена внаслідок наявності колагену та фібрину. Клітин-

**Таблиця 1.** Індекс експресії TNF- $\alpha$  у структурах ворсинчастого хоріона й ендометрія груп дослідження,  $M \pm m$ , ум. од.

Індекс експресії (IE)	Група	
	контрольна, n = 20	основна, n = 22
Епітелій хоріона	$1,90 \pm 0,06$	$2,40 \pm 0,01^{**}$
Цитотрофобласт клітинних острівців	$1,50 \pm 0,03$	$2,20 \pm 0,01^{**}$
Децидуальні клітини	$1,40 \pm 0,02$	$2,10 \pm 0,01^{*}$
Внутрішньосудинний цитотрофобласт	$0,70 \pm 0,04$	$2,00 \pm 0,10^{**}$

\*: вірогідність різниці щодо показника контролю  $p < 0,01$ ; \*\*: вірогідність різниці щодо показника контролю  $p < 0,001$ .

**Таблиця 2.** Індекс експресії CD31/PECAM-1 у структурах ворсинчастого хоріона та ендометрія груп дослідження,  $M \pm m$ , ум. од.

Індекс експресії	Група	
	контрольна, n = 20	основна, n = 22
Епітелій хоріона	$1,52 \pm 0,04$	$1,55 \pm 0,01$
Ендотелій судин ВХ	$1,45 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,02$
Ендотелій спіральних артерій	$1,50 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,01^{*}$
Інтерстиціальний цитотрофобласт	$1,56 \pm 0,02$	$1,32 \pm 0,01^{**}$
Внутрішньосудинний цитотрофобласт	$2,50 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,01^{**}$

\*: вірогідність різниці щодо показника контролю  $p < 0,01$ ; \*\*: вірогідність різниці щодо показника контролю  $p < 0,001$ .

ний склад базальної мембрани перебував у стані денуклеації та деструкції органел і цитоплазми з формуванням оптично порожніх структур, що подібні до вакуолей. Порівняно з контролем середня площа клітин базальної децидуальної оболонки зменшена до  $263,6 \pm 11,8$  мкм<sup>2</sup>, а площа артерій з незавершеною гестаційною перебудовою збільшена у 8,3 раза ( $p < 0,01$ ).

Результати свідчать про незавершену трансформацію ендометріальних фрагментів спіральних артерій, що негативно впливає на трансформацію децидуальних клітин і є одним із чинників розвитку передчасних пологів.

Ознаки висхідного інфікування плодкових оболонок (субхоріальний інтервілузит, вілузит та ексудативний хоріонамніоніт) спостерігали у 22 (84,6 %) зразках посліду. Базальний децидуїт, виявлений майже в половини плацент, є наслідком хронічного запального процесу ендометрія. На генералізацію запального процесу за участю судинного річища плода вказує аналіз 17 (65,4 %) зразків плаценти. На порушення плодового кровообігу вказують вогнища псевдоінфаркту (в 12 (46,2 %) зразках плаценти), стеноз судин і склероз строми усіх типів ворсин (7 (26,9 %) і 16 (61,5 %) зразків відповідно). Про розлад материнського кровообігу свідчать ділянки хронічного геморагічного інфаркту – у 3 (11,5 %) зразках плаценти, тромбозу міжворсинчастого простору – 2 (7,7 %), тромбозу венозних синусів – у 2 (7,7 %) випадках. Гостре порушення матково-плацентарного кровообігу (відшарування плаценти) встановили у 3 (11,5 %) випадках. В 1 (3,8 %) випадку відшаруванню плаценти передували розлади саме материнського кровообігу – тромбоз міжворсинчастого простору й венозних синусів.

Адаптивні процеси в більшості плацент основної групи (57,7 %) представлені дилатацією капілярів термінальних ворсин. Компенсація, як відповідь на пошкодження, супроводжувалась утворенням

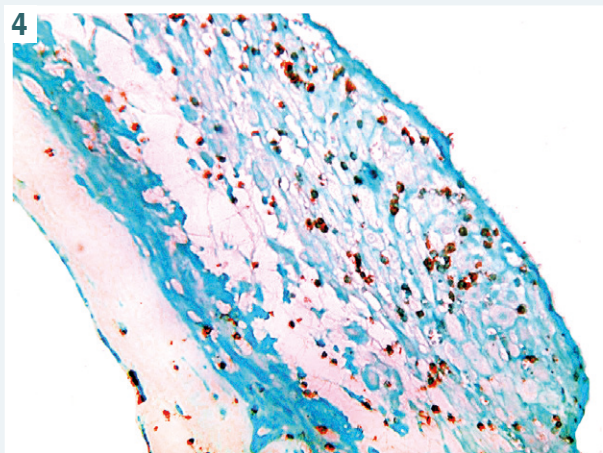
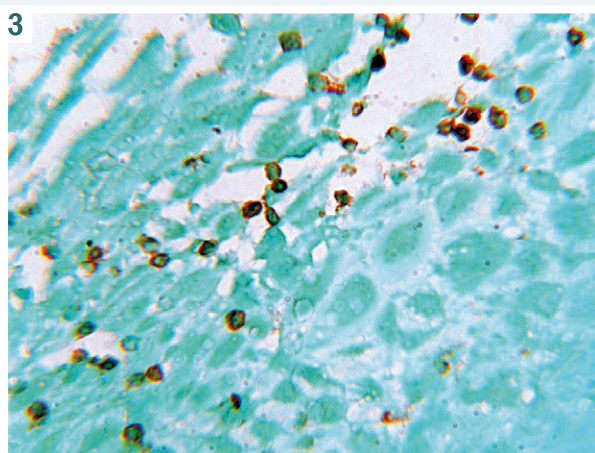
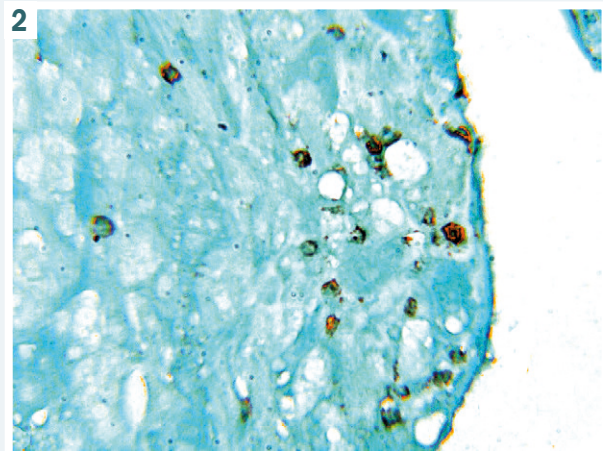
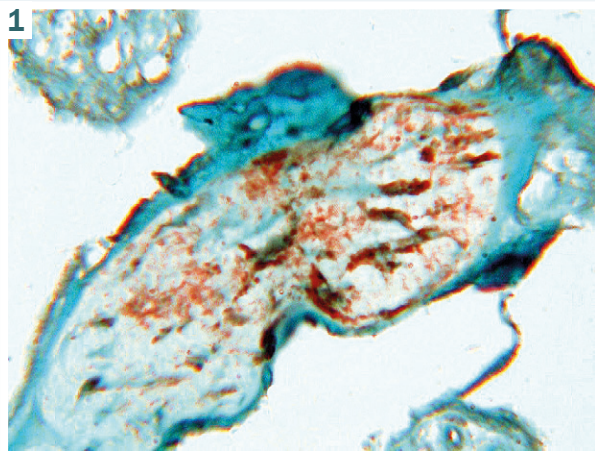


Рис. 1. Плацента основної групи (23 тижнів гестації). Проміжна ворсина. Помірна експресія TNF- $\alpha$ . 36. 10 $\times$ 40.  
 Рис. 2. Плацента основної групи (28 тижнів гестації). Децидуальна оболонка. Помірна експресія CD45 в. 36. 10 $\times$ 40.  
 Рис. 3. Плацента основної групи (30 тижнів гестації). Децидуальна оболонка. Помірна та поширена експресія CD45. 36. 10 $\times$ 40.  
 Рис. 4. Плацента основної групи (35 тижнів гестації). Децидуальна оболонка. Поширена та виражена експресія CD45. 36. 10 $\times$ 20.

**Таблиця 3.** Показник експресії CD45/T200/LCA у структурах плаценти при НВ у різні терміни гестації, %

Термін гестації (тижні)	Структури плаценти							
	ДО	МВП	Ворсини					
			стовбурові		проміжні		термінальні	
			судини	строма	судини	строма	судини	строма
23–29	5–15	0–1	1	1	2	2	0	0
30–34	15–40	0–2	2	1	2	2	0–1	0–1
35–37	40–50	2–5	2	1–2	3	3	1–2	1–2

«синцитіальних бруньок» у 24 (92,3 %) випадках, гіперплазією термінальних ворсин – у 12 (46,2 %), формуванням синцитіокапілярних мембран – у 6 (23,1 %), гіперплазією капілярів термінальних ворсин – у 2 (7,7 %) випадках. У зразках плаценти основної групи на підставі зіставлення деструктивних, адаптивних і компенсаторних процесів виявили субкомпенсовану та декомпенсовану форму хронічної плацентарної дисфункції – 8 (30,8 %) і 3 (11,5 %) випадки відповідно.

Отже, структурні та функціональні зміни у плаценті: гіпоплазія органа, запалення, порушення дозрівання ворсин хоріона, розлади матково-пла-

центарного кровообігу, порушення трансформації спіральних артерій, – утворюють морфологічний субстрат хронічної плацентарної дисфункції, що в разі декомпенсації зумовлює передчасний розвиток пологової діяльності.

Цитокиновий профіль у випадку передчасних пологів представлений помірною експресією TNF- $\alpha$  в інвазивному цитотрофобласті –  $1,60 \pm 0,02$  ум. од., децидуальних клітинах –  $1,50 \pm 0,01$  ум. од. і термінальних ворсинах –  $0,80 \pm 0,01$  ум. од. порівняно з неускладненим перебігом вагітності ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Індекс експресії (ІЕ) CD31 в ендотелії судин ворсин плаценти не відрізняється від показника контролю і становить  $2,22 \pm 0,01$  ум. од. В інших структурах плаценти експресія CD31/PECAM-1 сумнівна.

Наявність запального процесу у структурах плаценти при НВ визначили на підставі експресії CD45/T200/LCA після 22 тижнів гестації. За даними, що наведені в таблиці 3, маркером передчасних пологів є надмірна експресія CD45/T200/LCA, що прогресує з терміном вагітності, саме в децидуальній оболонці (ДО) (рис. 2–4). У міжворсинчастому просторі (МВП) та стромі частини ворсин експресія CD45/T200/LCA в рази менша.



Поряд зі змінами запального характеру у 2 (7,7 %) зразках плаценти від передчасних пологів у 23–29 тижнів гестації виявили ворсини, що мають справжні синцитіокапілярні мембрани й за структурою схожі на термінальні спеціалізовані ворсини, наявність яких тільки з 32 тижнів гестації вважають нормальною. Отже, передчасне дозрівання ворсин негативно впливає на перебіг вагітності, призводить до прямих репродуктивних утрат. Одночасно зі змінами, що описали, в децидуальній оболонці визначили помірну експресію TNF- $\alpha$ .

У зразках плаценти від пологів у 30–34 тижні гестації встановили колагенізацію та фіброз стріми зі зменшенням фетальних судин, проліферацію фібробластів стріми, збільшення міжворсинчастого фібрину. Зміни запального характеру прогресують. Експресія CD45/T200/LCA стає виразнішою в децидуальній оболонці, міжворсинчастому просторі та в судинах стовбурових ворсин.

У випадку передчасних пологів у 35–37 тижнів гестації запальні зміни у плаценті набувають надмірного й поширеного характеру. Позитивна експресія CD45/T200/LCA зосереджена в децидуальній оболонці, міжворсинчастому просторі, судинах і стрімі ворсин. За морфологічними ознаками, у зразках плаценти прогресують дистрофічні зміни синцитію та цитотрофобласта, деструкція стріми ворсин, повнокров'я судин усіх типів ворсин, з'являються вогнища крововиливу в міжворсинчастий простір і велика кількість ворсин, які «замуровані» у фібрин.

## Обговорення

У 45,8 % жінок основної групи поточна вагітність припинила розвиток до 12 тижнів гестації. Передумови переривання вагітності: гіперкоагуляція – 71,4 % випадків, запальний процес статевих органів – 42,9 %, порушена секреція статевих гормонів – 42,9 % спостережень. Тромбофілію визначили в самостійну групу чинників, що спричиняють НВ [26]. Генетично зумовлені або набуті зміни гемостазу порушують процеси імплантації, плацентарної та зростання плода шляхом розвитку системної ендотеліальної дисфункції, активації прозапальної відповіді, формування прокоагуляційного потенціалу, що утворює основу патогенезу ранніх преембріональних втрат і пізніх акушерських ускладнень. Серед факторів, що забезпечують збереження вагітності на ранніх термінах, особливе місце належить статевим гормонам, продукцію яких на початку вагітності здійснює жовте тіло. Наслідком гіперпролактинемії, що виявлена у 37,1 % жінок основної групи, є блокування секреції лютеїнізуючого гормону, зниження чутливості яєчників до дії екзогенних та ендогенних гонадотропінів, зниження секреції прогестерону. Дефіцит прогестерону призводить до порушення секреторного розвитку ендометрія та «вікна для імплантації», впливає на біосинтез ХГЛ і зумовлює загрозу переривання вагітності/абортів на ранніх термінах [1].

Результати гістологічного дослідження підтверджують, що мимовільному викидню в I триместрі передують структурні зміни ендометрія: сповільнена

децидуалізація стріми, вогнищеве запалення, редукція цитотрофобластичних проліфератів, порушене гестаційне ремоделювання ендометріальних фрагментів спіральних артерій; у зв'язку з цим неспроможною є перша хвиля інвазії цитотрофобласта.

У ворсинчастому хоріоні порушуються темпи зростання ворсин, зменшується їхня площа; сповільнено відбувається диференціювання мезенхімальних ворсин. У ворсинах визначили недостатню васкуляризацію, набряк і склероз. Паралельно порушується співвідношення цитокінів, яке представлене виразною експресією TNF- $\alpha$  у структурах ендометрія та ворсинчастого хоріона, низькою експресією CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті. У відповідь на проникнення бластоцисти виникає запальна реакція. У ділянку імплантації з крові мігрують лімфоцити, макрофаги, гранулоцити, що відіграють імунорегуляторну роль у модуляції чутливості рецепторів ендометрія. Через систему TNF- $\alpha$  відбувається зсув імунної відповіді в бік вродженого імунітету з перевагою Th-2 типу відповіді, що важливо на етапі ранніх термінів вагітності. Але TNF- $\alpha$  – типовий представник прозапальних цитокінів, надмірна експресія якого пошкоджує трофобласт унаслідок цитотоксичного ефекту [15]. Так, при НВ (5–12 тижнів гестації) саме виразну експресію TNF- $\alpha$  спостерігали в синцитіотрофобласті та цитотрофобласті. ІЕ TNF- $\alpha$  у клітинних острівцях цитотрофобласта й вільних симпластах ворсинчастого хоріона перевищував показник контролю щонайменше в 1,25 раза; в децидуальних клітинах базального шару ендометрія – в 1,5 раза; у внутрішньосудинному цитотрофобласті – у 2,9 раза. Виразна експресія TNF- $\alpha$  у структурах ворсинчастого хоріона та гравідарного ендометрія при НВ свідчить про зміщення імунологічного балансу в бік прозапальної реакції. На тлі виразної експресії TNF- $\alpha$  епітелій ворсин хоріона перебуває у стані гіпорегенерації з субтотальною редукцією цитотрофобласта. Крім того, TNF- $\alpha$  здатен викликати апоптоз клітин стріми ендометрія, пригнічувати децидуалізацію, відставання темпів якої призводить до формування первинної плацентарної дисфункції. Передумовою надмірної продукції TNF- $\alpha$  є хронічний запальний процес статевих органів [19,24,27]. Низька експресія CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті вказує на відсутність своєчасної трансформації ендометріальних фрагментів спіральних артерій і показує порушення цитотрофобластичної інвазії.

Отже, патоморфологічні зміни, що відбуваються в ендометрії, ворсинчастому хоріоні, на тлі виразної експресії TNF- $\alpha$  в синцитіотрофобласті, цитотрофобласті, стрімі ендометрія та низької експресії CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті, утворюють основу первинної плацентарної дисфункції, що завершується викиднем.

Структурні та функціональні зміни у плаценті: гіоплазія органа, запалення, порушення дозрівання ворсин хоріона, розлади матково-плацентарного кровообігу, порушення трансформації спіральних ар-

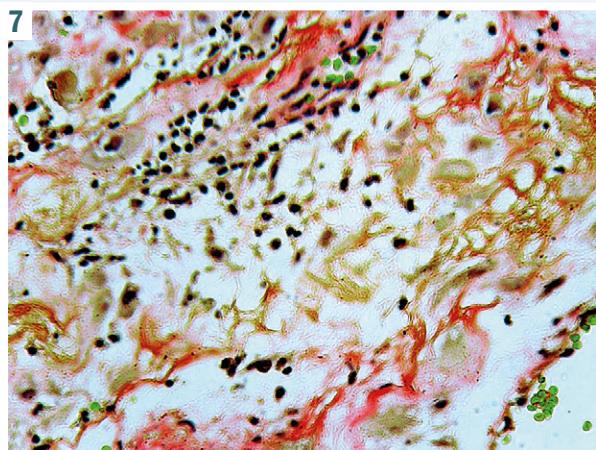
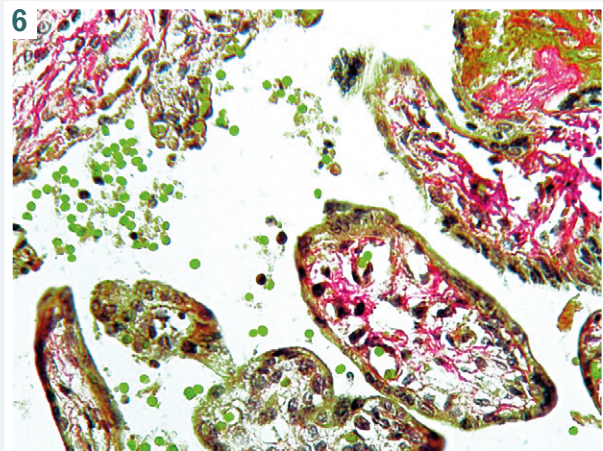
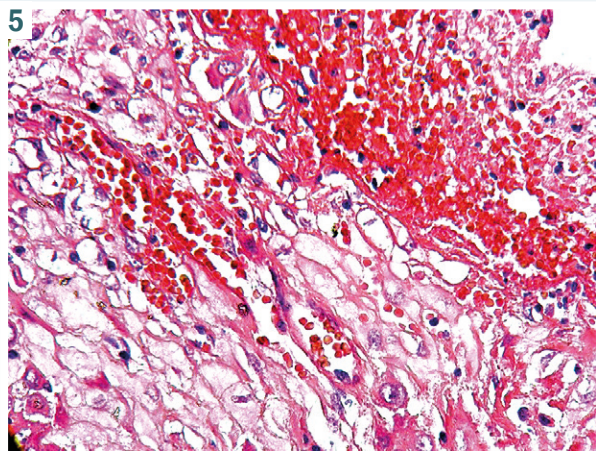


Рис. 5. Плацента основної групи (23 тижні гестації). Децидуальна оболонка. Вогнище крововиливу та повнокров'я судин. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. 10×20.

Рис. 6. Плацента основної групи (23 тижні гестації). набряк стромі та дистрофічні зміни синцитію та цитотрофобласта. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. 10×20.

Рис. 7. Плацента основної групи (28 тижнів гестації). Децидуальна оболонка. Вогнища запальної інфільтрації та набряку. Забарвлення за ван Гізоном. Зб. 10×20.

терій, – становлять морфологічний субстрат хронічної плацентарної дисфункції, що в разі декомпенсації зумовлює передчасний розвиток пологової діяльності.

Цитокиновий профіль у випадку передчасних пологів представлений помірною експресією TNF- $\alpha$  в інвазивному цитотрофобласті, децидуальних клітинах і термінальних ворсинах. IE CD31 в ендотелії судин ворсин плаценти перебував у межах норми. В інших структурах плаценти експресія CD31/PECAM-1 сумнівна.

Вишальна роль у розвитку передчасного переривання вагітності належить запаленню. Інфекційний збудник активує фагоцитоз і синтез низькомолекулярних медіаторів запалення, стимулює продукцію прозапальних цитокинів; результат – розм'якшення та вкорочення шийки матки, передчасний вилів навколоплідних вод.

Морфологічний субстрат запального компонента у плаценті – специфічний до терміну передчасних пологів (рис. 5–7).

У випадку передчасних пологів у 23–29 тижнів гестації у структурах плацентарного бар'єра виявили розлад кровообігу зі стазом і повнокров'ям судин, крововилив у децидуальну оболонку, набряк стромі частини ворсин, дистрофічні зміни синцитію та цитотрофобласта, збільшення об'єму міжворсинчастого фібрину з ділянками ворсин, що повністю «замуро-

вані» у фібрин. Водночас визначили ворсини, які за структурою схожі на термінальні. Це вказує на їхнє передчасне дозрівання, що негативно впливає на перебіг вагітності.

Маркером передчасних пологів після 22 тижнів гестації є вкрай виразна експресія CD45/T200/LCA, що прогресує, в децидуальній оболонці. У міжворсинчастому просторі та стромі частини ворсин експресія CD45/T200/LCA в рази менша.

У зразках плаценти від передчасних пологів у 30–34 тижні гестації прогресують зміни запального характеру: експресія CD45/T200/LCA стає виразнішою в децидуальній оболонці, міжворсинчастому просторі, судинах стовбурових ворсин; відбувається колагенізація та фіброз стромі зі зменшенням фетальних судин, проліферація фіброblastів стромі, збільшення міжворсинчастого фібрину. У випадку передчасних пологів в 35–37 тижнів гестації зміни запального характеру в плаценті набувають у край виразного й поширеного характеру: ділянки запальної інфільтрації зосереджено в децидуальній оболонці, міжворсинчастому просторі, судинах і стромі ворсин. Прогресують дистрофічні зміни синцитію та цитотрофобласта, деструкція стромі ворсин, повнокров'я судин усіх типів ворсин, з'являються вогнища крововиливу в міжворсинчастий простір.

У результаті імуногістохімічного аналізу зразків хоріона та плаценти, що отримані в результаті пе-

редчасного переривання вагітності в різні терміни, та визначення цитокінових маркерів HB, вдалося поглибити уявлення щодо механізму репродуктивних втрат, де пусковим моментом є ембріо-ендометріальна дисфункція.

## Висновки

1. Основа невиношування вагітності в ранні терміни – ембріо-ендометріальна дисфункція. Цитокіновим маркером невиношування вагітності ранніх термінів є виражена експресія TNF- $\alpha$  у структурах ворсинчастого хоріона та гравідарного ендометрія, низька експресія CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному цитотрофобласті.

2. Передумова передчасних пологів – запалення. Маркером запалення є помірна експресія TNF- $\alpha$  в інвазивному цитотрофобласті, децидуальних клітинах і термінальних ворсинах плаценти та надмірна експресія CD45/T200/LCA в децидуальній оболонці.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати є підґрунтям для створення стандарту лікувальних заходів щодо запобігання репродуктивним втратам на прегравідарному етапі та протягом гестації в жінок із невиношуванням вагітності.

## Подяка

Автори роботи висловлюють подяку за допомогу у здійсненні дослідження хоріона та плаценти керівнику лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» доктору медичних наук, професору, члену-кореспонденту НАМН України Т. Д. Задорожній та молодшому науковому співробітнику лабораторії патоморфології Г. Г. Стратійчук.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 10.03.2020

Після доопрацювання / Revised: 30.04.2020

Прийнято до друку / Accepted: 08.05.2020

## Відомості про авторів:

Живецька-Денисова А. А., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення наукових проблем невиношування вагітності, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-8418-5740](https://orcid.org/0000-0001-8418-5740)

Воробйова І. І., д-р мед. наук, керівник відділення наукових проблем невиношування вагітності, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-6836-5845](https://orcid.org/0000-0002-6836-5845)

Скрипченко Н. Я., д-р мед. наук, керівник відділення впровадження та вивчення ефективності сучасних медичних технологій в акушерстві та перинатології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-2849-8499](https://orcid.org/0000-0003-2849-8499)

Ткаченко В. Б., канд. мед. наук, провідний науковий співробітник відділення наукових проблем невиношування вагітності, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-6622-9324](https://orcid.org/0000-0001-6622-9324)

## Information about authors:

Zhyvetska-Denysova A. A. MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Vorobiova I. I., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Skrypchenko N. Ya., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Introduction and Research of Modern Medical Technologies Effectiveness in Obstetrics and Perinatology, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Tkachenko V. B., MD, PhD, Leading Researcher of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

## Сведения об авторах:

Живецкая-Денисова А. А., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Воробьева И. И., д-р мед. наук, руководитель отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Скрипченко Н. Я., д-р мед. наук, руководитель отделения

внедрения и изучения эффективности современных медицинских технологий в акушерстве и перинатологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Ткаченко В. Б., канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

## Список літератури

- Невиношування вагітності: сучасні підходи до діагностики, профілактики та лікування / А. А. Живецька-Денисова, І. І. Воробйова, В. Б. Ткаченко, Н. В. Рудакова. *Перинатологія і педіатрія*. 2017. № 2. С. 91-98. <https://doi.org/10.15574/pp.2017.70.91>
- Стрижаков А. Н., Белоусова В. С., Свитич О. А. Клиническое значение Toll-подобных рецепторов в патогенезе преждевременных родов. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2016. Т. 15. № 1. С. 35-40. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2016-1-35-40>
- Визначення ролі поліморфізму генів-кандидатів у передчасному перериванні вагітності різних термінів / І. І. Воробйова, Н. Я. Скрипченко, В. Б. Ткаченко та ін. *Перинатологія і педіатрія*. 2016. № 3. С. 61-65.
- Нарушение процессов ангиогенеза, апоптоза и пролиферации в тканях плодного яйца и эндометрии при неразвивающейся беременности в I триместре / Н. А. Семенцова, Ю. Н. Пономарева, Т. Г. Барсанова, О. В. Зайратьянц. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2012. № 3. С. 11-16.
- Сигнальные рецепторы врожденного иммунитета в индукции апоптоза при невынашивании беременности ранних сроков / О. П. Лебедева, С. П. Пахомов, О. Н. Ивашова и др. *Акушерство и гинекология*. 2015. № 2. С. 39-43.
- Alijotas-Reig J., Lurba E., Gris J. M. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*. 2014. Vol. 35, Iss. 4. P. 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.02.004>
- Батрак Н. В., Малышкина А. И., Крошкина Н. В. Иммунологические аспекты привычного невынашивания беременности. *Акушерство и гинекология*. 2014. № 12. С. 10-14.
- Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery / N. M. Jones, C. Holzman, K. H. Frederici et al. *Journal of reproductive immunology*. 2010. Vol. 87, Iss. 1-2. P. 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.06.158>
- Роль нарушения цитокінового профіля в зниженні фертильності / Л. В. Чернобай, А. Н. Тищенко, В. В. Лазуренко и др. *Міжнародний медичний журнал*. 2016. № 2. С. 38-43. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh\\_2016\\_22\\_2\\_10](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2016_22_2_10)

- [10] Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion / J. Yuan, J. Li, S. Y. Huang, X. Sun. *Journal of reproductive immunology*. 2015. Vol. 110. P. 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>
- [11] Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности / Ю. Э. Доброхотова, Л. В. Ганковская, И. В. Бахарева и др. *Акушерство и гинекология*. 2016. № 7. С. 5-10. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>
- [12] Плацента як дзеркало вагітності (Огляд літератури) / А. А. Живецька-Денисова, І. І. Воробйова, В. Б. Ткаченко та ін. *Здоров'я жінки*. 2019. № 3. С. 101-106.
- [13] Патология плаценты (современные аспекты) / под ред. Ю. Г. Антипкина, Т. Д. Задорожной, О. И. Парницкой. Киев : ООО «Атопол», 2016. 127 с.
- [14] Immune cells in term and preterm labor / N. Gomez-Lopez, D. StLouis, M. A. Lehr et al. *Cellular & molecular immunology*. 2014. Vol. 11, Iss. 6. P. 571-581. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.46>
- [15] Azizieh F. Y., Raghupathy R. G. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and pregnancy complications: a prospective study. *Medical principles and practice*. 2015. Vol. 24, Iss. 2. P. 165-170. <https://doi.org/10.1159/000369363>
- [16] Matson B. C., Caron K. M. Uterine natural killer cells as modulators of the maternal-fetal vasculature. *The International journal of developmental biology*. 2014. Vol. 58, Iss. 2-4. P. 199-204. <https://doi.org/10.1387/ijdb.140032kc>
- [17] The role of VEGF and its receptors in the etiology of early pregnancy loss / I. Cöl-Madendag, Y. Madendag, S. Ö. Altinkaya et al. *Gynecological endocrinology*. 2014. Vol. 30, Iss. 2. P. 153-156. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.864272>
- [18] Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium / H. Okada, T. Tsuzuki, H. Shindoh et al. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2014. Vol. 40, Iss. 5. P. 1180-1187. <https://doi.org/10.1111/jog.12392>
- [19] Васкуляризація ворсин хориона в першому триместрі вагітності при фізіологічному теченні і звичайному невынаванні на фоні хронічного ендометриозу / Л. П. Перетятко, Н. В. Фатеева, Р. А. Кузнецов, А. И. Малышкина. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова*. 2017. Т. 25. № 4. С. 612-620. <https://doi.org/10.23888/PAVLQVJ20174612-620>
- [20] Interleukin 10 and tumor necrosis factor-alpha in pregnancy: aspects of interest in clinical obstetrics / J. Brogin Moreli, A. M. Cirino Ruocco, J. M. Vernini et al. *ISRN obstetrics and gynecology*. 2012. Vol. 2012. P. 230742. <https://doi.org/10.5402/2012/230742>
- [21] Comparison of Serum and Cervical Cytokine Levels throughout Pregnancy between Preterm and Term Births / K. Ashford, N. R. Chavan, A. T. Wiggins et al. *AJP reports*. 2018. Vol. 8, Iss. 2. P. e113-e120. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1656534>
- [22] Щеголев А. И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты. *Акушерство и гинекология*. 2016. № 4. С. 16-23. <https://doi.org/10.18565/aig.2016.4.16-23>
- [23] Pathology of the Placenta: A Practical Guide / eds. T. Y. Khong, E. E. Mooney, P. G. J. Nikkels et al. Switzerland: Springer Nature, 2019. 395 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-97214-5>
- [24] Особливості місцевого імунітету у жінок з невиношуванням / І. І. Воробйова, А. А. Живецька-Денисова, Н. В. Рудакова та ін. *Перинатологія і педіатрія*. 2017. № 4. С. 49-53.
- [25] Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Москва : Медицина. 1990. 384 с.
- [26] Путилова Н. В. Тромбофилии и беременность: прогнозирование перинатальных осложнений и оптимизация тактики ведения. *Акушерство и гинекология*. 2011. № 4. С. 31-35.
- [27] Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss / D. B. McQueen, C. O. Perfetto, F. K. Hazard, R. B. Lathi. *Fertility and sterility*. 2015. Vol. 104, Iss. 4. P. 927-931. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.044>
- [4] Sementsova, N. A., Ponomareva, Ju. N., Barsanova, T. G., & Zayratyants, O. V. (2012). Narushenie protsessov angiogeneza, apoptoza i proliferatsii v tkanyakh plodnogo yaitsa i endometrii pri nerazvivayushcheysya beremennosti v I trimestre. [Disorders of angiogenesis, apoptosis and proliferation in the tissue of the gestational sac and endometrium in non-developing pregnancy]. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya*, (3), 11-16. [in Russian].
- [5] Lebedeva, O. P., Pakhomov, S. P., Ivashov, O. N., Startseva, N. Yu., & Churnosov, M. I. (2015). Signalnye receptory vrozhdennoho immuniteta v indukcii apoptoza pri nevnashivanii beremennosti rannih srokov [Signal receptors of congenital immunity in the induction of apoptosis in the case of miscarriages of early pregnancy]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (2), 39-43. [in Russian].
- [6] Alijotas-Reig, J., Llurba, E., & Gris, J. M. (2014). Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*, 35(4), 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.02.004>
- [7] Batrak, N. V., Malyshkina, A. I., & Kroshkina, N. V. (2014). Immunologicheskie aspekty privychnogo nevnashivaniya beremennosti [Immunological aspects of habitual miscarriage]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (12), 10-14. [in Russian].
- [8] Jones, N. M., Holzman, C., Friderici, K. H., Jernigan, K., Chung, H., Wirth, J., & Fisher, R. (2010). Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery. *Journal of reproductive immunology*, 87(1-2), 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.06.158>
- [9] Chernobai, L. V., Tyshchenko, A. N., Lazurenko, V. V., Muryzina, I. Yu., & Yurkova, O. V. (2016). Rol' narusheniya tsitokinovogo profilya v snizhenii fert'lnosti [The role of cytokine profile disruption in fertility reduction]. *Mizhnarodnyi medychnyi zhurnal*, (2), 38-43. [in Russian].
- [10] Yuan, J., Li, J., Huang, S. Y., & Sun, X. (2015). Characterization of the subsets of human NKT-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Journal of reproductive immunology*, 110, 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>
- [11] Dobrokhotova, Yu. E., Gankovskaya, L. V., Bakhareva, I. V., Svitich, O. A., Malushenko, S. V., & Magomedova, A. M. (2016). Rol' immunnikh mekhanizmov v patogeneze nevnashivaniya beremennosti [Role of immune mechanisms in the pathogenesis of miscarriage]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (7), 5-10. [in Russian]. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>
- [12] Zhivetskaya-Denisova, A. A., Vorobyova, I. I., Tkachenko, V. B., Podolskiy, V. V., & Tykha, V. G. (2019). Placenta yak dzerkalo vahitnosti (Ohliad literatury) [Placenta - mirror of pregnancy (literature review)]. *Zdorov'e zhenshchiny*, (3), 101-106. [in Ukrainian].
- [13] Antipkin, Yu. G., Zadorozhnaya, T. D., & Parnitskaya, O. I. (Eds.). (2016). *Patologiya placenty (sovremennye aspekty)* [Pathology of placenta: modern aspects]. Kyiv. [in Russian].
- [14] Gomez-Lopez, N., StLouis, D., Lehr, M. A., Sanchez-Rodriguez, E. N., & Arenas-Hernandez, M. (2014). Immune cells in term and preterm labor. *Cellular & molecular immunology*, 11(6), 571-581. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.46>
- [15] Azizieh, F. Y., & Raghupathy, R. G. (2015). Tumor necrosis factor- $\alpha$  and pregnancy complications: a prospective study. *Medical principles and practice*, 24(2), 165-170. <https://doi.org/10.1159/000369363>
- [16] Matson, B. C., & Caron, K. M. (2014). Uterine natural killer cells as modulators of the maternal-fetal vasculature. *The International journal of developmental biology*, 58(2-4), 199-204. <https://doi.org/10.1387/ijdb.140032kc>
- [17] Cöl-Madendag, I., Madendag, Y., Altinkaya, S. Ö., Bayramoglu, H., & Danisman, N. (2014). The role of VEGF and its receptors in the etiology of early pregnancy loss. *Gynecological endocrinology*, 30(2), 153-156. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.864272>
- [18] Okada, H., Tsuzuki, T., Shindoh, H., Nishigaki, A., Yasuda, K., & Kanzaki, H. (2014). Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium: mini review. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, 40(5), 1180-1187. <https://doi.org/10.1111/jog.12392>
- [19] Peretiak, L. P., Fateeva, N. V., Kuznetsov, R. A., & Malyshkina A. I. (2017). Vaskulyarizatsiya vorsin khoriона v pervom trimestre beremennosti pri fiziologicheskoy techenii i privychnom nevnashivanii na fone khronicheskogo endometrita [Vascularization of chorion villi in the first trimester of gestation with physiological course and in recurrent miscarriage with underlying chronic endometritis]. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 25(4), 612-620. [in Russian]. <https://doi.org/10.23888/PAVLQVJ20174612-620>
- [20] Brogin Moreli, J., Cirino Ruocco, A. M., Vernini, J. M., Rudge, M. V., & Calderon, I. M. (2012). Interleukin 10 and tumor necrosis factor-alpha in pregnancy: aspects of interest in clinical obstetrics. *ISRN obstetrics and gynecology*, 2012, 230742. <https://doi.org/10.5402/2012/230742>

## References

- [1] Zhivetskaya-Denisova, A. A., Vorobyova, I. I., Tkachenko, V. B., & Rudakova, N. V. (2017). Nevnashivannia vahitnosti: suchasni pidkhody do diahnostyky, profilyaktyky ta likuvannia [Miscarriage of pregnancy: modern approaches to diagnostics, prevention, treatment]. *Perinatologiya i pediatriya*, (2), 91-98. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/pp.2017.70.91>
- [2] Strizhakov, A. N., Belousova, V. S., & Svitich, O. A. (2016). Klinicheskoe znachenie Toll-podobnykh receptorov v patogeneze prezhdevremennykh rodov [Clinical significance of Toll-like receptors in the pathogenesis of preterm labor]. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii*, 15(1), 35-40. [in Russian]. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2016-1-35-40>
- [3] Vorobyova, I. I., Skripchenko, N. I., Tkachenko, V. B., Rudakova, N. V., Zhivetskaya-Denisova, A. A., & Tolkach, S. M. (2016). Vyznachennia roli polimorfizmu heniv-kandydativ u peredchasnomu pereryvanni vahitnosti riznykh terminiv [Defining the role of polymorphism of genes

- [21] Ashford, K., Chavan, N. R., Wiggins, A. T., Sayre, M. M., McCubbin, A., Critchfield, A. S., & O'Brien, J. (2018). Comparison of Serum and Cervical Cytokine Levels throughout Pregnancy between Preterm and Term Births. *AJP reports*, 8(2), e113-e120. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1656534>
- [22] Shchegolev, A. I. (2016). Sovremennaya morfologicheskaya klassifikatsiya povrezhdenii platsenty [Current morphological classification of damages to the placenta]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (4), 16-23. [in Russian]. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.4.16-23>
- [23] Khong, T. Y., Mooney, E. E., Nikkels, P. G. J., Morgan, T. K., & Gordijn, S. J. (Eds.). (2019). *Pathology of the Placenta: A Practical Guide*. Switzerland: Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-97214-5>
- [24] Vorobjova, I. I., Zhivetska-Denisova, A. A., Rudakova, N. V., Tkachenko, V. B., Tolkach, S. M., & Nakvasiuk, T. S. (2017). Osoblyvosti mistsevoho imunitetu u zhinok z nevyynoshuvanniam [Features of local immunity in women with miscarriage]. *Perinatologiya i pediatriya*, (4), 49-53. [in Ukrainian].
- [25] Avtandilov, G. G. (1990). *Medicinskaya morfometriya* [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina. [in Russian].
- [26] Putilova, N. V. (2011). Trombofilii i beremennost': prognozirovanie perinatal'nykh oslozhenii i optimizatsiya taktiki vedeniya [Thrombophilia and pregnancy: prediction of perinatal complications and optimization of management tactics]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (4), 31-35. [in Russian].
- [27] McQueen, D. B., Perfetto, C. O., Hazard, F. K., & Lathi, R. B. (2015). Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*, 104(4), 927-931. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.044>

# Вікові клініко-лабораторні особливості первинної Епштейна-Барр вірусної інфекції в дітей

О. В. Конакова<sup>\*A,B,C,D</sup>, О. В. Усачова<sup>A,E,F</sup>, Є. А. Сіліна<sup>B</sup>, Т. М. Пахольчук<sup>B</sup>, О. А. Дралова<sup>B,C</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

## Ключові слова:

діти, ВЕБ, інфекційний мононуклеоз, гепатит.

Патологія. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 202-208

\*E-mail: [olgakonakova14@gmail.com](mailto:olgakonakova14@gmail.com)

**Мета роботи** – вивчити вікові особливості клініко-лабораторних проявів первинної Епштейна-Барр вірусної інфекції (ЕБВІ) в дітей.

**Матеріали та методи.** Виконали ретроспективне дослідження, що включало демографічні, клініко-лабораторні дані 104 дітей, які хворі на інфекційний мононуклеоз Епштейна-Барр вірусної етіології. Аналіз включав серологічно підтверджені випадки – наявність IgM до капсидного антигена вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) (VCA IgM) і відсутність антитіл до ядерного антигена ВЕБ (EBNA IgG).

**Результати.** Вік дітей становив 4,0 (2,6; 9,0) року. Максимальна госпітальна захворюваність на інфекційний мононуклеоз визначена у віковій групі від 2 до 5 років – 35,6 %, найменш численна група – діти від 12 до 17 років – 19,2 %. Рівень підвищення температури тіла був більшим у дітей молодших вікових груп. Ступінь збільшення шийних лімфатичних вузлів вірогідно більший у дітей шкільного віку та підлітків порівняно з пацієнтами раннього віку ( $p < 0,001$ ). Синдром тонзиліту частіше спостерігали в дітей віком від 2 до 11 років ( $p < 0,05$ ). Висипку виявили у 22,1 % ( $n = 23$ ) дітей. Наявність петехій характерніша для дітей віком понад 12 років. Синдром гепатоспленомегалії часто реєстрували у старшій віковій групі (50 %), рідко – в дітей перших 2 років життя (8,7 %). Цитолітичний синдром зареєстрували у 54,2 % пацієнтів віком 6–11 років і в кожного зі старшої вікової групи; в осіб раннього віку він виявлений у 34,8 % ( $p < 0,001$ ). Атипові мононуклеари визначили у 8,7 % дітей раннього віку й у 24,3–37,5 % хворих старшого віку.

**Висновки.** У дітей перших 2 років життя ЕБВІ характеризується менш виразними проявами захворювання: помірною шийною лімфаденопатією, нечастою спленомегалією та низькою частотою виявлення атипичних мононуклеарів. Встановили виражену різницю за частотою розвитку гепатиту при первинній ЕБВІ в дітей різного віку – зі збільшенням віку хворого середні значення активності АЛТ істотно та поступово збільшувалися.

## Key words:

children, EBV, infectious mononucleosis, hepatitis.

Pathologia 2020; 17 (2), 202-208

## Age clinical and laboratory features of primary Epstein-Barr viral infection in children

O. V. Konakova, O. V. Usachova, Ye. A. Silina, T. M. Pakholchuk, O. A. Dralova

**Aim:** to delineate the clinical presentation and laboratory profile of primary Epstein-Barr viral infection (EBVI) in children.

**Materials and methods.** A retrospective study was conducted on the demographic, clinical and laboratory data of 104 children with infectious mononucleosis due to Epstein-Barr virus (EBV) infection in children. The analysis included serologically confirmed cases – the presence of IgM to the capsid EBV antigen (VCA IgM) with the absence of antibodies to the nuclear EBV antigen (EBNA IgG).

**Results.** The mean age of children was 4.0 (2.6; 9.0) years. The maximum hospital morbidity for infectious mononucleosis was observed in children from 2 to 5 years – 35.6 % whereas in patients from 12 years to 17 years – 19.2 %. The mean peak temperature was higher in young children. The rate of the cervical lymphadenopathy was significantly higher in adolescents compared with infants ( $P < 0.001$ ). Tonsillitis syndrome was more commonly seen in children aged from 2 to 11 years ( $P < 0.05$ ). Rash was detected in 22.1 % ( $n = 23$ ) of children. The presence of petechiae was more common in older children. Hepatosplenomegaly syndrome was reported in 50 % of older children and only in 8.7 % of infants. Cytolytic syndrome was reported in 54.2 % of patients from 6 to 11 years and in 100 % of the adolescents from 12 to 17 years, although in infants it was only in 34.8 % ( $P < 0.001$ ). Atypical mononuclear cells were detected in 8.7% of early age children and in 24.3–37.5 % of older children.

**Conclusions.** Age differences were noted in clinical findings for cervical lymphadenopathy and splenomegaly, which were less common in children of the first 2 years. A significant difference in the incidence of hepatitis was found: with increasing age of the patient, the mean level of ALT increased significantly and gradually.

## Ключевые слова:

дети, ВЭБ, инфекционный мононуклеоз, гепатит.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 202-208

## Возрастные клинико-лабораторные особенности первичной Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей

О. В. Конакова, Е. В. Усачёва, Е. А. Силина, Т. Н. Пахольчук, А. А. Дралова

**Цель работы** – изучить современные возрастные особенности клинико-лабораторных проявлений первичной Эпштейна-Барр вирусной инфекции (ЭБВИ) у детей.

**Матеріали і методи.** Проведено ретроспективне дослідження, включавше демографічні, клініко-лабораторні дані 104 дітей, хворих інфекційним мононуклеозом Епштейна-Барр вірусної етіології. Аналіз включав серологічно підтверджені випадки – наявність IgM до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр (ВЭБ) (VCA IgM), відсутність антител до ядерного антигену ВЭБ (EBNA IgG).

**Результати.** Середній вік дітей склав 4,0 (2,6; 9,0) років. Максимальна госпітальна захворюваність інфекційним мононуклеозом відзначена в віковій групі від 2 до 5 років – 35,6 %, найменша – діти в віці від 12 до 17 років – 19,2 %. Рівень підвищення температури тіла був вищим у дітей молодшого віку. Степень збільшення шийних лімфатических вузлів достовірно вище у дітей шкільного віку та підлітків порівняно з пацієнтами раннього віку ( $p < 0,001$ ). Синдром тонзиліта частіше спостерігали у дітей в віці від 2 до 11 років ( $p < 0,05$ ). Сыпь відзначена у 22,1 % ( $n = 23$ ) дітей. Наявність петехій більш характерно для дітей в віці більш ніж 12 років. Відзначено, що синдром гепатоспленомегалії частіше реєстрували в старшій віковій групі (50 %), він був рідким у дітей перших 2 років життя (8,7 %). Цитолітичний синдром зареєстрований у 54,2 % пацієнтів в віці 6–11 років і у кожного з старшої вікової групи, в ранньому віці він відзначений у 34,8 % ( $p < 0,001$ ) дітей. Атипичні мононуклеари виявлені у 8,7 % дітей раннього віку і у 24,3–37,5 % пацієнтів старшого віку.

**Висновки.** У дітей перших 2 років життя ЕБВІ характеризується менш вираженими проявами захворювання: помірною шийною лімфаденопатією, низькою частотою виявлення спленомегалії та атипичних мононуклеарів. Встановлено значуще різництво в частоті розвитку гепатиту при первинній ЕБВІ у дітей різного віку – з підвищенням віку більші значення активності АЛТ суттєво і поступово збільшувались.

Епштейна-Барр вірусна інфекція (ЕБВІ) належить до найбільш поширених інфекційних захворювань людини. Антитіла до вірусу Епштейна-Барр (ВЭБ) виявляють у 60 % дітей перших 2 років життя та 80–100 % дорослих. Нині у світі відзначають збільшення кількості хворих на ЕБВІ, що пов'язано не тільки з покращенням якості діагностики, але й поширенням захворювання. Захворюваність на гостру форму ЕБВІ в різних країнах коливається від 4 до 45 на 100 тис. населення [2,3]. У країнах, що розвиваються, діти інфікуються у віці 3–5 років, майже 100 % повнолітнього населення інфіковано ВЭБ [7–9]. Діти раннього віку у країнах Північної Америки та Західної Європи часто уникають первинної ЕБВІ, її інфікування відбувається у старшій віковій групі. Діти першого року життя, навіть у випадку інфікування ВЭБ, рідко хворіють на інфекційний мононуклеоз через наявність материнських антител. У дітей віком до 3 років захворювання здебільшого перебігає безсимптомно або під маскою інших вірусних інфекцій. Однак специфічне дослідження дало змогу виявити первинну ЕБВІ в дітей із різних етнічних груп [6,8]. У багатьох дослідженнях доведено, що у клінічній картині захворювання наявні вікові відмінності, що зумовлюють розвиток передусім атипичних і легких форм інфекційного мононуклеозу в дітей раннього віку на відміну від підлітків із типовими, часто важкими формами захворювання [1–3,7,8].

## Мета роботи

Вивчити вікові особливості клініко-лабораторних проявів первинної Епштейна-Барр вірусної інфекції в дітей.

## Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективний аналіз 104 історій хвороби дітей із первинною ЕБВІ, які перебували на стаціонарному лікуванні у КНП «Запорізька інфекційна клінічна лікарня» ЗОР (головний лікар – В. Л. Шинкаренко) з 1 червня до 30 листопада 2018 р.

Після попереднього опрацювання всіх історій хвороб пацієнтів із діагнозом інфекційного мононуклеозу

( $n = 133$ ) проаналізували історії хвороб 104 осіб, які відповідали діагностичним критеріям первинної ЕБВІ:

- наявність принаймні 3 із таких класичних клінічних проявів: лихоманка, тонзилофарингіт, цервікальна лімфаденопатія, гепатомегалія або спленомегалія;
- серологічний профіль первинної ЕБВІ – наявність IgM до капсидного антигену ВЭБ (VCA IgM), відсутність антител до ядерного антигену ВЭБ (EBNA IgG).

За даними, що наведені на рис. 1, 14 пацієнтів мали гостру цитомегаловірусну інфекцію, 4 – хронічну цитомегаловірусну інфекцію, 8 – хронічну ЕБВІ, 3 – поєднання хронічної ЦМВ та ЕБВІ. Ці хворі виключені з дослідження.

Розглянули медичні записи в історіях хвороб і зібрали демографічні, клінічні та лабораторні дані про кожного пацієнта.

Дітей із первинною ЕБВІ поділили на 4 групи залежно від віку: перша група – від 1 до 2 років ( $n = 23$ ; 22,1 %); друга – від 2 до 5 років ( $n = 37$ ; 35,6 %); третя – від 6 до 11 років ( $n = 24$ ; 23,1 %), четверта – від 12 до 17 років ( $n = 20$ ; 19,2 %).

Вивчали клінічні прояви хвороби, результати загального аналізу крові, біохімічних, серологічних і молекулярних досліджень.

Лімфоцитоз визначали, якщо лімфоцитів крові більше ніж 70 % від загальної кількості лейкоцитів у дітей

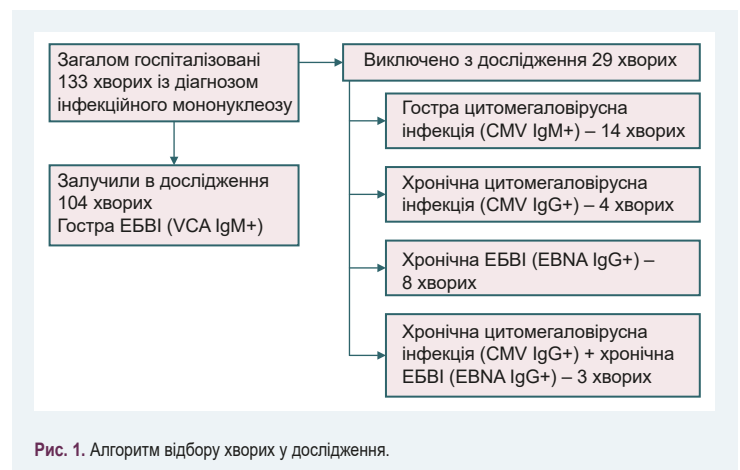


Рис. 1. Алгоритм відбору хворих у дослідження.

**Таблиця 1.** Частота реєстрації клініко-лабораторних ознак Епштейна–Барр вірусної інфекції в дітей різних вікових груп, n (%)

Клінічний симптом	Вікові групи, n (%)					p
	1 група, <2 років, n = 23	2 група, 2–5 років, n = 37	3 група, 6–11 років, n = 24	4 група, 12–17 років, n = 20	Загалом, n = 104	
Шийна лімфаденопатія	18 (78,3 %)	36 (97,3 %)	24 (100 %)	19 (95 %)	97 (93,3 %)	1–2: 0,001 1–4: 0,006 2–3: 0,001 2–4: 0,001
Тонзиліт	17 (73,9 %)	32 (86,5 %)	20 (83,3 %)	14 (70 %)	83 (79,8 %)	1–2: 0,001 1–3: 0,009 1–4: 0,090 2–3: 0,004 2–4: 0,050 3–4: 0,030
Гепатомегалія	23 (100 %)	37 (100 %)	24 (100 %)	18 (90 %)	102 (98,1 %)	–
Спленомегалія	2 (8,7 %)	15 (40,5 %)	9 (37,5 %)	10 (50 %)	36 (34,6 %)	1–2: 0,36 1–3: 0,04 1–4: 0,06 2–3: 0,03 2–4: 0,04 3–4: 0,37
Закладеність носа	13 (56,5 %)	25 (67,6 %)	17 (70,8 %)	11 (55 %)	66 (63,5 %)	1–2: 0,02 1–3: 0,21 1–4: 0,91 2–3: 0,40 2–4: 0,92 3–4: 0,14
Висип	7 (30,4 %)	6 (16,2 %)	3 (12,5 %)	7 (35 %)	23 (22,1 %)	1–2: 0,040 1–3: 0,005 1–4: 0,080 2–3: 0,001 2–4: 0,001 3–4: 0,001
Петехії	1 (4,3 %)	1 (2,7 %)	2 (8,3 %)	3 (15 %)	7 (6,7 %)	1–2: 0,001 1–3: 0,001 1–4: 0,001 2–3: 0,001 2–4: 0,001 3–4: 0,001
Лімфоцитоз,	13 (56,5 %)	10 (27 %)	5 (20,8 %)	11 (55 %)	39 (37,5 %)	1–2: 0,900 1–3: 0,250 1–4: 0,900 2–3: 0,001 2–4: 0,010 3–4: 0,280
Атипіві мононуклеарі, %	2 (8,7 %)	9 (24,3 %)	9 (37,5 %)	5 (25 %)	25 (24 %)	1–2: 0,040 1–3: 0,040 1–4: 0,003 2–3: 0,003 2–4: 0,001 3–4: 0,260
Підвищення активності АлАТ	8 (34,8 %)	10 (27 %)	13 (54,2 %)	20 (100 %)	51 (49 %)	1–2: 0,370 1–3: 0,780 2–3: 0,003

1–2: p-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 2 (2–5 років); 1–3: p-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 3 (6–11 років); 1–4: p-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 4 (12–17); 2–3: p-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 3 (6–11 років); 2–4: p-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 4 (12–17); 3–4: p-значення при порівнянні групи 3 (6–11 років) і групи 4 (12–17).

віком до 3 років, 60 % – 4–6 років, 55 % – 7–11 років, 50 % – 12–17 років; тромбоцитопенію діагностували, коли кількість тромбоцитів була менше ніж  $150 \times 10^9/\text{л}$ .

Статистичне опрацювання результатів виконали на персональному комп'ютері за допомогою програмного пакета Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JРZ8041382130ARCN10-J). Оцінювали нормальність розподілу ознак за кожним із варіаційних рядів, що отримали. Враховуючи малу вибірку та розподіл, що відрізняється від нормального, кількісні ознаки наведені як медіана (верхній і нижній кuartиль) – Me ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ).

Зіставлення частоти появи клінічних якісних ознак ґрунтувалося на порівнянні емпіричних розподілів за допомогою критерію  $\chi^2$  з поправкою Єйтса. Вірогідність відмінностей між кількісними статистичними величинами визначали, використовуючи непараметричний U-критерій Манна–Уїтні. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ , невірогідними – при  $p \geq 0,05$ .

## Результати

Вік хворих коливався від 1 до 17 років. Середній вік дітей становив 4,0 (2,6; 9,0) року. У статевій структурі в основній групі виявили незначне переважання хлопчиків – 55 (52,9 %). Максимальна госпітальна захворюваність на інфекційний мононуклеоз встановлена у віковій групі від 2 до 5 років – 35,6 %, найменш численна група – діти віком від 12 року до 17 років – 19,2 %.

Хворих госпіталізували в термін від 1 до 7 діб від початку захворювання. На догоспітальному етапі у 42,3 % (n = 44) хворих діагностували інфекційний мононуклеоз (ІМ), у 48,1 % (n = 50) – лакунарну форму тонзиліту, у 4,8 % (n = 5) – ГРВІ. З діагнозами вірусний гепатит, ентеровірусна інфекція, аденовірусна інфекція, гостра кишкова інфекція, лихоманка нез'ясованої етіології госпіталізовані 5 дітей (4,8 %). У 100 пацієнтів (96,2 %) стан визначений як середньої тяжкості, у 4 (3,8 %) – тяжкий. Усі тяжкі форми гострої ЕБВІ визначені в дітей старшого віку.

Захворювання в 98,1 % (n = 102) випадків починалося гостро з підвищення температури тіла. Середнє значення максимальної температури у групі пацієнтів віком до 2 років становило 39,0 (38,6; 39,7) °С, від 2 до 5 років – 39,0 (38,5; 39,5) °С; від 6 до 11 років – 38,9 (38,0; 39,4) °С, від 12 до 17 років – 38,6 (38,3; 39,0) °С. Рівень підвищення температури тіла був більшим у дітей молодших вікових груп – виявили вірогідні відмінності між другою та четвертою групами хворих ( $p_{2-4} = 0,002$ ).

Клінічна симптоматика, яку спостерігали у хворих на гостру ЕБВІ, наведена в таблиці 1.

Шийна лімфаденопатія виявлена у 93,3 % (n = 97) дітей. Вірогідна різниця за частотою виявлення лімфаденопатії наявна між групами 1 і 2, 4, а також між групами 2 і 3, 4 (табл. 1). Ступінь збільшення шийних лімфатичних вузлів достовірно вищий у дітей шкільного віку та підлітків порівняно з пацієнтами раннього віку ( $p < 0,001$ ) (табл. 2).

Одним із типових проявів захворювання був тонзиліт, який діагностували у 79,8 % (n = 83) хворих. Виявили вірогідну відмінність між віковими групами 1 і 2 ( $p = 0,001$ ), між групами 1 і 3 ( $p = 0,009$ ) і між групами 2 і 3 ( $p = 0,004$ ) за частотою виникнення тонзиліту (табл. 1). Залучення в запальний процес носогорла проявлялося закладеністю носа, але виразність ексудативного компонента незначна. Цей симптом спостерігали у 63,5 % (n = 66) дітей.

Інший класичний прояв ІМ – гепатоспленомегалія. У 98,1 % (n = 102) обстежених спостерігали гепатомегалію, в 34,6 % (n = 36) випадків діагностована спленомегалія. Збільшення розмірів селезінки частіше реєстрували у старшій віковій групі (50 %), рідше – у дітей перших двох років життя (8,7 %),  $p < 0,05$ . Виявили також вірогідні відмінності між першою та другою групами хворих



**Таблиця 2.** Характеристика виразності шийної лімфаденопатії, гепато- та спленоомегалії у хворих на Епштейна–Барр вірусну інфекцію залежно від віку, n (%)

Клінічний симптом	Вікові групи					p
	<2 років, n = 23	2–5 років, n = 37	6–11 років, n = 24	12–17 років, n = 20	Загалом, n = 104	
<b>Розміри шийних лімфовузлів</b>						
1 см	17 (73,8 %)	28 (75,2 %)	9 (37,5 %)	7 (35 %)	61 (58,7 %)	1–2: 0,010
2 см	1 (4,3 %)	7 (18,9 %)	14 (58,3 %)	8 (40 %)	30 (28,8 %)	1–3: 0,001
3 см	0	1 (2,7 %)	0	4 (20 %)	5 (4,8 %)	1–4: 0,001
Понад 3 см	0	0	1 (4,2 %)	0	1 (1 %)	2–3: 0,003
						2–4: 0,003
						3–4: 0,805
<b>Виразність гепатомегалії</b>						
0,5–1,0 см	7 (30,4 %)	14 (37,8 %)	9 (37,5 %)	6 (30 %)	36 (34,6 %)	1–2: 0,93
1,5–2,0 см	14 (60,9 %)	18 (48,6 %)	10 (41,7 %)	9 (45 %)	51 (49 %)	1–3: 0,67
2,5–3,0 см	2 (8,7 %)	3 (8,1 %)	3 (12,5 %)	3 (15 %)	11 (10,6 %)	1–4: 0,56
Понад 3 см	0	2 (5,4 %)	2 (8,3 %)	0	4 (3,8 %)	2–3: 0,71
						2–4: 0,52
						3–4: 0,39
<b>Виразність спленоомегалії</b>						
Край ребра	1 (4,3 %)	4 (10,8 %)	2 (8,3 %)	3 (15 %)	10 (9,6 %)	1–2: 0,035
1 см	0	6 (16,2 %)	4 (16,7 %)	4 (20 %)	14 (13,5 %)	1–3: 0,430
2 см	1 (4,3 %)	3 (8,1 %)	1 (4,2 %)	3 (15 %)	8 (7,7 %)	1–4: 0,014
3–5 см	0	2 (5,4 %)	2 (8,3 %)	0	4 (3,8 %)	2–3: 0,990
						2–4: 0,730
						3–4: 0,760

**1–2:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 2 (2–5 років); **1–3:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 3 (6–11 років); **1–4:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 4 (12–17); **2–3:** р-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 3 (6–11 років); **2–4:** р-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 4 (12–17); **3–4:** р-значення при порівнянні групи 3 (6–11 років) і групи 4 (12–17).

**Таблиця 3.** Основні лабораторні показники у хворих на Епштейна–Барр вірусну інфекцію з різних вікових груп, Me (Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Показник, одиниці вимірювання	Вікові групи (n/%)					p
	1 група, <2 років, n = 23	2 група, 2–5 років, n = 37	3 група, 6–11 років, n = 24	4 група, 12–17 років, n = 20	Загалом, n = 104	
Кількість лейкоцитів, ×10 <sup>9</sup> /л	6,3 (4,0; 11,4)	10,3 (7,5; 11,1)	7,4 (5,6; 11,2)	8,1 (6,0; 11,2)	8,1 (6,0; 11,2)	1–2: 0,063
						1–3: 0,469
						1–4: 0,278
						2–3: 0,124
						2–4: 0,349
						3–4: 0,662
Кількість лімфоцитів, %	56,0 (44,0; 65,0)	41,0 (33,5; 65,0)	42,0 (32,3; 53,5)	45,5 (29,5; 56,6)	45,0 (33,0; 58,0)	1–2: 0,020
						1–3: 0,008
						1–4: 0,043
						2–3: 0,590
						2–4: 0,795
						3–4: 0,724
АлАТ, ммоль/л/год	0,47 (0,33; 0,99)	0,58 (0,29; 0,81)	0,86 (0,58; 1,92)	2,07 (1,42; 3,69)	0,75 (0,37; 1,65)	1–2: 0,802
						1–3: 0,033
						1–4: 0,001
						2–3: 0,010
						2–4: 0,001
						3–4: 0,001

**1–2:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 2 (2–5 років); **1–3:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 3 (6–11 років); **1–4:** р-значення при порівнянні групи 1 (<2 років) і групи 4 (12–17); **2–3:** р-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 3 (6–11 років); **2–4:** р-значення при порівнянні групи 2 (2–5 років) і групи 4 (12–17); **3–4:** р-значення при порівнянні групи 3 (6–11 років) і групи 4 (12–17).

( $p_{1-2} = 0,035$ ), між першою та четвертою ( $p_{1-4} = 0,014$ ) (табл. 2) за фактом збільшення цього органа.

Помірну жовтяницю спостерігали тільки у 3 (2,9 %) підлітків, а в дітей молодших вікових груп цей симптом не зареєстрували.

З-поміж рідких клінічних симптомів, що визначають при ІМ, спостерігали висипку – у 22,1 % (n = 23) дітей; екзантема мала здебільшого макулопапульозний характер. Цей симптом зареєстрований у кожного третього пацієнта з молодшої та старшої вікових груп, нечасто – у хворих віком від 2 до 11 років. У всіх дітей, які на догоспітальному етапі отримували напівсинтетичні антибіотики пеніцилінового ряду, виявили петехії (6,7 %; n = 7). Наявність петехій характерніша для дітей віком понад 12 років (табл. 1).

У таблиці 1 наведено також частоту виявлення найважливіших лабораторних показників у дітей, які хворі на ЕБВІ, враховуючи вік. У 39 (37,5 %) пацієнтів встановили відносний лімфоцитоз, у 25 (24 %) хворих виявлені атипові мононуклеари. Відносний процент лімфоцитів був дещо більшим у дітей раннього віку, однак, враховуючи вікові норми, у понад половини хворих і з групи дітей віком до 2 років, із групи пацієнтів віком понад 12 років спостерігали лімфоцитоз (табл. 3). Зворотна закономірність встановлена за частотою виявлення атипових мононуклеарів: найменший процент – 8,7 % – виявлений у дітей раннього віку, найвищий – у хворих старшого віку – 24,3–37,5 %. Середня кількість тромбоцитів становила 216,0 (185,5; 274,5) × 10<sup>9</sup>/л. Незначна тромбоцитопенія виявлена

Таблиця 4. Порівняння клінічних особливостей і лабораторних показників, що отримані під час аналізу, з деякими попередньо опублікованими дослідженнями

Автор	Рік, країна	Кількість пацієнтів / стать (чол/жін)	Вік	Основна вікова група	Підвищення температури, %	Шийна лімфаденопатія, %	Тонзиліт, %	Висипка, %	Збільшення печінки / селезінки, %	Лімфоцитоз, %	Атипові мононуклеари, %	Тромбоцитопенія, %
Chun Wing Chan et al	2003, Китай	77 / 1,2:1,0	0,7–13,3	2-4	84,2	91	78	23	77 / 64	100	НД	21
С. О. Камарьов та ін.	2010, Україна, Київ	60 / 1,0:1,2	3–17	3-6	100	83,3	100	40	100 / 83,3	88,3	61,7	НД
Son and Chin	2011, Корея	81 / 1,53:1,00	1–18	3-7	90,1	55,8	46,9	НД	24,7 / 12,3	НД	50	11,1
I. I. Незгода та ін.	2016, Україна, Вінниця	45 / 1,6:1,0	1–17	4-6	100	94	100	НД	89 / 73	16	77,4	НД
Nandi et al	2017, Індія	53 / 1,1:1,0	0,1–12,0	5-8	100	56,6	16,9	32	73,5 / 73,5	26,4	17	41,5
А. Л. Бондаренко та ін.	2018, РФ, Киров	194 / 1,08:1,00	0,4–45,0	0,4-3	72,5	94,5	69	18,2	80,8 / 32,7	43,3	11,1	НД
Наше дослідження	2019, Україна, Запоріжжя	104 / 1,1:1,0	1–17	2-5	98	93,3	79,8	22,1	98,1 / 34,6	37,5	24	8,6

НД: немає даних.

тільки у 9 (8,6 %) пацієнтів без розвитку геморагічних ускладнень.

Рівень загального білірубину в межах нормальних показників зареєстрували майже в усіх хворих, тільки в 4 (3,8 %) пацієнтів зі старших вікових груп виявлена помірна гіпербілірубіємія (25,2–29,9 мкмоль/л). Установлена сильна корелятивна залежність між рівнем активності АЛТ і віком ( $p < 0,001$ ). Діти молодшого віку мали суттєво нижчі значення активності АЛТ сироватки крові (0,47 (0,33; 0,99) ммоль/л/год і 0,58 (0,29; 0,81) ммоль/л/год у групах 1 та 2) порівняно з дітьми старших вікових груп (2,07 (1,42; 3,69) ммоль/л/год у групі 4;  $p < 0,001$ ) (табл. 3). Цитолітичний синдром зареєстрований у 54,2 % пацієнтів віком 6–11 років і в кожного хворого зі старшої вікової групи; в обстежених раннього віку він виявлений у 34,8 % випадків ( $p < 0,001$ ).

Ускладнені форми захворювання зареєстровані у 16 (15,4 %) хворих. Найчастішим ускладненням був алергічний дерматит – у 7 (6,7 %) дітей. Інші ускладнення: вторинний ацетонемічний синдром – 3 (2,9 %), енцефалічна реакція, судомний варіант – 2 (1,9 %); гострий бронхіт – 2 (1,9 %); гострий отит – 2 (1,9 %).

Тривалість перебування у стаціонарі становила  $7,6 \pm 3,2$  днів, з одужанням виписані 49 (47,1 %) осіб.

## Обговорення

Наведено результати ретроспективного дослідження, що включає демографічні, клініко-лабораторні дані 104 дітей, які хворі на інфекційний мононуклеоз Епштейна–Барр вірусної етіології. Аналіз обмежили серологічно підтвердженими випадками – наявність IgM до капсидного антигена ВЕБ (VCA IgM), відсутність антитіл до ядерного антигена ВЕБ (EBNA IgG). Результати дослідження показали вікові особливості захворювання. Зважаючи на те, що прояви інфекційного захворювання можуть змінюватися залежно від етнічних, соціально-економічних та екологічних умов, дослідження також мало на меті визначити, наскільки подібний або несхожий перебіг інфекційного мононуклеозу в Запорізькому регіоні (Україна) порівняно з країнами світу.

У таблиці 4 наведені порівняльні дані щодо окремих клінічних особливостей і лабораторних показників дослідження, яке здійснили, і опублікованих в Україні й за кордоном попередніх досліджень. Більшість пацієнтів у нашому дослідженні належали до вікової групи 2–5 років, а Nandi et al. [8] повідомляють про максимальну захворюваність в Індії дітей віком від 5 до 8 років; А. Л. Бондаренко та ін. [2] – у дітей молодшої вікової групи – від 4 місяців до 3 років. У інших дослідженнях з Китаю [7], Кореї [9] та України [3,5] встановлені подібні тенденції щодо вікової захворюваності.

У більшості досліджень, як і в нашому, не визначили відмінності захворюваності за статтю, але Son and Chin [9] з Кореї та I. I. Незгода і співавт. з України [5] визначили перевагу чоловіків.

Наявність принаймні трьох з основних клінічних проявів: лихоманки, тонзилофарингіту, шийної лімфаденопатії, гепатомегалії або спленомегалії – зафіксована в усіх попередніх дослідженнях.

Аналогічно відомостям у цих публікаціях, у нашому дослідженні більшість дітей мали також класичні симптоми інфекційного мононуклеозу. Так, за результатами дослідження, лихоманка та гепатомегалія визначені як найчастіші клінічні ознаки (98,1 %), потім – шийна лімфаденопатія (93,3 %) і гострий тонзиліт (79,8 %). Висипку мали 22,1 % дітей, які залучені в дослідження, з них у 6,7 % встановили появу петехіальних елементів після приймання ампіциліну. У попередніх дослідженнях частота висипки варіювала від 18,2 % до 40,0 %. Більшість авторів відзначили більшу частоту висипки в дітей віком до 6 років, а за нашими даними, цей симптом характерніший для дітей віком понад 12 років.

В окремих дослідженнях встановлені значущі відмінності від класичного перебігу захворювання. Наприклад, у дослідженні Nandi et al. [8] тонзиліт, який вважають одним із компонентів класичної триади, наявний тільки в 16,9 % дітей. За даними Son and Chin [9] з Кореї, гепатомегалія та спленомегалія діагностовані тільки у 24,7 % та 12,3 % відповідно.

Загальний спектр клінічних симптомів інфекційного мононуклеозу в дітей Запорізького регіону здається схожим на описаний у попередніх повідомленнях. Отже, можна припустити, що немає значущих відмін-

ностей клінічних ознак інфекційного мононуклеозу в різних етнічних групах.

У більшості попередніх наукових праць автори визначили певні вікові особливості перебігу захворювання. Так, шийну лімфаденопатію частіше виявляють у старших вікових групах, а гепатоспленомегалію та тонзиліт частіше діагностують у дітей віком до 6 років. У дослідженні [9], наприклад, не виявлено будь-яких вікових особливостей проявів інфекційного мононуклеозу, крім головного болю, який частіше визначали у старших дітей. Досить багато учених встановили більшу частоту висипки в дітей віком до 6 років, а за нашими даними, цей симптом характерніший для дітей віком до 2 років і у віковій групі старших за 12 років. Визначили також окремі інші вікові відмінності клінічної картини захворювання. Так, у дітей раннього віку встановили вірогідно вищі показники температури тіла, рідко діагностували шийну лімфаденопатію та спленомегалію.

Щодо лабораторних показників, то, за результатами попередніх досліджень, лімфоцитоз зареєстрований у 16–100 % пацієнтів, атипіві мононуклеарів – в 11,1–77,4 %. Частота виявлення атипіві мононуклеарів (24 % хворих) у дослідженні, яке здійснили, суттєво нижча, ніж у попередніх звітах українських учених [2,3]. Атипіві мононуклеарів частіше виявляли в дітей старших вікових груп, ніж у дітей раннього віку, в яких цей показник становив 8,7 %. Це відповідає даним, що опубліковані раніше. Частота тромбоцитопенії становила 8,6 %, за нашими результатами, а в інших дослідженнях тромбоцитопенію діагностували частіше – від 11,1 % (А. Л. Бондаренко та співавт. [2]) до 41,5 %, (Nandi et al. [8]).

Одним зі спостережень дослідження, яке виконали, була виражена різниця за частотою виявлення гепатиту (підвищена активність печінкових трансаміназ) у дітей різного віку. Діти раннього віку мали мінімальне ураження печінки, а в дітей старших вікових груп ознаки гепатиту наявні у 100 % випадків. Середні значення АлАТ істотно та поступово збільшувалися від групи дітей раннього віку до групи підлітків. Жовтяниця визначена також у дітей старшого віку. Результати збігаються з відомостями, що наведені в попередніх публікаціях. Можливо, це пояснюється різницею активної імунної відповіді проти ВЕБ у дітей різного віку.

## Висновки

1. Більшість дітей із гострою формою Епштейна–Барр вірусної інфекції незалежно від віку мають класичні прояви захворювання: лихоманку, лімфаденопатію, гепатоспленомегалію, тонзилофарингіт.

2. У дітей перших 2 років життя ЕБВІ характеризується менш виразними проявами захворювання: помірною шийною лімфаденопатією, нечастою спленомегалією, низькою частотою виявлення атипіві мононуклеарів. У цій групі частіше спостерігали істотне підвищення температури тіла та висипку.

3. Виявили виражену різницю за частотою розвитку гепатиту при первинній ЕБВІ в дітей різного віку: зі збільшенням віку хворого середні значення активності АлАТ істотно та поступово збільшувалися.

4. Більшість результатів зівставні з відомостями, що наведені в попередніх публікаціях. Однак відзначимо наявність регіональних вікових особливостей перебігу інфекційного мононуклеозу, а саме превалювання дітей віком 2–5 років.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні уражень печінки в дітей з інфекційним мононуклеозом залежно від віку.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.12.2019

Після доопрацювання / Revised: 30.03.2020

Прийнято до друку / Accepted: 19.05.2020

## Відомості про авторів:

Конакова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Усачова О. В., д-р. мед. наук, професор, зав. каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сіліна Є. А., канд. мед. наук, асистент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Пахольчук Т. М., канд. мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Дралова О. А., канд. мед. наук, асистент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Konakova O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Usachova O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Silina Ye. A., MD, PhD, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Pakholchuk T. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Dralova O. A., MD, PhD, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Конакова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Усачёва Е. В., д-р. мед. наук, профессор, зав. каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Силина Е. А., канд. мед. наук, ассистент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Пахольчук Т. Н., канд. мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Дралова А. А., канд. мед. наук, ассистент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] Морфологічні та ультразвукові особливості фіброзу печінки в дітей з аутоімунним гепатитом / В. С. Березенко, Т. Д. Задорожна, Х. З. Михайлюк та ін. *Патологія*. 2018. Т. 15, № 3. С. 330-336. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151815>



## Патологія суглобових кінців кісток і частота випадків різного ступеня ураження у хворих на ревматоїдний артрит, що ускладнений фронтальними деформаціями колінного суглоба

В. В. Григоровський<sup>ID</sup>\*<sup>A-F</sup>, Є. М. Автомєєнко<sup>B,C,D</sup>

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ, Україна

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

**Мета роботи** – на основі низки напівкількісних морфометричних показників, що показують патологічні зміни виростків стегнової та великогомілкової кісток, визначити частоти трапляння випадків патологічних змін певних градацій у суглобових кінцях кісток та їхні відмінності у хворих на ревматоїдний артрит (РА) з ураженнями колінних суглобів, що ускладнені фронтальними деформаціями.

**Матеріали та методи.** Матеріал дослідження – виростки стегнової та великогомілкової кісток, одержані під час ендопротезування колінних суглобів від 38 пацієнтів із РА, що ускладнений фронтальними деформаціями. Застосували методи дослідження: клінічний, візуалізаційні, гістологічний із визначенням напівкількісних морфометричних показників, статистичний із визначенням середніх параметрів, частот трапляння випадків різних градацій вираженості показників та їхні відмінності.

**Результати.** Групи хворих на РА з ураженнями колінних суглобів, що ускладнені фронтальними деформаціями різних видів (вальгус – варус), вірогідно відрізняються за деякими клінічними та клініко-візуалізаційними показниками. Патологічні зміни суглобових кінців, що мають такі морфометричні показники, як будова паннусу та запалення, активність запалення в субхондральній спонгіозі, стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні з різною частотою та ступенем вираженості виявлені у тканинах усіх хворих на РА з ураженнями колінних суглобів, що ускладнилися фронтальними деформаціями.

У виростках кісток одного типу, що утворюють колінний суглоб, порівнюючи вальгусну та варусну деформації, частота трапляння випадків різного ступеня вираженості окремих морфометричних показників варіює у виростках із різним ступенем компресії. У виростках кісток одного типу, що утворюють колінний суглоб, порівнюючи різні кістки (стегнову, великогомілкову), у разі вальгусної деформації частота трапляння випадків більшої вираженості показника будова паннусу та запалення виявилася більшою у виростках великогомілкової кістки, варусної деформації – у виростках стегнової кістки (незалежно від вираженості компресії).

**Висновки.** Результати дослідження показали, що ступені вираженості клінічних і морфометричних показників стану виростків стегнової та великогомілкової кісток у хворих на РА з фронтальними деформаціями на рівні колінного суглоба не мають сталих, однозначних тенденцій, а частоти трапляння випадків високого та низького ступеня варіюють у широких межах.

**Ключові слова:** ревматоїдний артрит, колінний суглоб, вальгусна деформація, варусна деформація, гістологічне дослідження, статистичний аналіз.

**Патологія.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 209-221

\*E-mail: [val\\_grigorov@bigmir.net](mailto:val_grigorov@bigmir.net)

## Pathology of bone epiphyses and frequency of various damage degree cases in patients with rheumatoid arthritis complicated by knee joint frontal deformities

V. V. Hryhorovskiy, Ye. M. Avtomieienko

**Aim:** based on several semi-quantitative morphometric indices, which represent pathological changes in femoral and tibial condyles, to determine pathological changes occurrence frequencies of damaged knee joints, complicated by frontal deformations.

**Materials and methods.** Resected femoral and tibial condyles, obtained during knee replacement in 38 patients with rheumatoid arthritis and deformations of knee joints in frontal plane, served as material of current study. The following research methods were used: clinical examination, histological with semi-quantitative morphometric indices determination; statistical with determination of mean parameters, frequency of occurrence of cases with different gradations of indicators expression and their differences.

**Results.** Groups of rheumatoid arthritis patients with lesions of knee joints complicated by deformities in frontal plane of different forms (valgus – varus), had significant differences by several clinical and clinical-visual indices. Pathological changes of epiphyses which are reflected by such morphometric parameters as “pannus structure and inflammation”, “inflammatory activity in subchondral spongiosa” and “stage of dystrophic-destructive changes of the joint surface” with different frequency and severity occur in the tissues of all rheumatoid arthritis patients with knee injuries, complicated by frontal deformations.

In condyles from bones of one type, that form knee joint, compared in varus and valgus deformities, occurrence frequency of varying severity cases of separate morphometric indices varies in condyles according to different degree of compression. In condyles from bones of one type, which form knee joint, compared in different bones (femur and tibia) in cases of valgus deformity there was higher occurrence frequency of cases with more expressed indicator of “pannus structure and inflammation” in tibial condyles, in cases of varus deformity – in femoral condyles (independent of degree of compression).

**Key words:** rheumatoid arthritis, knee joint, valgus deformity, varus deformity, histological investigation, statistical data analysis.

**Pathologia** 2020; 17 (2), 209-221

**Conclusions.** Results of study showed that degree of both clinical and morphometric indices of tibia and femur condyles condition in patients with rheumatoid arthritis and knee joint frontal deformities has no constant, unambiguous tendencies, and occurrence frequencies of cases with high and low degrees vary in wide limits.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, коленный сустав, вальгусная деформация, варусная деформация, гистологическое исследование, статистический анализ.

**Патологія.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 209-221

## Патология суставных концов костей и частота случаев разной степени поражения у больных ревматоидным артритом, осложненным фронтальными деформациями коленного сустава

**В. В. Григоровский, Е. Н. Автомеенко**

**Цель работы** – на основании ряда полуколичественных морфометрических показателей, отражающих патологические изменения мыщелков бедренной и большеберцовой костей, определить частоты встречаемости случаев патологических изменений определенных градаций в суставных концах костей и их различия у больных ревматоидным артритом (РА) с поражениями коленных суставов, осложненными фронтальными деформациями.

**Материалы и методы.** Материал исследования – мыщелки бедренной и большеберцовой костей, резецированные при эндопротезировании коленных суставов от 38 больных РА, осложненным фронтальными деформациями. Применены методы исследования: клинический, визуализирующие, гистологический с определением полуколичественных морфометрических показателей, статистический с определением средних параметров, частот встречаемости случаев разных градаций выраженности показателей и их различий.

**Результаты.** Группы больных РА с поражениями коленных суставов, осложненными фронтальными деформациями разных видов (вальгус – варус), достоверно различаются по некоторым клиническим и клинко-визуализирующим показателям. Патологические изменения суставных концов, отображаемые такими морфометрическими показателями, как строение паннуса и воспаление, активность воспаления в субхондральной спонгиозе, стадия дистрофически-деструктивных изменений суставной поверхности с разной частотой и степенью выраженности встречаются в тканях всех больных РА с поражениями коленных суставов, осложнившимися фронтальными деформациями.

В мыщелках костей одного типа, образующих коленный сустав, сравнивая при вальгусной и варусной деформации, частота встречаемости случаев разной степени выраженности отдельных морфометрических показателей варьирует в мыщелках с разной степенью компрессии. В мыщелках костей одного типа, которые входят в коленный сустав, сравнивая в разных костях (бедренной, большеберцовой), при вальгусной деформации частота встречаемости случаев большей выраженности показателя строение паннуса и воспаление оказалась большей в мыщелках большеберцовой кости, при варусной деформации – в мыщелках бедренной кости (независимо от выраженности компрессии).

**Выводы.** Результаты исследования показали, что степени выраженности клинических и морфометрических показателей состояния мыщелков бедренной и большеберцовой костей у больных РА с фронтальными деформациями на уровне коленного сустава не имеют постоянных, однозначных тенденций, а частоты встречаемости случаев высокой и низкой степени варьируют в широких пределах.

Ревматоїдний артрит (РА) – хронічне аутоімунне захворювання, що вражає передусім синовіальні суглоби та призводить до прогресивної деструкції структур, особливо хрящової та кісткової тканин [1]. В основі морфогенезу РА – хронічне інфільтративно-продуктивне запалення, що супроводжується деструктивними та склерозивними змінами, які прогресують, у суглобовій капсулі, суглобовому хрящі (СХ), субхондральній кістковій пластинці (СКП) і прилеглий спонгіозі суглобового кінця кістки [2–5].

Колінні суглоби (КС) серед інших уражаються за РА чи не найчастіше, при цьому страждають і поступово піддаються деструкції суглобові поверхні виростків стегнової та великогомілкової кісток [6]. Оскільки патологічні зміни кісток під час РА відбуваються нерівномірно, в різних хворих виявляються переважно ураженими або медіальна, або латеральна пара виростків, що зчленовуються в колінному суглобі [7]. Асиметричне запальне ураження структур окремих пар суглобових поверхонь (медіальні – латеральні) згодом посилюється через дію фактора компресії, що зумовлює прогресування дистрофічно-деструктивних змін (ДДЗ) і деформації у КС. Ревматоїдне запалення продовжує діяти, але нерівномірно, а це посилює ураження СХ, субхондральної кісткової пластинки і

глибшої губчастої кістки виростків [8,9]. Усе викладене свідчить про багатофакторність патології колінних суглобів, що ускладнилася фронтальними деформациями, у хворих на РА.

Можна припустити: вираженість деформації (вальгус, варус) і ступінь ураження анатомічних структур суглобових виростків кісток, що утворюють колінний суглоб, у цих хворих варіює, створюючи складнощі для адекватного оцінювання ступеня ураження суглобів [10,11]. Відомості про частоту ураження виростків, що перебувають у різному функціональному стані (більш і менш компресовані), можуть мати значення для об'єктивізації оцінювання ураження анатомічних структур суглоба під час розв'язання питання щодо застосування тих чи інших видів терапії або радикальних хірургічних втручань, наприклад, тотальне чи уніконділярне ендопротезування у хворих на РА тощо.

Утім у доступній фаховій літературі не виявили опис клініко-морфологічних досліджень, в яких із застосуванням клінічних, клініко-візуалізаційних, морфометричних показників було б визначено статистичні характеристики та відмінності частот трапляння певних уражень структур КС, що ускладнені фронтальними деформациями, у хворих на РА.

## Мета роботи

Шляхом застосування низки напівкількісних градаційних морфометричних показників, що показують патологічні зміни виростків стегнової та великогомілкової кісток (запальні, дистрофічно-деструктивні, репаративні), визначити частоти трапляння випадків патологічних змін певних градацій у суглобових кінцях кісток та їхні відмінності у хворих на РА з ураженнями КС, які ускладнені фронтальними деформаціями різних видів.

## Матеріали і методи дослідження

Матеріал патогістологічного та морфометричного досліджень – резектати виростків стегнової та великогомілкової кісток, що одержані під час ендопротезування від 38 пацієнтів (3 чоловіки, середній вік  $X \pm SD = 51,33 \pm 6,03$  року; 35 жінок, середній вік –  $53,34 \pm 14,94$  року) із РА, що ускладнений фронтальними деформаціями колінного суглоба. Всі пацієнти оперовані в ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМНУ», від них одержали інформовану згоду на використання даних для наукового дослідження.

Виконали 42 клініко-морфологічні дослідження тканин, що одержані під час операцій тотального ендопротезування колінних суглобів. У 31 випадку діагностували вальгусну, в 11 – варусну деформацію.

Протокол дослідження затверджений локальним комітетом з біоетики ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України».

Використали методи дослідження:

– клінічне обстеження з визначенням низки показників: давність симптоматики ревматоїдного процесу в суглобі, ступінь відхилення осі великогомілкової кістки у градусах, комплексне клінічне оцінювання функціонального стану суглоба (сумарна оцінка в балах: біль, амплітуда рухів, деформація кінцівки) – більші параметри відповідали вищому ступеню порушення;

– візуалізаційні методи (рентгенографія, МРТ, КТ) з визначенням кута відхилення великогомілкової кістки від норми, комплексне клінічне оцінювання функціонального стану суглоба та стадії ДДЗ суглобових поверхонь виростків стегнової та великогомілкової кісток – окремо для кожного з виростків;

– гістологічне дослідження тканин суглобових кінців з визначенням низки напівкількісних градаційних морфометричних показників і частот трапляння випадків окремих градацій; оцінки вираженості для кожного об'єкта дослідження визначали, застосову-

ючи «сліпий» метод. Для гістологічного дослідження з ділянок резектованих виростків стегнової та великогомілкової кісток, у ділянках фронтальної площини, що збігалася з віссю дистального відділу діафіза стегна, та центральних ділянок виростків великогомілкової кістки, де макроскопічно спостерігали найбільш змінені ділянки суглобових поверхонь, випилювали блоки завдовжки 2,0–2,5 см, які заливали в целоїдин. Гістологічні зрізи завтовшки 10 мкм забарвлювали гематоксином та еозином, гематоксином і пікрофуксином за ван Гізеном;

– статистичний аналіз із визначенням середніх параметрів і частот трапляння випадків різних градацій вираженості клінічних, клініко-візуалізаційних і напівкількісних морфометричних показників; відмінності середніх величин у групах порівняння визначали за непараметричним ранговим критерієм Уайта, відмінності частот трапляння випадків різного ступеня вираженості – за критерієм  $\chi^2$  з поправкою Єйтса на малу кількість спостережень, де це було необхідно.

## Результати

**Порівняльні клінічні характеристики груп хворих.** Порівняння значень вимірюваних і частотних показників у групах хворих із різними типами деформації (табл. 1, 2) показало: середня давність появи клінічних симптомів ураження колінного суглоба була більшою у хворих із варусною деформацією (майже на 2 роки), однак індивідуальні параметри давності симптомів дуже варіювали. Середній параметр відхилення великогомілкової кістки у градусах (основний об'єктивний показник вираженості деформації) був вірогідно вищим у хворих із вальгусним, ніж з варусним відхиленням (рис. 1, 2). Оцінювання функціонального стану суглоба у хворих із вальгусною та варусною деформаціями показало, що ступінь порушення в середньому збігається у хворих груп «вальгус – варус». Порівняння частот трапляння випадків з різними стадіями ДДЗ суглобових кінців однотипних виростків показало майже однакові співвідношення: завжди серед виростків стегнової та великогомілкової кісток, що перебували у стані більшої компресії, тобто у разі вальгусної деформації – латеральні виростки, за варусної – медіальні, частота трапляння випадків високого ступеня (стадія IV ДДЗ) була більшою; щодо частот для латеральних виростків – різниця виявилася вірогідною.

**Патоморфологічні зміни в суглобових кінцях кісток.** На поверхні СХ або субхондральної кісткової пластинки, де СХ був відсутній, траплялися наша-

**Таблиця 1.** Середні величини клінічних показників у хворих на ревматоїдний артрит з ураженням колінних суглобів, що ускладнений фронтальними деформаціями, Me; M  $\pm$  SD

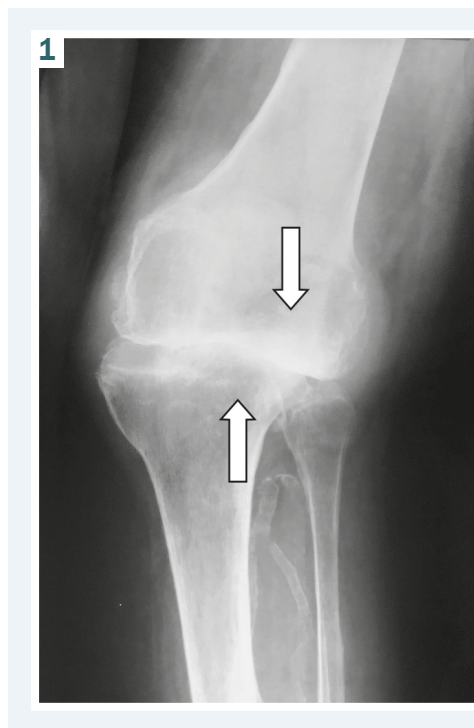
Клінічні показники, одиниці вимірювання	Вальгус	Варус	Результат порівняння
Давність симптоматики з боку досліджуваного суглоба, роки	n = 31 11,00; 13,16 $\pm$ 7,70	n = 11 12,00; 14,82 $\pm$ 10,29	$W_{\Phi} = 0,264$ $p > 0,1$
Ступінь відхилення великогомілкової кістки від норми, градуси	n = 31 15,00; 4,84 $\pm$ 5,70	n = 11 10,00; 10,00 $\pm$ 3,87	$W_{\Phi} = 1,690$ $p < 0,01$
Комплексна клінічна оцінка функціонального стану суглоба, сума балів	n = 30 18,00; 18,37 $\pm$ 5,59	n = 11 16,00; 17,64 $\pm$ 3,07	$W_{\Phi} = 0,0595$ $p > 0,1$

**n:** кількість випадків у групі; **Me:** медіана; **M:** середня арифметична в групі; **SD:** стандартне (середньоквадратичне) відхилення; **W $\Phi$ :** фактичне значення непараметричного рангового критерію Уайта, порівнюючи дані двох груп; **p:** вірогідність помилки під час оцінювання різниці двох груп порівняння.

**Таблиця 2.** Частоти трапляння випадків із різними стадіями дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні виростка (за клініко-візуалізаційними оцінками), кількість і частка випадків різного ступеня вираженості, значення критерію  $\chi^2$  та ступінь його значущості

Показник: Стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні виростка	Вид деформації, назва кістки та ступінь компресії суглобових поверхонь							
	Вальгус				Варус			
	Стегнова		Великогомілкова		Стегнова		Великогомілкова	
	Медіал виросток Менша компресія n = 31	Латерал виросток Більша компресія n = 31	Медіал виросток Менша компресія n = 31	Латерал виросток Більша компресія n = 31	Медіал виросток Більша компресія n = 10	Латерал виросток Менша компресія n = 11	Медіал виросток Більша компресія n = 10	Латерал виросток Менша компресія n = 10
– стадія III чи менше (низький ступінь)	12 (38,71 %)	1 (3,23%)	10 (32,26 %)	0 (0,00 %)	0 (0,00 %)	5 (45,45 %)	0 (0,00 %)	3 (30,00 %)
– стадія IV (високий ступінь)	19 (61,29 %)	30 (96,77 %)	21 (67,74 %)	31 (100,00 %)	10 (100,00 %)	6 (54,55 %)	10 (100,00 %)	7 (70,00 %)
Порівняння частот для відповідних виростків однакових кісток у групах «вальгус» – «варус»	$\chi^2 = 3,763$ * p < 0,1 НВ	$\chi^2 = 8,627$ * p < 0,01	$\chi^2 = 2,696$ * p ≈ 0,1 НВ	$\chi^2 = 6,098$ *				

**Медіал:** медіальний (виросток); **латерал:** латеральний (виросток); **n:** кількість випадків у групі;  **$\chi^2$ :** значення критерію хі-квадрат, порівнюючи частоти в окремих групах; **\***: під час розрахунку значення  $\chi^2$  враховано поправку Сйтса; **НВ:** невірне значення чи різниця частот.



**Рис. 1.** Вальгусна деформація правого колінного суглоба у хворої на РА: виростки кісток, які перебувають у стані більшої компресії, позначено стрілками. Інші виростки – у стані меншої компресії. Фото рентгенограми кісток хворої Р., 51 рік, давність захворювання на РА – 17 років.

**Рис. 2.** Варусна деформація правого колінного суглоба у хворої на РА: виростки кісток, які перебувають у стані більшої компресії, позначено стрілками. Інші виростки – у стані меншої компресії. Фото рентгенограми кісток хворої П., 65 років, давність захворювання на РА – 5 років.

рування певної кількості пухкого або ущільненого фібринозного ексудату. У великій частині випадків на поверхні зміненого СХ містилися напластування патологічної волокнистої сполучної тканини у вигляді покриву (паннусу). Розрізняли різні варіанти паннусу за будовою. Якщо паннус побудований із гіпоцелюлярної щільної фіброзної (рідше – фіброзно-кісткової) тканини з незначною кількістю клітин запального інфільтрату, визначали зміни низького ступеня вираженості (рис. 3). Якщо паннус побудований із незрілої фіброзної та/або грануляційної тканини з помірно або добре вираженою мононуклеарно-макрофагоцитарно-плазмоцитарною інфільтрацією, визначали патологічні зміни високого ступеня (рис. 4).

Суглобовий хрящ у жодному випадку не відповідав нормі: мав неоднорідну будову, потоншений, деформований, із численними вертикальними та горизонтальними щілинами, розволоненням, утворенням

псевдосинок і ділянок розпушення з дрібними хрящовими регенератами тощо. Патологічні зміни включали також інтерстиційні хондронекрози, ділянки дистрофії та деструкції СХ. Якщо СХ був доволі збережений, на поверхні траплялися тонкі нашарування фіброзного паннусу, дистрофічні зміни у СХ були мінімальні, а деструкцію хряща у проміжній та глибокій зонах СХ не спостерігали, то патологічні особливості відповідали низькому ступеню ДДЗ (еквівалентний I стадії остеоартрозу – ОА). У випадку виражених ДДЗ із помітним потоншенням СХ і дефектом хряща в межах поверхневої та проміжної зон ступінь ДДЗ визначали як середній (рис. 5). Якщо ДДЗ були сильно виражені (істотне нерівномірне потоншення СХ із залишками хрящової тканини в межах глибокої зони або повна відсутність СХ з оголенням поверхні склерозованої кісткової тканини, наявністю хрящових вузликів або кісткових утворень на рівні субхондральної кісткової



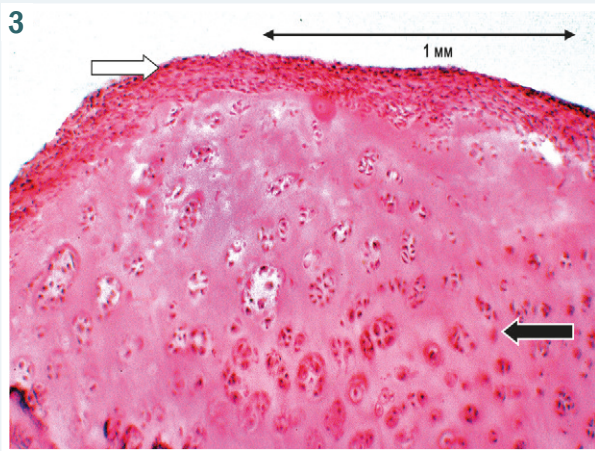


Рис. 3. Фіброзний паннус (біла стрілка) з незначною мононуклеарно-макрофагоцитарною інфільтрацією на поверхні суглобового хряща (чорна стрілка), в якому наявні дистрофічні зміни. Мікрофото латерального виростка великогомілкової кістки хворої К-рт, 45 років, варусна деформація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.  $\times 30$ .

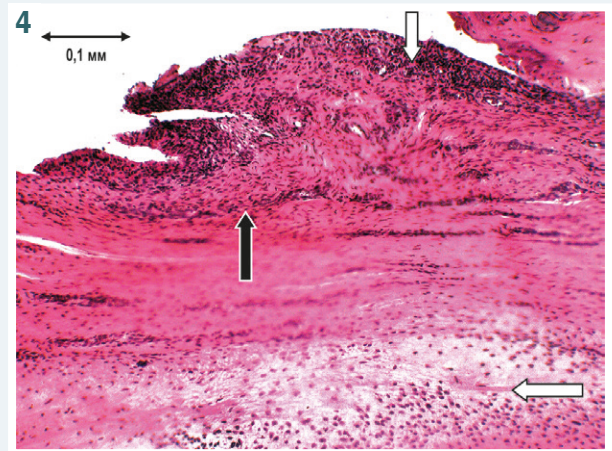


Рис. 4. Фіброзно-грануляційний паннус (білі стрілки) з вираженою мононуклеарно-макрофагоцитарною інфільтрацією на поверхні суглобового хряща (чорна стрілка). Мікрофото медіального виростка стегнової кістки хворої Б-ко, 59 років, вальгусна деформація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.  $\times 75$ .

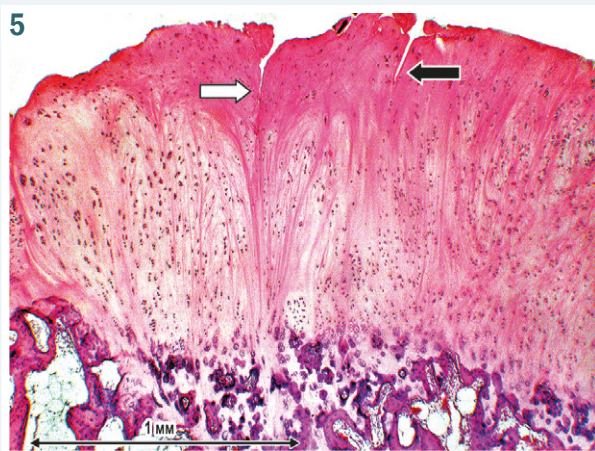


Рис. 5. Дистрофічно-деструктивні зміни тканин суглобової поверхні середнього ступеня вираженості, що відповідає стадії II остеоартрозу. Суглобовий хрящ містить вертикальні щілини (позначені стрілками). Мікрофото медіального виростка великогомілкової кістки хворої Л-ої, 67 років, вальгусна деформація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.  $\times 30$ .

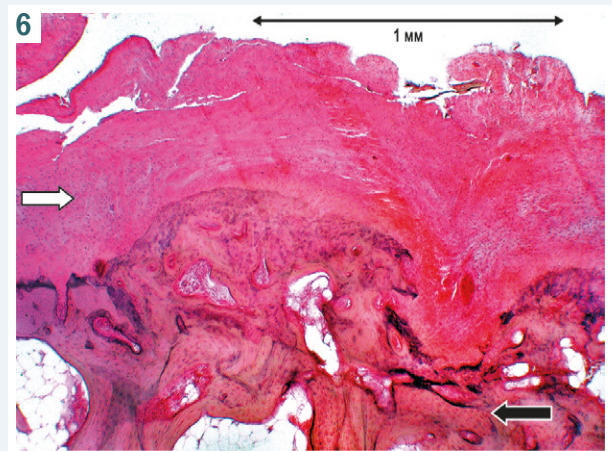


Рис. 6. Дистрофічно-деструктивні зміни суглобової поверхні високого ступеня вираженості, що відповідає стадії III остеоартрозу. Суглобовий хрящ (біла стрілка) потоншений, розволокнений, дистрофічний, субхондральна кісткова пластинка (чорна стрілка) нерівна, містить інтерстиційні остеонекрози. Мікрофото латерального виростка великогомілкової кістки хворої В-ко, 51 рік, вальгусна деформація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.  $\times 30$ .

пластинки та глибших ділянок спонгіози), то таку гістологічну картину оцінювали як високий ступінь ДДЗ (рис. 6, 7).

Хронічний запальний процес спостерігали не тільки в паннусі як частині синовіального середовища суглоба, але і в судинних каналах СКП і прилеглих кістковомозкових порожнинах спонгіози. Морфологічні ознаки активності продуктивного запалення варіювали. У разі низького ступеня в судинних каналах виявляли нещільні скупчення мононуклеарів, макрофагоцитів і плазмочитів навколо дрібних судин. Скупчення клітин запальних інфільтратів порівняно невеликі (рис. 8), склалися з поодиноких або груп із 2–3 десятків форм і не супроводжувалися ексудацією. Коли в судинних каналах і кістковомозкових порожнинах наявний чималий запальний набряк, мононуклеар-

но-макрофагоцитарно-плазмочитарні інфільтрати виглядали щільними, склалися з багатьох десятків клітин із домішкою нейтрофілоцитів, мали зливний характер, поєднувалися з відкладеннями фібрину та фібриноїдними некрозами сполучної тканини та стінок судин, а на стінках судинних каналів СКП порівняно часто траплялися остеокласти, то така гістологічна картина відповідала ревматоїдному запаленню високої активності (рис. 9, 10).

**Порівняння частот випадків із різним ступенем вираженості морфометричних показників в однакових виростках при різних типах деформації (порівняння «вальгус – варус») (табл. 3).** У випадку різних типів деформації однакові виростки перебували у стані неоднакової компресії, і порівняння частот трапляння показали: при вальгусній деформації медіальні



Рис. 7. Дистрофічно-деструктивні зміни суглобової поверхні високого ступеня вираженості, що відповідає стадії III–IV ОА. Суглобовий хрящ майже відсутній, субхондральна кісткова пластинка (позначена стрілкою) деформована, помірно склерозована. Мікрофото латерального виростка стегнової кістки хворого К-го, 52 роки, варусна деформація. Забарвлення гематоксилином та еозином. 36.  $\times 30$ .

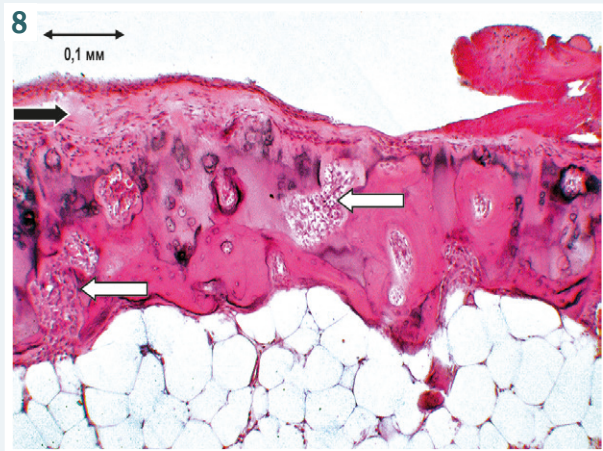


Рис. 8. Запалення низької активності у каналах субхондральної кісткової пластинки. Запальні інфільтрати у каналах субхондральної пластинки (білі стрілки), суглобовий хрящ потоншений (чорна стрілка), дистрофічний, подекуди відсутній. Мікрофото латерального виростка стегнової кістки хворої М-ко, 44 роки, варусна деформація. Забарвлення гематоксилином та еозином. 36.  $\times 75$ .

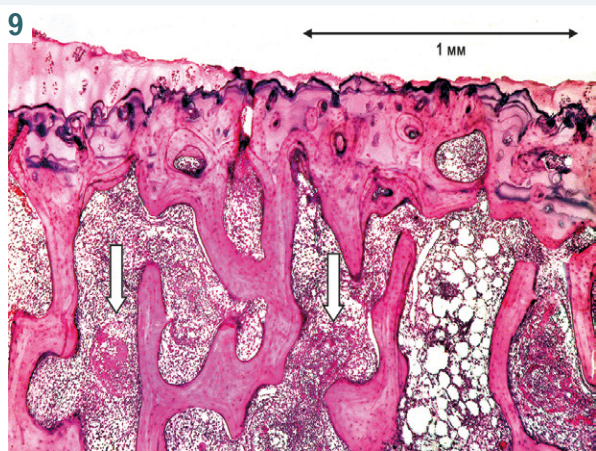


Рис. 9. Запалення високої активності у спонгіозі виростка. Щільні запальні інфільтрати у порожнинах спонгіозу (білі стрілки). Суглобовий хрящ подекуди різко потоншений (чорна стрілка), місцями на поверхні субхондральної кістки відсутній. Мікрофото медіального виростка стегнової кістки хворої Г-ак, 63 роки, варусна деформація. Забарвлення гематоксилином та еозином. 36.  $\times 24$ .

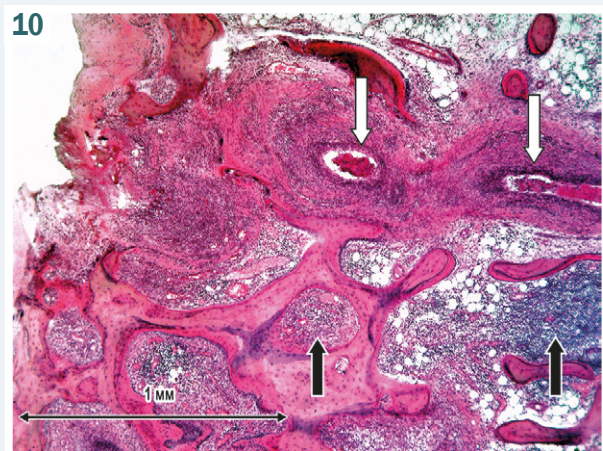


Рис. 10. Запалення високої активності з наявністю некрозів у ревматоїдних гранульомах (білі стрілки) та щільні запальні інфільтрати (чорні стрілки) у спонгіозі виростка. Мікрофото медіального виростка стегнової кістки хворої М-ук, 29 років, вальгусна деформація. Забарвлення гематоксилином та еозином. 36.  $\times 24$ .

виростки обох кісток частіше виявляють вищий ступінь вираженості показника будови паннусу та активності запального процесу; у випадку варусної деформації тільки в латеральних виростках стегнової кістки частіше траплялися випадки високого ступеня вираженості цього показника. Порівняння груп «вальгус – варус» за частотою трапляння випадків різного ступеня вираженості показника стадії ДДЗ у виростку показало: високий ступінь визначали частіше серед виростків, які перебувають у стані більшої компресії і у стегновій, і у великогомілкової кістках (відмінності частот у парях порівняння невірні за критерієм  $\chi^2$ ).

Частота трапляння випадків, де у спонгіозі виростків частіше визначали запалення високого ступеня вираженості незалежно від виду кістки (стегнова / великогомілкова) та ступеня компресії (більший /

менший), виявилася більшою у виростках обох кісток, які утворюють колінний суглоб, у випадку вальгусної деформації; частота у латеральних виростках великогомілкової кістки, які перебували у стані більшої компресії, ніж у разі варусу, була удвічі більшою. В усіх парях порівняння частот відмінності виявилися статистично невірними.

**Порівняння частот випадків із різним ступенем вираженості напівкількісних морфометричних показників між однотипними виростками різних кісток (порівняння «стегнові – великогомілкові») (табл. 4).** Порівняння частот трапляння випадків із різним ступенем вираженості морфометричних показників в однотипних виростках (медіальні – медіальні, латеральні – латеральні) різних кісток (стегнові – великогомілкові) окремо у групах

**Таблиця 3.** Частоти трапляння випадків з різними значеннями морфометричних показників в однотипних виростках стегнової та великогомілкової кісток у хворих на ревматоїдний артрит з ураженням колінних суглобів, що ускладнений фронтальними деформаціями різних видів (групи порівняння «вальгус» – «варус»)

Морфометричні показники	Вид деформації, назва кістки, виростка та ступінь компресії суглобових поверхонь							
	Вальгус				Варус			
	Стегнова		Великогомілкова		Стегнова		Великогомілкова	
	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія
Будова паннусу та активність запального процесу в ньому:	n = 28	n = 29	n = 30	n = 26	n = 9	n = 8	n = 10	n = 8
– Низький ступінь (паннус відсутній, фіброзний або фіброзно-кістковий, без ознак активного запалення)	20 (71,43 %)	23 (79,31 %)	20 (66,67 %)	19 (73,08 %)	7 (77,78 %)	6 (75,00 %)	8 (80,00 %)	7 (87,5 %)
– Високий ступінь (паннус фіброзний або грануляційно-фіброзний, з ознаками запалення)	8 (28,57 %)	6 (20,69 %)	10 (33,33 %)	7 (26,92 %)	2 (22,22 %)	2 (25,00 %)	2 (20,00 %)	1 (12,5 %)
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у групах «вальгус» – «варус»	$\chi^2 = 0,0034$ * НВ	$\chi^2 = 0,0497$ * НВ	$\chi^2 = 0,159$ * НВ	$\chi^2 = 0,133$ * НВ				
Стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні (за гістологічними оцінками):	n = 31	n = 30	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 10	n = 11
– Низький ступінь (стадія I або II)	9 (29,03 %)	12 (40,00 %)	11 (35,48 %)	11 (37,93 %)	2 (18,18 %)	5 (45,45 %)	3 (30,00 %)	6 (54,55 %)
– Високий ступінь (стадія III або IV)	22 (70,97 %)	18 (60,00 %)	20 (64,52 %)	18 (62,07 %)	9 (81,82 %)	6 (54,55 %)	7 (70,00 %)	5 (45,45 %)
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у групах «вальгус» – «варус»	$\chi^2 = 0,0925$ * НВ	$\chi^2 = 0,0986$ * НВ	$\chi^2 = 0,00429$ * НВ	$\chi^2 = 0,901$ * НВ				
Активність ревматоїдного запалення у субхондріальній спонгіозі:	n = 31	n = 29	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 11	n = 11
– Низький ступінь (запалення відсутнє або низької активності)	12 (38,71 %)	19 (65,52 %)	17 (54,84 %)	12 (41,38 %)	6 (54,55 %)	8 (72,73 %)	7 (63,64 %)	8 (72,73 %)
– Високий ступінь (запалення високої активності)	19 (61,29 %)	10 (34,48 %)	14 (45,16 %)	17 (58,62 %)	5 (45,45 %)	3 (27,27 %)	6 (36,36 %)	3 (27,27 %)
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у групах «вальгус» – «варус»	$\chi^2 = 0,831$ * НВ	$\chi^2 = 0,0032$ * НВ	$\chi^2 = 0,00364$ * НВ	$\chi^2 = 2,006$ * НВ				

**Медіал:** медіальний (виросток); **латерал:** латеральний (виросток); **n:** кількість випадків у групі;  $\chi^2$ : значення критерію хі-квадрат, порівнюючи частоти в окремих групах; \*: під час розрахунку значення  $\chi^2$  враховано поправку Сйтса; **НВ:** невірне значення чи різниця частот.

**Таблиця 4.** Частоти трапляння випадків із різними значеннями морфометричних показників в однотипних виростках стегнової та великогомілкової кісток у хворих на ревматоїдний артрит з ураженнями колінних суглобів, що ускладнені фронтальними деформаціями (група порівняння «стегнова – великогомілкова кістка»)

Морфометричні показники	Вид деформації, назва кістки, виростка та ступінь компресії суглобових поверхонь							
	Вальгус				Варус			
	Стегнова		Великогомілкова		Стегнова		Великогомілкова	
	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія
Будова паннусу й активність запального процесу в ньому:	n = 28	n = 29	n = 30	n = 26	n = 9	n = 8	n = 10	n = 8
– Низький ступінь (паннус відсутній, фіброзний або фіброзно-кістковий, без ознак активного запалення)	20 (71,43 %)	23 (79,31 %)	20 (66,67 %)	19 (73,08 %)	7 (77,78 %)	6 (75,00 %)	8 (80,00 %)	7 (87,5 %)
– Високий ступінь (паннус фіброзний або грануляційно-фіброзний, з ознаками запалення)	8 (28,57 %)	6 (20,69 %)	10 (33,33 %)	7 (26,92 %)	2 (22,22 %)	2 (25,00 %)	2 (20,00 %)	1 (12,5 %)
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у стегнових і великогомілкових кістках	$\chi^2 = 0,153$ * НВ	$\chi^2 = 0,295$ * НВ			$\chi^2 = 0,198$ * НВ	$\chi^2 = 0,000$ * НВ		
Стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні (за гістологічними оцінками):	n = 31	n = 30	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 10	n = 11
– Низький ступінь (стадія I або II)	9 (29,03 %)	12 (40,00 %)	11 (35,48 %)	11 (37,93 %)	2 (18,18 %)	5 (45,45 %)	3 (30,00 %)	6 (54,55 %)
– Високий ступінь (стадія III або IV)	22 (70,97 %)	18 (60,00 %)	20 (64,52 %)	18 (62,07 %)	9 (81,82 %)	6 (54,55 %)	7 (70,00 %)	5 (45,45 %)
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у стегнових і великогомілкових кістках	$\chi^2 = 0,295$ * НВ	$\chi^2 = 0,0265$ * НВ			$\chi^2 = 0,0149$ * НВ	$\chi^2 = 0,182$ * НВ		
Активність ревматоїдного запалення у субхондріальній спонгіозі:	n = 31	n = 29	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 11	n = 11
– Низький ступінь (запалення відсутнє або низької активності)	12 (38,71 %)	19 (65,52 %)	17 (54,84 %)	12 (41,38 %)	6 (54,55 %)	8 (72,73 %)	7 (63,64 %)	8 (72,73 %)
– Високий ступінь (запалення високої активності)	19 (61,29 %)	10 (34,48 %)	14 (45,16 %)	17 (58,62 %)	5 (45,45 %)	3 (27,27 %)	6 (36,36 %)	3 (27,27 %)

## Продовження таблиці 4.

Морфометричні показники	Вид деформації, назва кістки, виростка та ступінь компресії суглобових поверхонь							
	Вальгус				Варус			
	Стегнова		Великогомілкова		Стегнова		Великогомілкова	
	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія
Порівняння частот трапляння для відповідних виростків у стегових і великогомілкових кістках	$\chi^2 = 1,620$ НВ	$\chi^2 = 3,395$ $p < 0,1$			$\chi^2 = 0,0117^*$ НВ	Різниця частот немає $\chi^2 = 0,000$ НВ		

**Медіал:** медіальний (виросток); **латерал:** латеральний (виросток); **n:** кількість випадків у групі;  $\chi^2$ : значення критерію хі-квадрат, порівнюючи частоти в окремих групах; \*: під час розрахунку значення  $\chi^2$  враховано поправку Єйтса; **НВ:** невірні значення чи різниця частот.

**Таблиця 5.** Частоти трапляння випадків з окремими значеннями морфометричних показників у різних виростках («медіальний – латеральний») у межах тих самих кісток (стегова – великогомілкова) у хворих на ревматоїдний артрит з ураженням колінних суглобів, що ускладнений фронтальними деформаціями

Морфометричні показники	Вид деформації, назва кістки, виростка та ступінь компресії суглобових поверхонь							
	Вальгус				Варус			
	Стегнова		Великогомілкова		Стегнова		Великогомілкова	
	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Менша компресія	Латерал виросток Більша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія	Медіал виросток Більша компресія	Латерал виросток Менша компресія
Будова паннусу й активність запального процесу в ньому:	n = 28	n = 29	n = 30	n = 26	n = 9	n = 8	n = 10	n = 8
– Низький ступінь (паннус відсутній, фіброзний або фіброзно-кістковий, без ознак активного запалення)	20 (71,43 %)	23 (79,31 %)	20 (66,67 %)	19 (73,08 %)	7 (77,78 %)	6 (75,00 %)	8 (80,00 %)	7 (87,5 %)
– Високий ступінь (паннус фіброзний або грануляційно-фіброзний, з ознаками запалення)	8 (28,57 %)	6 (20,69 %)	10 (33,33 %)	7 (26,92 %)	2 (22,22 %)	2 (25,00 %)	2 (20,00 %)	1 (12,5 %)
Порівняння частот трапляння для різних виростків окремо у стегових або великогомілкових кістках	$\chi^2 = 0,478$ НВ		$\chi^2 = 0,271$ НВ		$\chi^2 = 0,192^*$ НВ		$\chi^2 = 0,045^*$ НВ	
Стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні (за гістологічними оцінками)	n = 31	n = 30	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 10	n = 11
– Низький ступінь (стадія I або II)	9 (29,03 %)	12 (40,00 %)	11 (35,48 %)	11 (37,93 %)	2 (18,18 %)	5 (45,45 %)	3 (30,00 %)	6 (54,55 %)
– Високий ступінь (стадія III або IV)	22 (70,97 %)	18 (60,00 %)	20 (64,52 %)	18 (62,07 %)	9 (81,82 %)	6 (54,55 %)	7 (70,00 %)	5 (45,45 %)
Порівняння частот трапляння для різних виростків окремо у стегових або великогомілкових кістках	$\chi^2 = 0,812$ НВ		$\chi^2 = 0,0386$ НВ		$\chi^2 = 0,830^*$ НВ		$\chi^2 = 0,481^*$ НВ	
Активність ревматоїдного запалення у субхондральній спонгіозі:	n = 31	n = 29	n = 31	n = 29	n = 11	n = 11	n = 11	n = 11
– Низький ступінь (запалення відсутнє або низької активності)	12 (38,71 %)	19 (65,52 %)	17 (54,84 %)	12 (41,38 %)	6 (54,55 %)	8 (72,73 %)	7 (63,64 %)	8 (72,73 %)
– Високий ступінь (запалення високої активності)	19 (61,29 %)	10 (34,48 %)	14 (45,16 %)	17 (58,62 %)	5 (45,45 %)	3 (27,27 %)	6 (36,36 %)	3 (27,27 %)
Порівняння частот трапляння для різних виростків окремо у стегових або великогомілкових кістках	$\chi^2 = 4,312$ $p < 0,05$		$\chi^2 = 1,087$ НВ		$\chi^2 = 0,196^*$ НВ		$\chi^2 = 0,280^*$ НВ	

**Медіал:** медіальний (виросток); **латерал:** латеральний (виросток); **n:** кількість випадків у групі;  $\chi^2$ : значення критерію хі-квадрат, порівнюючи частоти в окремих групах; \*: під час розрахунку значення  $\chi^2$  враховано поправку Єйтса; **НВ:** невірні значення чи різниця частот.

вальгусних і варусних деформацій виявило: показник будови паннусу та активності запалення у групі хворих із вальгусною деформацією частіше набував високих значень у виростках великогомілкової кістки незалежно від ступеня компресії, а в групі хворих із варусною деформацією випадки з високими значеннями частіше траплялися у виростках стегової кістки. Однак різниця частот у парах порівняння «стегова – великогомілкова» були невірні під час оцінювання за критерієм  $\chi^2$ . Показник стадії дистрофічно-деструктивних змін у хворих із вальгусною деформацією частіше мав значення високого ступеня в медіальних виростках стегової кістки, в латеральних виростках – частіше

великогомілкової кістки. У хворих із варусною деформацією більшою була частота трапляння високого ступеня показника стадії ДДЗ у виростках стегової кістки. Але різниця частот у парах порівняння «стегова – великогомілкова», що наведені в таблиці 4, виявилися невірними. Активність ревматоїдного запалення у спонгіозі у хворих із вальгусною деформацією частіше відповідала високому рівню в медіальних виростках стегової кістки (різниця невірні за критерієм  $\chi^2$ ) та в латеральних виростках великогомілкової кістки (ймовірність помилки при оцінці вірогідності  $p < 0,1$ ). У хворих із варусною деформацією вищий ступінь показника також частіше визначали в медіальних

виростках стегнової кістки (невірогідно), а для латеральних виростків різницю частот між стегновими та великоомілковими кістками не визначили.

**Порівняння частот випадків із різним ступенем вираженості напівкілкісних морфометричних показників між різними виростками тих самих кісток (порівняння «медіальні – латеральні виростки»)** (табл. 5). Показник будови паннусу та активності запалення у групі хворих із вальгусною деформацією частіше має високий ступінь вираженості у менш компресованих медіальних виростках і стегнової, і великоомілкової кісток (різниця частот невірогідна), які при вальгусній деформації перебувають у стані меншої компресії порівняно з латеральними виростками обох цих кісток. Цей показник у разі варусної деформації показує більшу частоту трапляння випадків високого ступеня в латеральних виростках стегнової кістки (менший ступінь компресії), а у великоомілкової – у медіальних виростках із більшим ступенем компресії за цього виду деформації (різниця частот невірогідна). Показник стадії ДДЗ у хворих із вальгусною деформацією частіше мав високий ступінь вираженості в медіальних виростках, які перебувають у стані меншої компресії (різниця невірогідна). Але при варусній деформації частота трапляння випадків високого ступеня вираженості в медіальних виростках і стегнової, і великоомілкової кісток, які є більш компресованими, суттєво вища (більше ніж у 1,5 рази) порівняно з латеральними виростками обох кісток. Ймовірність помилки при оцінці вірогідності різниці між частотами уражень високого ступеня виростків стегнової кістки –  $p < 0,1$ .

Показник активності ревматоїдного запалення в субхондральній спонгіозі в разі вальгусної деформації частіше набуває високих значень у медіальних виростках стегнової кістки (менша компресія), ніж у латеральних (різниця вірогідна,  $p < 0,05$ ). При цьому виді деформації більшу частоту наявності випадків із високим ступенем вираженості визначили в латеральних виростках великоомілкової кістки, що перебувають у стані більшої компресії (різниця частот невірогідна). У хворих із варусною деформацією частота трапляння випадків із високим ступенем вираженості показника виявилася більшою в медіальних виростках і стегнової, і великоомілкової кісток – ті й інші перебувають у стані більшої компресії (різниця невірогідна).

## Обговорення

Сучасні уявлення про механізми, морфогенез і патогенез ураження СХ, СКП і глибоких ділянок губчастої кістки суглобових кінців при РА центральну роль щодо пошкодження та деструкції СХ відводять активованим фібробластоподібним синовіцитам і макрофагоцитам, які інфільтрують і пошкоджують СХ із різних боків [3]. Остаточо не доведено, з якої локалізації починається пошкодження ревматоїдним запаленням і згодом деструкція – з боку поверхневої зони СХ, на яку на шаровується паннус, що бере початок із синовіальної мембрани капсули (поверхнева локалізація пошкодження), чи з судинних каналів СКП або кістковомозкових порожнин (глибока локалізація пошкодження).

Агресивні щодо хряща та кісткової тканини активовані макрофагоцити виявляють в обох локалізаціях [4,12]. Так, на поверхні СХ домінує площинна резорбція СХ, а у глибокій зоні СХ відбувається вrostання судин із каналів СКП, хондрорезорбція та кісткові ерозії, часто розвивається осифікація, яка призводить до нерівномірно вираженої деформації суглобового кінця кістки [1]. У процесах активації макрофагів і остеокластів беруть участь численні клітинні та гуморальні фактори: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , металопротеїнази тощо [3].

Порівняно недавно з'явилися відомості про розширення групи про- та протизапальних цитокінів, що відіграють роль у патогенезі хронічних імуномедійованих ревматичних захворювань, включаючи РА. Це насамперед доповнення до сімейства інтерлейкінів IL-1 (IL-33, -36, -37, -38), IL-12 (IL-23, -27, -35, -39), а також IL-32 та IL-34. Показано, що у хворих на РА підвищений рівень IL-33 у сироватці порівняно зі здоровими особами або пацієнтами з іншими захворюваннями. Частина представників цього сімейства (IL-37, IL-38) мають протизапальну, інші (IL-36, -6, -8, -17, -22), навпаки, – прозапальну дію, але меншої активності порівняно з IL-1. Прозапальний вплив здійснюють також IL-12 і IL-23, а IL-27 має протизапальні властивості. Цитокін IL-32 сприяє деяким функціям, як-от диференціювання та загибель клітин (апоптоз), стимулює дію про- і протизапальних цитокінів [13].

В окремих роботах є спроби знайти відповідність між морфологічними та біохімічними показниками стану тканин суглобової поверхні та капсули за РА. На підставі даних МРТ-досліджень із посиленням гадолінієм, що показує певні біохімічні властивості СХ, і квантифікованим МРТ-оцінюванням товщини СХ метакарпально-фалангових суглобів, ширини міжкісткового та міжхрящового проміжків встановили: біохімічні властивості СХ частіше виявляють у суглобах зі зменшеними проміжками, тобто морфологічно сильніше уражених. Ступінь вираженості остейту та певною мірою синовіїту, але не ерозії кістки корелював із біохімічними змінами тканини СХ. Ці дані підтверджують концепцію, що синовіїт та остейт можуть бути основним тригером пошкодження СХ [14].

Окремі дослідження присвячені порівняльному аналізу патологічних змін у тканинах суглобових кінців у випадку РА та остеоартрозу. Так, методом гістоморфометрії спонгіозу вивчали периастикулярну остеопенію виростків кісток колінного суглоба у хворих на РА та ОА. Вірогідну різницю за показниками тотального об'єму кістки, об'єму остеоїда, неактивної та загальної остеоїдної поверхні та латентної поверхні резорбції між обома нозологіями не встановили. Вірогідно вищі середні величини за РА порівняно з ОА визначили за такими показниками: активна остеоїдна поверхня, загальна та активна резорбтивна поверхні, а також кількість остеобластів на одиницю площі тканини. Ці дані доводять факт посиленого обміну периастикулярної губчастої кісткової тканини (особливо в резорбтивній фазі) у випадку РА порівняно з ОА [10].

В іншій роботі, де методом гістоморфометрії порівняльно досліджували зразки периастикулярної спонгіозу хворих на РА та ОА, встановили: при РА у більшості зразків відбулося зменшення кісткового

об'єму та збільшення резорбційної поверхні. Параметри показників посиленого обміну кісткової тканини були значно збільшені поблизу грануляційної тканини з ознаками ревматоїдного запалення. Об'єм кісткових трабекул та активність запалення, що визначена за рівнем ШОЕ, мали негативну кореляцію. Підвищена ШОЕ була асоційована з високими параметрами поверхні та об'єму остеоїда [15].

Автори, які вивчали відмінності гістоархітеконики та показників кісткового ремоделювання в головках стегнової кістки в пацієнтів із РА та ОА, виявили: за обох нозологій субхондральна губчаста кістка мала вищий ступінь склерозування та активності перебування, ніж глибша спонгіоза. У випадку обох нозологій морфометричні характеристики спонгіози подібні, хоча в субхондральній губчастій кістці хворих на РА показники остеорезорбції мали вищі параметри, ніж при ОА [16].

Відомо, що і за ОА, і за РА ключова ознака ДДЗ – пошкодження СХ, яке завершується перебудовою СКП. Патологічні зміни при деструкції хрящового матриксу у випадку ОА й РА частково збігаються, але при ОА втрата СХ супроводжується енхондріальним окостенінням, а в разі РА пошкодження хряща є ключовим тригером клітинних реакцій у синовіальній оболонці, в ній відбувається активація фібробластоподібних синовіцитів, які здійснюють деструкцію СХ шляхом спрямованої інвазії. СХ і за ОА, і за РА відіграє активну роль як сигнальне середовище, котре акумулює біоактивні компоненти та розчинні фактори; останні взаємодіють із вбудованими у хрящ хондроцитами та вивільняються під час деградації СХ [17].

У поодиноких публікаціях наведені дані про зв'язок пошкодження тканин опорно-рухової системи з наступним розвитком РА. Так, у роботі [18] із 60 хворих на РА у 50 раніше були переломи або множинні пошкодження, які залучали осьовий скелет. У середньому через 9 місяців після пошкодження (від 2 тижнів до 36 місяців) очевидні ознаки запалення з'явилися в багатьох суглобах, які не були раніше пошкоджені. Із 60 хворих на РА 43 % мали позитивний тест на антинуклеарні антитіла. Автори вважають, що будь-яка значна травма суглобів може спричинити тривале локалізоване хронічне запалення впродовж невизначеного періоду часу, згодом призводити до поширення запалення на інші суглоби. В іншій роботі [9] методами гістоморфометричного аналізу й візуалізації в експерименті *in vivo* виявили значний ступінь втрати протеогліканів СХ після ін'єкцій у відповідний колінний суглоб IL-1 та колагенази у поєднанні з міченими синовіальними фібробластами. Припустили, що структурне пошкодження СХ істотно сприяє трансміграції синовіальних фібробластів, а превенція раннього пошкодження СХ має призводити до запобігання прогресуванню РА з поширенням на раніше не залучені суглоби.

Порівняльні дані про клінічні, біомеханічні, морфологічні та інші відмінності структур колінних суглобів при їхньому ураженні з розвитком вальгусної та варусної деформації є рідкісними в фаховій літературі. Наприклад, у дослідженні, що присвячене вивченню наслідків тотальної артропластики колінного суглоба у групах порівняння хворих на ОА, встановили: у разі

вальгусної деформації середні параметри віку та індексу маси тіла хворих на момент артропластики були меншими та частіше ускладнювалися підвивихом надколінка. Виявили інші відмінності, що впливали на параметри хірургічного втручання у хворих із різними видами фронтальних деформацій, втім функціональні результати операцій артропластики за шкалою бальних оцінок подібні [11].

У недавно опублікованій роботі здійснили проспективний аналіз морфологічних змін у 26 колінних суглобах від хворих на РА. Гістологічно оцінювали зразки СХ, СКП, менісків, кісткового мозку, синовіальної оболонки, напівкількісно оцінюючи поширеність патологічних змін. З-поміж виростків кісток, що утворюють колінний суглоб, найменший ступінь вираженості деструкції виявили в латеральному виростку стегна, проте автори не враховували тип деформації (вальгус – варус) і ступінь навантаження на виростки. У СХ виявили потоншення, деструкцію та фіброзування, а також гіперплазію хондроцитів; середні параметри ступеня ураження сильно варіювали. Автори вважають, що інфільтрація синовіальної оболонки може бути тригерним механізмом деструкції СХ і кісткового мозку [6].

Раніше виконали дослідження остеогенної активності стовбурових стромальних клітин кісткового мозку кісток, що утворюють колінний суглоб, у хворих на РА з наявністю фронтальних деформацій певного виду. Виявили суттєві відмінності параметрів в окремих виростках стегнової та великогомілкової кісток. Так, відрізнялися середні параметри показника ефективності клонування *ex vivo* колонійутворювальних одиниць фібробластів серед  $10^5$  ядромісних клітин кісткового мозку спонгіози виростків за деформацій різного виду. Якщо за вальгусу співвідношення середніх параметрів цього показника в низці виростків: латеральний стегнової кістки/медіальний стегнової/латеральний великогомілкової/медіальний великогомілкової – становило 5,78 / 7,66 / 2,42 / 2,38, то за варусної деформації параметри у тій самій послідовності виростків дорівнювали 0,00 / 0,26 / 6,30 / 0,06. Тобто тільки для медіальних виростків великогомілкової кістки середній параметр ефективності клонування перевищував параметр, одержаний для медіальних виростків стегнової кістки. Припустили, що на підставі цих даних можна об'єктивно оцінити структурно-функціональний стан виростків кісток – це важливо для прогнозування ефективності реновації кісткової тканини після ендопротезування [7].

Аналітичне клініко-морфологічне дослідження патологічних змін тканин виростків кісток, що утворюють колінний суглоб у хворих на РА, ускладнених фронтальними деформаціями, ґрунтується на врахуванні значень клінічних і клініко-візуалізаційних показників, а також низки напівкількісних морфометричних показників, що характеризують окремі аспекти ураження тканин виростків.

З-поміж клінічних показників, за якими порівнювали середні параметри груп хворих, є один вимірюваний – ступінь відхилення великогомілкової кістки, для якого встановлено вірогідні відмінності середніх параметрів у групах хворих із вальгусними та варусними деформаціями. Причиною відмінностей середніх

величин ступеня відхилення осі великогомілкової кістки (при вальгусі більше, ніж при варусі) можуть бути як анатомічні, так і біомеханічні фактори. Оскільки в нормі медіальний виросток стегнової кістки розташований у фронтальній площині дещо нижче, ніж латеральний, то до досягнення однакового за значенням кута відхилення великогомілкової кістки при варусі має минути більше часу, ніж при вальгусі. Якщо припустити початково однакове за ступенем ураження тканин виростків – СХ і СКП ревматоїдним запаленням, то, ймовірно, анатомічні структури латеральних виростків піддаються початковій деструкції та компресії раніше, ніж при варусній, і умови для виникнення порівняльних ступенів відхилення великогомілкової кістки саме за вальгусної деформації у структурах колінного суглоба складаються раніше, ніж відповідного ступеня відхилення у разі варусної деформації.

Результати дослідження показали, що частоти трапляння випадків із високими та низькими значеннями ступенів вираженості показників в різних виростках варіюють у широких межах. Відзначимо, що клінічні оцінки, які є більш інтегральними, доволі об'єктивно показують стан виростків, значення морфометричних показників варіюють дещо сильніше. Ступінь вираженості такого показника, як ДДЗ суглобових поверхонь відносно непогано визначається за клініко-візуалізаційними даними, але розподіл випадків за ступенем активності в поверхневих ділянках уражених виростків (СХ, паннус) і глибоких ділянках СКП у хворих на РА на клініко-морфологічному матеріалі раніше не вивчали.

## Висновки

1. Групи хворих на РА з ураженнями колінних суглобів, що ускладнені фронтальними деформаціями різного виду (вальгус – варус), вірогідно відрізняються за деякими клінічними та клініко-візуалізаційними показниками: ступенем відхилення осі великогомілкової кістки від норми (середнє значення для вальгусних деформацій майже в 1,5 раза вище) та ступенем ДДЗ (у латеральних виростках обох кісток, що перебувають у стані більшої компресії, частіше трапляються випадки з високим ступенем вираженості).

2. Морфометричні градаційні показники, які показують стан тканин суглобових поверхонь виростків стегнової та великогомілкової кісток: будова паннусу та запалення, стадія дистрофічно-деструктивних змін суглобової поверхні, активність запалення в субхондральній спонгіозі – виявляють різну частоту трапляння у тканинах усіх хворих на РА з ураженнями колінних суглобів, що ускладнилися фронтальними деформаціями.

3. У виростках кісток одного виду, що утворюють колінний суглоб, порівнюючи вальгусну й варусну деформації, частота трапляння випадків різного ступеня вираженості окремих морфометричних показників варіює за різного ступеня компресії: для показника будови паннусу та запалення випадки з більшим ступенем вираженості частіше трапляються у виростках стегнової кістки з меншою компресією, для показника стадії ДДЗ випадки високого ступеня частіше трапляються у більш навантажених виростках обох кісток,

для показника активності ревматоїдного запалення у спонгіозі частота випадків високого ступеня завжди більша за вальгусної деформації – і серед виростків з більшою компресією, і серед виростків з меншою компресією.

4. У виростках одного типу різних кісток, що утворюють колінний суглоб, порівнюючи різні кістки (стегнова, великогомілкова) за вальгусної деформації частота трапляння випадків із високим ступенем вираженості показника будови паннусу та запалення виявилася більшою у виростках великогомілкової кістки; за варусної деформації – у виростках стегнової кістки (незалежно від вираженості компресії). Випадки з високим ступенем показника стадії ДДЗ частіше траплялися у виростках стегнової кістки, особливо у разі варусної деформації. Випадки з високим ступенем показника активності запалення у спонгіозі у випадку вальгусної деформації траплялися частіше в медіальних виростках стегна (менш компресовані) та в латеральних виростках великогомілкових кісток (більш компресовані); у разі варусної деформації дещо більша частота трапляння випадків із високим ступенем вираженості виявлена в медіальних виростках стегна (стан більшої компресії).

5. Більша частота трапляння випадків із високим ступенем вираженості морфометричного показника будови паннусу та запалення при вальгусній деформації в обох кістках (стегнової, великогомілкової), а також у стегнової кістці за варусної деформації встановлена у виростках із меншим ступенем компресії; показника стадії ДДЗ – завжди в медіальних виростках обох кісток незалежно від виду деформації та ступеня компресії; показника активності ревматоїдного запалення у спонгіозі – також частіше в медіальних виростках при компресії різного ступеня; у разі вальгусної деформації у стегнової кістці різниця частот трапляння між медіальним (компресія менша, частота випадків високого ступеня більша) та латеральним виростками була статистично значущою.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати цього клініко-морфологічного аналітичного дослідження можуть бути враховані насамперед фахівцями, що планують і виконують ендопротезування колінних суглобів у хворих на РА. Результати дослідження показали, що у хворих на РА з фронтальними деформаціями колінних суглобів деякі клінічні, візуалізаційні та функціональні показники зумовлюють однозначніші оцінки, а за морфологічними показниками стан уражених тканин виростків стегна та великогомілкової кістки варіює більше, зумовлюючи потребу ретельнішого оцінювання стану паннусу на поверхні СХ або поверхні субхондральної кістки, активності ревматоїдного запалення у спонгіозі виростка, – ймовірно, застосовуючи візуалізаційні методи з високим розрізненням. У хворих на РА з фронтальними деформаціями колінного суглоба в разі відносної збереженості гістоструктур виростків, які не підлягають хірургічному видаленню, висока частота запальних змін високого ступеня може бути показанням до призначення курсів протиревматоїдної терапії.

**Фінансування**

Дослідження виконане в рамках НДР ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»: «Вивчити патогенетичний механізм виникнення деформацій нижніх кінцівок у хворих на ревматоїдний артрит, розробити нові та удосконалити наявні методи їхньої профілактики та лікування» (№ держреєстрації 0117U007737).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 10.03.2020

Після доопрацювання / Revised: 11.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 27.05.2020

**Відомості про авторів:**

Григорівський В. В., д-р мед. наук, професор, лікар-патологоанатом вищої категорії, зав. відділу патоморфології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-6375-1595

Автомєєнко Є. М., науковий співробітник науково-організаційного методичного відділу, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

**Information about authors:**

Hryhorovskiy V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Pathologist of the Highest Category, Head of the Department of Pathomorphology, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Avtomeienko Ye. M., Researcher of Scientific-Organizational Methodical Department of SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

**Сведения об авторах:**

Григорівський В. В., д-р мед. наук, професор, врач-патологоанатом высшей категории, зав. отделом патоморфологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Автомєєнко Е. М., научный сотрудник научно-организационного методического отдела, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

**Список літератури**

- Stable activation of fibroblasts in rheumatic arthritis – causes and consequences / A. Korb-Pap, J. Bertrand, J. Sherwood, T. Pap. *Rheumatology*. 2016. Vol. 55. P. 64-67. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew347>
- The role of cell-substrate interaction in regulating osteoclast activation: potential implications in targeting bone loss in rheumatoid arthritis / K. P. McHugh, Z. Shen, T. N. Crotti et al. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2010. Vol. 69. P. 83-85. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.120188>
- Harre U., Schett G. Cellular and molecular pathways of structural damage in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*. 2017. Vol. 39, Iss. 4. P. 355-363. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0634-0>
- Cartilage and bone damage in rheumatoid arthritis / M. Ostrowska, W. Maśliński, M. Prochorec-Sobieszek et al. *Reumatologia*. 2018. Vol. 56, Iss. 2. P. 111-120. <https://doi.org/10.5114/reum.2018.75523>
- Григорівський В. В. Бабко А. М., Герасименко А. С. Морфологічні показники патологічних змін кульшового суглоба, їх частота та кореляційні залежності між показниками гістоморфометрії спонгіози голівки стегнової кістки у хворих на ревматоїдний артрит. *Український ревматологічний журнал*. 2019. № 1. С. 49-59.
- Rheumatoid Arthritis of Knee Joints: MRI-Pathological Correlation / X. H. Meng, Z. Wang, X. N. Zhang et al. *Orthopaedic Surgery*. 2018. Vol. 10, Iss. 3. P. 247-254. <https://doi.org/10.1111/os.12389>
- Показники остеогенної активності стовбурових стромальних клітин кісткового мозку у хворих на ревматоїдний артрит за наявності фронтальних деформацій колінного суглоба / Л. М. Панченко, Є. М. Автомєєнко, С. І. Герасименко та ін. *Ортопедія, травматологія і протезування*. 2018. № 1. С. 29-35. <https://doi.org/10.15674/0030-59872018141-46>
- Кореляції гістоморфометричних показників спонгіози суглобових кінців стегнової кістки і результатів клінічних та лабораторних досліджень у хворих на ревматоїдний артрит / В. В. Григорівський, А. С. Герасименко, Л. М. Панченко, О. Б. Лютко. *Ортопедія, травматологія і протезування*. 2015. № 3. С. 36-45. <https://doi.org/10.15674/0030-59872015336-45>
- Structural cartilage damage attracts circulating rheumatoid arthritis synovial fibroblasts into affected joints / J. Hillen, C. Geyer, M. Heitzmann et al. *Arthritis Research & Therapy*. 2017. Vol. 19. P. Article 40. 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1245-9>
- Quantitative histologic studies on the pathogenesis of periarticular osteoporosis in rheumatoid arthritis / S. Shimizu, S. Shiozawa, K. Shiozawa et al. *Arthritis and Rheumatism*. 1985. Vol. 28, Iss. 1. P. 25-31. <https://doi.org/10.1002/art.1780280105>
- Clinical comparison of valgus and varus deformities in primary total knee arthroplasty following midvastus approach / P. H. Chou, W. M. Chen, C. F. Chen et al. *Journal of Arthroplasty*. 2012. Vol. 27, Iss. 4. P. 604-612. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2011.06.015>
- Amin M. A., Fox D. A., Ruth J. H. Synovial cellular and molecular markers in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*. Vol. 39, Iss. 4. P. 385-393. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0631-3>
- Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: new players and therapeutic targets / A. Alunno, F. Carubbi, R. Giacomelli, R. Gerli. *BMC rheumatology*. 2017. Vol. 1. P. 3. <https://doi.org/10.1186/s41927-017-0001-8>
- Osteitis and synovitis, but not bone erosion, is associated with proteoglycan loss and microstructure damage in the cartilage of patients with rheumatoid arthritis / B. Herz, A. Albrecht, M. Engbrecht et al. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014. Vol. 73, Iss. 6. P. 1101-1106. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202850>
- Histomorphometry of periarticular bone in rheumatoid arthritis / H. Kroger, I. Arnala, V. Rehnberg et al. *Annales Chirurgiae Et Gynaecologiae*. 1994. Vol. 83, Iss. 1. P. 56-62.
- Identical subchondral bone microarchitecture pattern with increased bone resorption in rheumatoid arthritis as compared to osteoarthritis / G. Li, Y. Ma, T. S. Cheng et al. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2014. Vol. 22, Iss. 12. P. 2083-2092. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.08.015>
- Pap T., Korb-Pap A. Cartilage damage in osteoarthritis and rheumatoid arthritis—two unequal siblings. *Nature Reviews Rheumatology*. 2015. Vol. 11, Iss. 10. P. 606-615. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.95>
- Brawer A. E., Goel N. The onset of rheumatoid arthritis following trauma. *Open Access Rheumatology-Research and Reviews*. 2016. Vol. 8. P. 77-80. <https://doi.org/10.2147/oaarr.s110560>

**References**

- Korb-Pap, A., Bertrand, J., Sherwood, J., & Pap, T. (2016). Stable activation of fibroblasts in rheumatic arthritis – causes and consequences. *Rheumatology*, 55, 64-67. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew347>
- McHugh, K. P., Shen, Z., Crotti, T. N., Flannery, M. R., O'Sullivan, R. P., Purdue, P. E., & Goldring, S. R. (2010). The role of cell-substrate interaction in regulating osteoclast activation: potential implications in targeting bone loss in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69, 83-85. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.120188>
- Harre, U., & Schett, G. (2017). Cellular and molecular pathways of structural damage in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, 39(4), 355-363. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0634-0>
- Ostrowska, M., Maśliński, W., Prochorec-Sobieszek, M., Nieciecki, M., & Sudol-Szopińska, I. (2018). Cartilage and bone damage in rheumatoid arthritis. *Reumatologia*, 56(2), 111-120. <https://doi.org/10.5114/reum.2018.75523>
- Hryhorovskiy, V. V., Babko, A. M., & Gerasymenko, A. M. (2019). Morfolohichni pokaznyky patolohichnykh zmin kulshovoho sughoba, yikh chastota ta korelyatsiini zalezhnosti mizh pokaznykamy histomorfometrii sponhiozy holivky stehnovoi kistky u khvorykh na revmatoidnyi artryt [Morphological indices of pathological changes of the hip joint, the frequency of their occurrence and correlations with indicators of femoral head spongiosa histomorphometry in patients with rheumatoid arthritis]. *Ukrainskyi revmatolohichnyi zhurnal*, (1), 49-59. [in Ukrainian].
- Meng, X. H., Wang, Z., Zhang, X. N., Xu, J., & Hu, Y. C. (2018). Rheumatoid Arthritis of Knee Joints: MRI-Pathological Correlation. *Orthopaedic Surgery*, 10(3), 247-254. <https://doi.org/10.1111/os.12389>
- Panchenko, L. M., Avtomeenko, Ye. M., Babko, A. M., Gerasymenko, S. I., Herasymenko, A. M., & Polishko, V. P. (2018). Pokaznyky osteohennoi aktyvnosti stovburovykh stromalnykh klityn kiskovoho mozku u khvorykh na revmatoidnyi artryt za naiavnosti frontalnykh deformatsii kolynnoho sughoba [The indexes of osteogenic stem cells activity in patients with rheumatoid arthritis and frontal knee deformities]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, (1), 29-35. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15674/0030-59872018141-46>
- Hryhorovskiy, V. V., Gerasymenko, A. S., Panchenko, L. M., & Lyutko, O. B. (2015). Korelyatsii histomorfometrichnykh pokaznyky



- sponhiozy suhlobovykh kintsiv stehnovoi kistky i rezultativ klinichnykh ta laboratornykh doslidzhen u khvorykh na revmatoidnyi artryt [Correlations of histomorphometrical indicators of spongiosa of the femur articular parts and the results of clinical and laboratory studies in patients with rheumatoid arthritis]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie*, (3), 36-45. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15674/0030-59872015336-45>
- [9] Hillen, J., Geyer, C., Heitzmann, M., Beckmann, D., Krause, A., Winkler, I., Pavenstadt, H., Bremer, C., Pap, T., & Korb-Pap, A. (2017). Structural cartilage damage attracts circulating rheumatoid arthritis synovial fibroblasts into affected joints. *Arthritis Research & Therapy*, 19, Article 40. <https://doi.org/10.1186/s13075-017-1245-9>
- [10] Shimizu, S., Shiozawa, S., Shiozawa, K., Imura, S., & Fujita, T. (1985). Quantitative histologic studies on the pathogenesis of periarticular osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 28(1), 25-31. <https://doi.org/10.1002/art.1780280105>
- [11] Chou, P. H., Chen, W. M., Chen, C. F., Chiang, C. C., Liu, C. L., & Chen, T. H. (2012). Clinical Comparison of Valgus and Varus Deformities in Primary Total Knee Arthroplasty Following Midvastus Approach. *Journal of Arthroplasty*, 27(4), 604-612. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2011.06.015>
- [12] Amin, M. A., Fox, D. A., & Ruth, J. H. (2017). Synovial cellular and molecular markers in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, 39(4), 385-393. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0631-3>
- [13] Alunno, A., Carubbi, F., Giacomelli, R., & Gerli, R. (2017). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: new players and therapeutic targets. *BMC rheumatology*, 7, 3. <https://doi.org/10.1186/s41927-017-0001-8>
- [14] Herz, B., Albrecht, A., Englbrecht, M., Welsch, G. H., Uder, M., Renner, N., Schlechtweg, P., Paul, D., Lauer, L., Engelke, K., Janka, R., Rech, J., Schett, G., & Finzel, S. (2014). Osteitis and synovitis, but not bone erosion, is associated with proteoglycan loss and microstructure damage in the cartilage of patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 73(6), 1101-1106. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-202850>
- [15] Kroger, H., Arnala, I., Rehnberg, V., Hamalainen, M., & Alhava, E. (1994). Histomorphometry of periarticular bone in rheumatoid arthritis. *Annales Chirurgiae Et Gynaecologiae*, 83(1), 56-62.
- [16] Li, G., Ma, Y., Cheng, T. S., Landao-Bassonga, E., Qin, A., Pavlos, N. J., Zhang, C., Zheng, Q., & Zheng, M. H. (2014). Identical subchondral bone microarchitecture pattern with increased bone resorption in rheumatoid arthritis as compared to osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22(12), 2083-2092. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.08.015>
- [17] Pap, T., & Korb-Pap, A. (2015). Cartilage damage in osteoarthritis and rheumatoid arthritis-two unequal siblings. *Nature Reviews Rheumatology*, 11(10), 606-615. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.95>
- [18] Brawer, A. E., & Goel, N. (2016). The onset of rheumatoid arthritis following trauma. *Open Access Rheumatology-Research and Reviews*, 8, 77-80. <https://doi.org/10.2147/oarr.s110560>

## Причини формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба

А. М. Доманський <sup>1,B,D,C</sup>, О. Є. Лоскутов <sup>1,E,F</sup>, В. М. Хом'яков <sup>\*2,A,C,E</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро, <sup>2</sup>ТОВ «Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини», Україна

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

### Ключові слова:

ліктьовий суглоб, травма, лікування, інвалідність.

### Патологія. 2020.

Т. 17, № 2(49).

С. 222-227

### \*E-mail:

[vikdoc@icloud.com](mailto:vikdoc@icloud.com)

**Мета роботи** – виявлення причин формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба.

**Матеріали та методи.** Обстежили 56 інвалідів внаслідок травм ліктьового суглоба. Причини формування інвалідності визначали за критеріями обмеження життєдіяльності під час встановлення груп (I, II, III) інвалідності. Протягом роботи враховували саме медичні причини, які призвели до стійких функціональних і морфологічних порушень.

**Результати.** До інвалідності призводили функціональні (контрактура чи анкілоз – у 100 % постраждалих) та морфологічні (повільне зрощення – 33,9 %, деформації кісток ліктьового суглоба – 32,1 %, невропатії променевого, середнього, ліктьового нервів – 16,1 %, хибні суглоби – 8,9 %, застарілі вивихи – 5,4 %, дефекти голівки променя – 1,8 %, остеомиєліти – 1,8 %) порушення ліктьового суглоба.

Функціональні порушення, як-от контрактуру, частіше виявляли під час консервативного лікування (24,5 %), накісткового остеосинтезу (45,3 %) та остеосинтезу шпильками та гвинтами (15,1 %), а анкілоз – під час консервативного лікування (2 із 3 випадків).

Морфологічні порушення, як-от хибні суглоби, частіше виявляли під час консервативного лікування та накісткового остеосинтезу (по 40 %); повільне зрощення – протягом накісткового остеосинтезу (42,1 %), черезкісткового остеосинтезу (21,1 %) та консервативного лікування (21,1 %); невропатії – під час накісткового остеосинтезу (44,5 %) та черезкісткового остеосинтезу (33,3 %); застарілі вивихи – протягом консервативного лікування (66,7 %); деформації кісток – під час накісткового остеосинтезу (50,0 %) та консервативного лікування (38,9 %).

**Висновки.** Причини формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба: морфологічні (повільне зрощення переломів – 33,9 %, деформації кісток, що утворюють ліктьовий суглоб, – 32,1 %, невропатії – 16,1 %, хибні суглоби – 8,9 %, застарілі вивихи – 5,4 %, дефекти голівки променя – 1,8 %, остеомиєліти – 1,8 %) та функціональні (контрактури з функціонально невідповідними діапазонами руху – 25,0 %, анкілози у функціонально невідповідному положенні – 5,4 %) стани. Порушення морфологічного та функціонального стану ліктьового суглоба, що призводять до інвалідності, можуть залежати і від тяжкості травм, і від видів і якості лікування.

### Key words:

elbow joint, trauma, treatment, disabled persons.

### Pathologia

2020; 17 (2), 222-227

## The causes of disability as a result of the elbow joint injuries

A. M. Domanskyi, O. Ye. Loskutov, V. M. Khomiakov

**The aim** of the work is to find out the causes of disability as a result of the elbow joint injuries.

**Materials and methods.** 56 people disabled due to elbow joint injuries were examined. Identification of the disability causes was performed according to the criteria of life activity limitation in the disability groups (I, II, III) establishment. In this research, the medical reasons that led to persistent functional and morphological disorders were considered.

**Results.** The conditions of the elbow joint that led to disability consisted of functional disorders in the form of contracture or ankylosis which were observed in 100 % of the affected patients, and morphological disorders in the form of slow healing – 33.9 %, deformities of the elbow joint bones – 32.1 %, neuropathies of the radial, median, ulnar nerves – 16.1 %, false joints – 8.9 %, obsolete dislocations – 5.4 %, defects of the radial head – 1.8 % and osteomyelitis – 1.8 %.

Functional abnormalities in the form of contracture were more frequently observed in conservative treatment (24.5 %), extramedullary osteosynthesis (45.3 %), and osteosynthesis with K-wires and screws (15.1 %), and ankylosis – in conservative treatment (2 of 3 cases).

Morphological disorders in the form of pseudoarthrosis were more often found in conservative treatment and extramedullary osteosynthesis (40 % each); slow healing – in extramedullary osteosynthesis (42.1 %), transosseous osteosynthesis (21.1 %) and conservative treatment (21.1 %); neuropathy – in extramedullary osteosynthesis (44.5 %) and transosseous osteosynthesis (33.3 %); obsolete dislocations – in conservative treatment (66.7 %); bone deformities – in extramedullary osteosynthesis (50.0 %) and conservative treatment (38.9 %).

**Conclusions.** The reasons for the formation of disability as a result of the elbow joint injuries are: a) morphological conditions in the form of slow fractures healing (33.9 %), deformities of the elbow joint bones (32.1 %), neuropathies (16.1 %), pseudoarthrosis (8.9 %), obsolete dislocations (5.4 %), defects of the radial head (1.8 %) and osteomyelitis (1.8 %); b) functional conditions in the form of contractures with functionally impaired range of motion – 25.0 % and ankylosis in functionally impaired position – 5.4 %. Disorders of the morphological and functional state of the elbow joint leading to disability may depend on both the severity of the injuries and the types and quality of the treatment.

## Причини формування інвалідності внаслідок травм локтевого суглоба

А. Н. Доманський, А. Е. Лоскутов, В. Н. Хомяков

**Цель работы** – определение причин формирования инвалидности вследствие травм локтевого сустава.

**Материалы и методы.** Обследовали 56 инвалидов вследствие травм локтевого сустава. Причины формирования инвалидности определяли согласно критериям ограничения жизнедеятельности при установлении групп (I, II, III) инвалидности. В работе учитывали именно медицинские причины, которые привели к стойким функциональным и морфологическим нарушениям.

**Результаты.** Инвалидность обусловили функциональные (контрактуры или анкилозы – у 100 % пострадавших) и морфологические (замедленная консолидация – 33,9 %, деформации костей – 32,1 %, невралгии лучевого, срединного, локтевого нервов – 16,1 %, ложные суставы – 8,9 %, застарелые вывихи – 5,4 %, дефекты головки луча – 1,8 %, остеомиелиты – 1,8 %) нарушения. Функциональные нарушения, а именно контрактуры, чаще отмечали при консервативном лечении (24,5 %), на костном остеосинтезе (45,3 %) и остеосинтезе спицами и винтами (15,1 %), а анкилоз – при консервативном лечении (2 из 3 случаев). Морфологические нарушения, а именно ложные суставы чаще диагностировали при консервативном лечении и на костном остеосинтезе (по 40 %); замедленной консолидации – при на костном остеосинтезе (42,1%), чрезкостном остеосинтезе (21,1 %) и консервативном лечении (21,1 %); невралгии – при на костном остеосинтезе (44,5 %) и чрезкостном остеосинтезе (33,3 %); застарелые вывихи – при консервативном лечении (66,7 %); деформации костей – при на костном остеосинтезе (50,0 %) и консервативном лечении (38,9 %).

**Выводы.** Причины формирования инвалидности вследствие травм локтевого сустава: морфологические (замедленное срастание переломов – 33,9 %, деформации костей – 32,1 %, невралгии – 16,1 %, ложные суставы – 8,9 %, застарелые вывихи – 5,4 %, дефекты головки луча – 1,8 %, остеомиелиты – 1,8 %) и функциональные (контрактуры в функционально невыгодном диапазоне движения – 25,0 %, анкилозы в функционально невыгодном положении – 5,4 %) состояния. Нарушение морфологического и функционального состояния локтевого сустава, приводящие к инвалидности, могут зависеть и от тяжести травм, и от видов и качества лечения.

**Ключевые слова:**  
локтевой сустав,  
травма, лечение,  
инвалидность.

**Патология. 2020.**  
**Т. 17, № 2(49).**  
**С. 222-227**

Інвалідність внаслідок травм є важливою медико-соціальною проблемою. Кількість інвалідів серед дорослого населення у 2017 р. в Україні – 13 936 осіб. 3-поміж них 1230 постраждалих уперше визнані інвалідами внаслідок травм верхньої кінцівки. За локалізацією ушкоджень інваліди з травмами плеча і плечевого суглоба становили 39,7 %, передпліччя і ліктьового суглоба – 26,3 %, кисті – 33,7 % випадків. Контрактури й анкілози ліктьового суглоба – причина інвалідизації у 12,7 % випадків [1].

Інвалідизація постраждалих зумовлена тяжкістю травм і їхніх наслідків, а також несвоєчасною, неспеціалізованою медичною допомогою, помилками діагностики й лікування, дефектами реабілітації та медико-експертної роботи [9,11].

Відновлення функції після тяжких травм ліктьового суглоба – складна й не вирішена нині проблема. Це зумовлено передусім біомеханічною будовою цього суглоба, відсутністю диференційованого підходу до лікування й реабілітації таких хворих [2].

### Мета роботи

Виявлення причин формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили за матеріалами Дніпровської травматологічної медико-соціальної експертної комісії № 1 за період 2012–2017 рр. Кількість постраждалих із наслідками травм ліктьового суглоба – 56.

Серед постраждалих 62,5 % чоловіків, 37,5 % жінок. Більшість (92,9 %) – особи працездатного віку (від 18 до 59 років). Середній вік –  $42,3 \pm 1,7$  року.

Піділ постраждалих за групами інвалідності: I група – не було, інвалідами II групи визнані 9 (16,1 %) осіб,

III групи – 41 (73,2 %) особа; поза групою інвалідності, але з відсотками втрати працездатності внаслідок виробничих травм – 6 (10,7 %) постраждалих.

Причини формування інвалідності внаслідок ушкоджень ліктьового суглоба визначали за ступенем обмеження життєдіяльності під час встановлення груп інвалідності (Інструкція про встановлення груп інвалідності) [4], критеріями встановлення ступеня стійкої втрати професійної працездатності у відсотках працівникам, яким заподіяно ушкодження здоров'я, пов'язане з виконанням трудових обов'язків (Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 420 від 05.06.2012) [5].

Протягом роботи враховували саме медичні причини, які призвели до стійких функціональних порушень і встановлення групи інвалідності або відсотків втрати професійної працездатності.

За класифікацією критеріїв життєдіяльності та ступенів їх вираженості [4], при легкому ступені обмеження життєдіяльності групу інвалідності не встановлюють; при помірному – III група інвалідності; при вираженому – II група інвалідності; при значному – I група інвалідності А чи Б.

Для оцінювання функції обмеження життєдіяльності використовували критерії функціонального та морфологічного стану ліктьового суглоба. Основна функція ліктьового суглоба полягає у забезпеченні розташування кисті у різних просторових положеннях щодо тіла; при згинанні та супінації дає можливість підносити кисть до обличчя, рота, грудної клітки (необхідно для їди, під час одягання, гігієнічних процедур тощо), а при розгинанні та пронації – захопити предмети. Тому визначення обсягу рухів у ліктьовому суглобі є вкрай важливим [3].

Нормальний обсяг згинання і розгинання в ліктьовому суглобі становить від  $0^\circ$  до  $140^\circ$  ( $\pm 10^\circ$ ), корисна

амплітуда руху – від 30° до 130°, а значна кількість рухів для забезпечення повсякденного життя проходять дугою 60–120°. Середнє значення нормального обсягу супінації – 85°, пронації – 70°, а для забезпечення повсякденних життєвих потреб достатня амплітуда супінації та пронації 50–0–50° [8,9].

Порушення рухів у ліктьовому суглобі проявляються в контрактурах, які мають ступені вираженості, враховуючи функціонально корисні положення. За критеріями встановлення ступеня стійкої втрати професійної працездатності [5], які збігаються з класифікацією Мейо [6], розрізняють ступені обмеження амплітуди згинання та розгинання в ліктьовому суглобі: помірний – 100° і більше; виражений – від 99° до 50°; значний – менше ніж 50°.

Критерії стійких морфологічно-функціональних порушень ліктьового суглоба, за наявності яких постраждалих визнають інвалідами [4]:

- анкілоз ліктьового суглоба у функціонально невідгідному положенні – під кутом менше ніж 80° та понад 90°;
- ліктьовий суглоб, що хитається внаслідок резекції суглобової поверхні плечової або ліктьової кісток;
- хибний суглоб плеча або обох кісток передпліччя;
- різко виражена контрактура ліктьового суглоба у функціонально невідгідному положенні (розгинання менше ніж 30°, згинання понад 130°);
- контрактура передпліччя в положенні повної пронації.

У дослідженні використали методи документального обліку та варіаційної статистики.

### Результати

Поділ пацієнтів за локалізацією травми: 46,4 % (26 осіб) з ушкодженнями дистального метаепіфізу плечової кістки; 8,9 % (5 осіб) з ушкодженнями голівки променевої кістки; 14,3 % (8 осіб) з ушкодженнями проксимального метаепіфізу ліктьової кістки; 25,0 % (14 осіб) з переломами кісток передпліччя, що складають ліктьовий суглоб; 5,4 % (3 особи) з переломами плечової кістки, поєднаними з переломами кісток передпліччя, що утворюють ліктьовий суглоб.

Права рука травмована у 26 (46,4 %) осіб, ліва – у 30 (53,6 %).

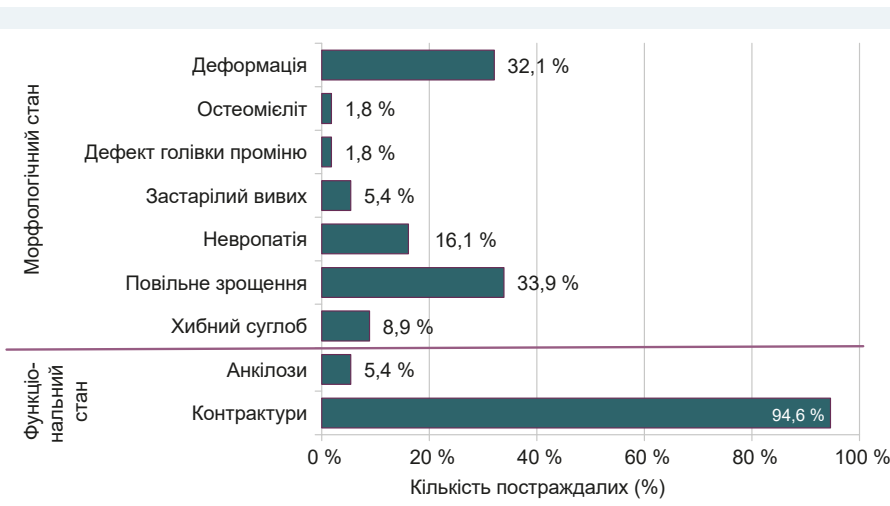
Причини травми: ДТП – 16,1 %, катотравма – 5,4 %, дія механізмів – 21,4 %, падіння з ніг чи стільців – 57,1 %; виробничі травми – 10,7 % випадків, побутові – 89,3 %.

Більшість (73,2 %) – інваліди III групи, що зумовлено тяжкістю травми, тривалими строками лікування внаслідок ускладнень, а також втратою професії чи необхідністю перенавчання. Такі постраждалі мали помірний ступінь обмеження життєдіяльності. Інваліди II групи (16,1 %) мали виражений ступінь обмеження життєдіяльності, наслідки суміщених травм кінцівки з іншими органами і системами, потребували часткової сторонньої допомоги й особливих умов праці та побуту. У 6 (10,7 %) постраждалих із наслідками виробничих травм встановили легкий ступінь обмеження життєдіяльності; їм інвалідність не визначали, але встановлювали відсотки втрати професійної працездатності – від 5 % до 25 %.

Морфологічно-функціональні стани ліктьового суглоба, що призводили до інвалідності та котрі можна визначити як ускладнення патологічного процесу та лікування, наведені на *рис. 1*. Функціональні порушення, як-от контрактуру чи анкілоз, діагностували у 100 % постраждалих на фоні морфологічних порушень: повільного зрощення – 33,9 %, деформації кісток ліктьового суглоба (неправильно зрощені внутрішньосуглобові переломи тощо) – 32,1 %, невропатії променевого, серединного, ліктьового нервів – 16,1 %, хибних суглобів – 8,9 %, застарілих вивихів – 5,4 %, дефектів голівки променя – 1,8 %, остеомієлітів – 1,8 %.

Інвалідизуючими були стани з функціонально невідгідними діапазонами руху в ліктьовому суглобі при виражених і значних ступенях контрактури, сумарно становлячи 25,0 % (*рис. 2*), і з функціонально невідгідними положеннями при анкілозі – 5,4 %.

У разі виникнення ускладнень, як-от контрактури ліктьового суглоба у функціонально вигідному діапазоні руху, інвалідизуючими були прояви морфологічних порушень: повільне зрощення переломів (48,7 %), деформації кісток, що утворюють ліктьовий суглоб



**Рис. 1.** Морфологічні та функціональні стани ліктьового суглоба, що призводять до інвалідності.

(30,8 %), невротії променевого, ліктьового, середнього нервів (12,8 %) (табл. 1).

У випадку функціонально невіддільних контрактур ліктьового суглоба серед морфологічних порушень здебільшого визначали невротії (28,6 %), деформації кісток (28,6 %), хибні суглоби (21,4 %), застарілі вивихи (21,4 %).

Лікування травм ліктьового суглоба (рис. 3) здійснювали, застосовуючи консервативні (26,8 %) й оперативні (71,4 %) методи, що впливали на результати. Один постраждалий (1,8 %) із застарілим вивихом для отримання медичної допомоги не звертався. Оперативні втручання включали накістковий остеосинтез (42,8 %), черезкістковий – апаратами Ілізарова та стрижневими (12,5 %), шплицями та гвинтами (16,1 %).

Зв'язок між видами лікування та функціональним станом ліктьового суглоба наведено в таблиці 2. Контрактури частіше виявляли під час консервативного лікування (24,5 %), накісткового остеосинтезу (45,3 %) та остеосинтезу шплицями, гвинтами (15,1 %), а анкілоз – у разі консервативного лікування (2 з 3 випадків).

Зв'язок між видами лікування і морфологічним станом ліктьового суглоба наведено в таблиці 3. Хибні суглоби частіше визначали протягом консервативного лікування й накісткового остеосинтезу (по 40 %); повільне зрощення – під час накісткового остеосинтезу (42,1 %), черезкісткового остеосинтезу (21,1 %), консервативного лікування (21,1 %); невротії – у разі накісткового остеосинтезу (44,5 %), черезкісткового остеосинтезу (33,3 %); застарілі вивихи – під час консервативного лікування (66,7 %); деформацію кісток – протягом накісткового остеосинтезу (50,0 %), консервативного лікування (38,9 %).

## Обговорення

За даними фахової літератури, наслідки травм передпліччя і ліктьового суглоба, які приводять до інвалідності, становлять 26,3 % випадків від інвалідів внаслідок травм верхньої кінцівки. Контрактури й анкілози ліктьового суглоба – причина інвалідизації у 12,7 % випадків [1].

За результатами дослідження, яке здійснили, до інвалідності призводили функціональні (значні контрактури – у 25,0 %, анкілози – 5,4 % постраждалих) і морфологічні (повільне зрощення – 33,9 %, деформації кісток ліктьового суглоба – 32,1 %, невротії променевого, середнього, ліктьового нервів – 16,1 %, хибні суглоби – 8,9 %, застарілі вивихи – 5,4 %, дефекти голівки променя – 1,8 %, остеомієліти – 1,8 %) порушення ліктьового суглоба.

Функціональні та морфологічні порушення у ліктьовому суглобі зумовлені тяжкістю травми, тактикою лікування.

Функціональні порушення, як-от контрактуру, частіше діагностували під час консервативного (24,5 %) й оперативного (накістковий остеосинтез – 45,3 %, остеосинтез шплицями, гвинтами – 15,1 %) лікування, а анкілоз – протягом консервативного лікування (2 із 3 випадків).

Морфологічні порушення, як-от хибні суглоби, частіше виявляли під час консервативного лікування

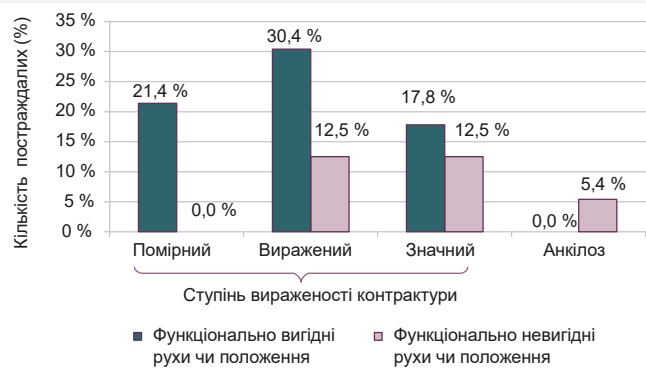


Рис. 2. Ступінь вираженості контрактур ліктьового суглоба з функціонально вигідними або невіддільними рухами чи положеннями.

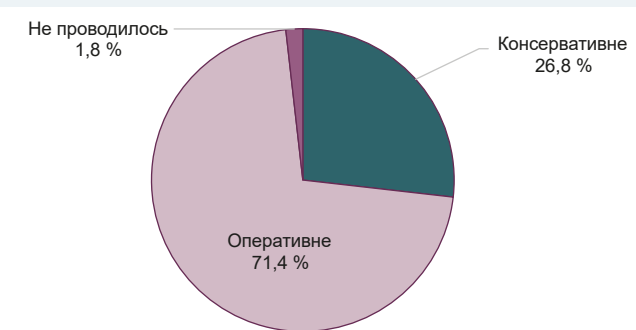


Рис. 3. Структура видів лікування.

Таблиця 1. Зв'язок між функціональним і морфологічним станом ліктьового суглоба

Морфологічний стан ліктьового суглоба	Функціональний стан ліктьового суглоба					
	Функціонально вигідна амплітуда руху чи положення		Функціонально невіддільна амплітуда руху чи положення			
	Контрактура		Контрактура		Анкілоз	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Хибний суглоб	1	2,6	3	21,4	1	33,3
Повільне зрощення	19	48,7	0	0	0	0
Невротія	5	12,8	4	28,6	0	0
Застарілі вивихи	0	0	3	21,4	0	0
Дефект голівки променя	1	2,6	0	0	0	0
Остеомієліт	1	2,6	0	0	0	0
Деформація кісток	12	30,8	4	28,6	2	66,7
Загалом	39	100	14	100	3	100

Таблиця 2. Зв'язок між видами лікування і функціональним станом ліктьового суглоба

Вид лікування	Функціональний стан ліктьового суглоба					
	Контрактура		Анкілоз		Загалом	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Консервативне	13	24,5	2	66,7	15	26,8
Оперативне						
Накістковий остеосинтез	24	45,3	0	0	24	42,8
Черезкістковий остеосинтез	7	13,2	0	0	7	12,5
Шплицями, гвинтами	8	15,1	1	33,3	9	16,1
Не було	1	1,9	0	0	1	1,8
Загалом	53	100	3	100	56	100

Таблиця 3. Зв'язок між видами лікування і морфологічним станом ліктьового суглоба

Вид лікування	Морфологічний стан ліктьового суглоба													
	Хи�ний суглоб		Повільне зрощення		Невропатія		Застарілі вивихи		Дефект голівки променю		Остеомієліт		Деформація кісток	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Консервативне	2	40	4	21,1	0	0	2	66,7	0	0	0	0	7	38,9
Оперативне														
Накістковий остеосинтез	2	40	8	42,1	4	44,5	0	0	1	100	0	0	9	50,0
Черезкістковий остеосинтез	0	0	4	21,1	3	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0
Шплиці, гвинти	1	20	3	18,8	2	22,2	0	0	0	0	1	100	2	11,1
Не було	0	0	0	0	0	0	1	33,3	0	0	0	0	0	0
Загалом	5	100	19	100	9	100	3	100	1	100	1	100	18	100

та накісткового остеосинтезу (по 40 %); повільне зрощення – протягом накісткового остеосинтезу (42,1 %), черезкісткового остеосинтезу (21,1 %) та консервативного лікування (21,1 %); невропатії – під час накісткового остеосинтезу (44,5 %) та черезкісткового остеосинтезу (33,3 %); застарілі вивихи – протягом консервативного лікування (66,7 %); деформації кісток – під час накісткового остеосинтезу (50,0 %) та консервативного лікування (38,9 %).

За рекомендаціями Асоціації з вивчення внутрішньої фіксації, точне відновлення конгруентності суглобових поверхонь є запорукою успіху лікування переломів кісток ліктьового суглоба, що досягається шляхом використання стабільно функціонального остеосинтезу внутрішньої фіксації, й ускладнення виникають у 15 % випадків [7,10].

За результатами дослідження, інвалідність внаслідок травм ліктьового суглоба у разі використання накісткового стабільно функціонального остеосинтезу внутрішньої фіксації превалює над іншими (понад 40 %). Це може бути зумовлено недосконалістю використання техніки методу внутрішньої фіксації та порушенням тактики лікування.

Отже, вважаємо необхідною уніфікацію підходів спеціалізованої медичної допомоги в Україні: удосконалення навичок накісткового остеосинтезу при травмах ліктьового суглоба та складання диференційованої програми медичної реабілітації для підвищення ефективності лікування, профілактики інвалідності, враховуючи шляхи формування стійких морфологічних і функціональних порушень.

## Висновки

1. Причини формування інвалідності внаслідок травм ліктьового суглоба: морфологічні (повільне зрощення переломів – 33,9 %, деформації кісток, що утворюють ліктьовий суглоб, – 32,1 %, невропатії – 16,1 %, хи�ні суглоби – 8,9 %, застарілі вивихи – 5,4 %, дефекти голівки променя – 1,8 %, остеомієліти – 1,8 %) та функціональні (контрактури з функціонально невідповідними діапазонами руху – 25,0 %, анкілози у функціонально невідповідному положенні – 5,4 %) стани.

2. Порушення морфологічного та функціонального стану ліктьового суглоба, що призводять до інвалідності, можуть залежати і від тяжкості травм, і від видів і якості лікування.

**Перспективи подальших досліджень** полягають в уніфікації підходів спеціалізованої медичної допомоги та складання диференційованої програми медичної реабілітації при травмах ліктьового суглоба.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: «Розробка нових та удосконалення існуючих методів лікування травм та захворювань опорно-рухової системи» (№ держреєстрації 0117U004201).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 07.01.2020

Після доопрацювання / Revised: 17.06.2020

Прийнято до друку / Accepted: 25.06.2020

## Відомості про авторів:

Доманський А. М., канд. мед. наук, асистент каф. травматології та ортопедії, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0001-5943-1452](https://orcid.org/0000-0001-5943-1452)

Лоскутов О. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. ортопедії та травматології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, академік НАМН України.

Хом'яков В. М., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії з курсом ортопедії і травматології, ТОВ «Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини», м. Дніпро, Україна. ORCID ID: 0000-0002-3985-3305

## Information about authors:

Domanskyi A. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Traumatology and Orthopedics, SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Loskutov O. Ye., Academician of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Khomiakov V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Surgery with the Course of Orthopedics and Traumatology, LTD "Dnipropetrovsk Medical Institute of Traditional and Non-traditional Medicine", Dnipro, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Доманский А. Н., канд. мед. наук, ассистент каф. травматологии и ортопедии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Лоскутов А. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. ортопедии и травматологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро, академик НАМН Украины.

Хомяков В. Н., канд. мед. наук, доцент каф. хирургии с курсом ортопедии и травматологии, ООО «Днепропетровский медицинский институт традиционной и нетрадиционной медицины», г. Днипро, Украина.

### Список літератури

- [1] Стан інвалідності внаслідок травм верхньої кінцівки в Україні за 2017 рік / Л. Ю. Науменко, А. В. Іпатов, Т. О. Зуб, А. О. Маметьєв. *Травма*. 2018. Т. 19, № 4. С. 9-14. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.4.19.2018.142100>
- [2] Куринний І. М., Страфун О. С. Лікування «нешасливої триади ліктового суглоба» та її наслідків. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2015. № 2. С. 42-47. <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872015242-47>
- [3] Капанджи А. И. Верхняя конечность. Физиология суставов : схемы биомеханики человека с комментариями. Т. 1. Москва : Эксмо, 2014. 365 с.
- [4] Про затвердження Інструкції про встановлення груп інвалідності : наказ Міністерства охорони здоров'я України № 561 від 05.09.2011. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1295-11#Text>
- [5] Критерії встановлення ступеня стійкої втрати професійної працездатності у відсотках працівникам, яким заподіяно ушкодження здоров'я, пов'язане з виконанням трудових обов'язків : наказ Міністерства охорони здоров'я України № 420 від 05.06.2012. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1388-12#Text>
- [6] Morrey B., Sanchez-Sotelo J., Morrey M. *The Elbow and Its Disorders*. 5th ed. Mayo Foundation for Medical Education and Research. Elsevier, 2018. 1200 p.
- [7] Buckley R. E., Moran C. G., Apivatthakakul T. *AO Principles of Fracture Management*. Vol. 1 : Principles, Vol. 2 : Specific Fractures. Davos Platz ; Switzerland, 2017. 1120 p.
- [8] Risk Factors for Elbow Joint Contracture After Surgical Repair of Traumatic Elbow Fracture / K. D. Carlock, I. R. Bianco, D. N. Kugelman. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2020. Advance online publication. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-18-00801>
- [9] Mittal R. Posttraumatic stiff elbow *Indian journal of orthopaedics*. 2017. Vol. 51, Iss 1. P. 4-13. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.197514>
- [10] Management of complex Elbow Dislocations: A Mechanistic Approach / J. D. Wyrick, S. K. Dayley, J. M. Günsenhaeuser, E. C. Casstevens. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2015. Vol. 23, Iss. 5. P. 297-306. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-14-00023>
- [11] Профилактика, лечение и реабилитация посттравматических и послеоперационных контрактур локтевого сустава / А. А. Бурьянов, В. П. Кваша, И. А. Соловьев и др. *Літопис травматології та ортопедії*. 2018. № 3-4. С. 143-147.

### References

- [1] Naumenko, L. Yu., Ipatov, A. V., Zub, T. O., & Mametyev, A. O. (2018). Stan invalidnosti vnaslidok travm verkhnoi kintsivky v Ukraini za 2017 rik [State of disability due to upper extremity traumas in Ukraine in 2017]. *Travma*, 19(4), 9-14. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.4.19.2018.142100>
- [2] Kurinnyi, I. M., Strafun, O. S. (2015). Likuvannia "neshaslyvoi triady liktovoho suhloba" ta yii naslidkiv [Treatment of "unhappy triad of the elbow" and its consequences]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovannia*, (2), 42-47. [in Ukrainian]. <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872015242-47>
- [3] Kapandzhi, A. I. (2014). *Verkhnyaya konechnost', fiziologiya sustavov : skhemy biomekhaniki cheloveka s kommentariyami* [Upper limb. Physiology of joints: schemes of human biomechanics with comments]. Vol. 1. Moscow: Eksmo. [in Russian].
- [4] Ministry of Health of Ukraine. (2011, September 5). *Instruktsiia pro vstanovlennia hrup invalidnosti* [Instruction on the establishment of disability groups (No. 561)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1295-11#Text>
- [5] Ministry of Health of Ukraine. (2012, June 5). *Kryterii vstanovlennia stupenia stiiikoi vtratyi profesiinnoi pratsездatnosti u vidsotkakh pratsivnykam, yakym zapodiiano ushkodzhennia zdorovia, poviazane z vykonanniam trudovykh oboviazkiv* [Criteria for determining the degree of permanent loss of professional capacity for work as a percentage of employees who have suffered health damage related to the performance of duties (No. 420)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1388-12#Text>
- [6] Morrey, B., Sanchez-Sotelo, J., Morrey, M. (2018). *The Elbow and Its Disorders*. 5th ed. Elsevier.
- [7] Buckley R. E., Moran C. G., & Apivatthakakul T. (2017). *AO Principles of Fracture Management*. Vol. 1: Principles. Vol. 2: Specific Fractures. Davos Platz, Switzerland.
- [8] Carlock, K. D., Bianco, I. R., Kugelman, D. N., Konda, S. R., & Egol, K. A. (2020). Risk Factors for Elbow Joint Contracture After Surgical Repair of Traumatic Elbow Fracture. *The Journal of the American*

- Academy of Orthopaedic Surgeons*, 10.5435/JAAOS-D-18-00801. Advance online publication. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-18-00801>
- [9] Mittal, R. (2017). Posttraumatic stiff elbow. *Indian journal of orthopaedics*, 51(1), 4-13. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.197514>
- [10] Wyrick, J. D., Dailey, S. K., Gunzenhaeuser, J. M., & Casstevens, E. C. (2015). Management of complex elbow dislocations: a mechanistic approach. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 23(5), 297-306. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-14-00023>
- [11] Byrianov, A. A., Kvasha, V. P., Solovyov, I. A., Kovalchuk, D. U., & Chekushyn, D. A. (2018). Profilaktika, lechenie i reabilitatsiya post-travmaticheskikh i posleoperatsionnykh kontraktur lokteвого sustava [Prevention, treatment and rehabilitation of post-traumatic and post-operative contractures of the elbow joint]. *Litopis travmatologiyi ta ortopediyi*, (3-4), 143-147. [in Russian].

# TLR-mediated activation of peripheral blood monocyte phagocytosis in patients with multiple sclerosis

A. I. Skliar  \*1,B,D,E, O. M. Koliada  2,B,C,D, N. I. Vdovichenko  1,B,C,D, T. I. Koliada  1,A,C,E,F

<sup>1</sup>SI "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, <sup>2</sup>Kharkiv National Medical University, Ukraine

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

**Key words:**  
multiple sclerosis,  
IFN- $\beta$ ,  
phagocytic activity  
of monocytes,  
Toll-like receptors.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 228-233

\*E-mail:  
[labimmun@gmail.com](mailto:labimmun@gmail.com)

**The aim of the study:** to reveal peculiarities of the phagocytic activity of TLR4, TLR7/8-activated monocytes of peripheral blood, depending on the type of multiple sclerosis and clinical effectiveness of the treatment.

**Material and methods.** *E. coli* or ssRNA40/LyoVec lipopolysaccharide as TLR4 and TLR7/8 agonists were added to the monocyte-enriched cell suspension, respectively, and incubated for 24 hours at t 37 °C under an atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub>. In parallel series, ram erythrocytes (RE) sensitized with hemolytic serum and inactivated *C. albicans* cells were used as phagocytosis objects; the incubation time was 30 minutes. The phagocytic index was calculated as the percentage of phagocytic monocytes and the phagocytic number as the ratio of the total number of absorbed REs or *C. albicans* cells to the number of monocytes that entered into phagocytosis. The study presents the results of examination of 58 patients with recurring remitting (RRMS) and 36 patients with progressive (PMS) multiple sclerosis.

**Results.** The differences in the activation mechanisms of peripheral blood monocytes in patients with PC, which consist in different phagocytic activity in response to stimulation of TLR4 and TLR 7/8 depending on the disease conditions, were presented. Phagocytic activity lesions of monocytes were observed both in patients with RRMS and PMS, associated mainly with FcR-mediated mechanisms of phagocytosis.

IFN- $\beta$  therapy in patients with RRMS led to the correction of such disorders in patients with high treatment efficacy (responders), and TLR7/8-mediated activation of monocytes was accompanied by an increase in the number of phagocytic cells. In patients with low efficacy of IFN- $\beta$  therapy (nonresponders), the nature of changes in the phagocytic activity of stimulated monocytes indicated a decrease in the functional reserve with regard to FcR-mediated phagocytosis.

**Conclusions.** The obtained results indicate differences in phagocytic activity indices during stimulation of TLR4 and TLR7/8 and may indicate the presence of functional and phenotypic alterations of peripheral blood monocytes depending on the effectiveness of MS treatment.

**Ключові слова:**  
розсіяний склероз,  
IFN- $\beta$ , фагоцитарна  
активність  
моноцитів,  
Толл-подібні  
рецептори.

**Патологія. 2020.**  
**Т. 17, № 2(49).**  
**С. 228-233**

## TLR-опосередкована активація фагоцитозу моноцитів периферичної крові у хворих на розсіяний склероз

A. I. Skliar, O. M. Koliada, N. I. Vdovichenko, T. I. Koliada

**Мета роботи** – визначити особливості фагоцитарної активності TLR4, TLR7/8-активованих моноцитів периферичної крові залежно від типу перебігу розсіяного склерозу та ефективності лікування.

**Матеріали та методи.** У збагачену моноцитами суспензію клітин додавали ліпополісахарид *E. coli* або ssRNA40/LyoVec як агоністи TLR4 та TLR7/8 відповідно та інкубували протягом 24 годин за t 37 °C при атмосфері 5 % CO<sub>2</sub>. Як об'єкт фагоцитозу використали в паралельних серіях сенсibilізовані гемолітичною сироваткою еритроцити барана (ЕБ) та інактивовані клітини *C. albicans*, час інкубації – 30 хвилин. Розраховували фагоцитарний індекс (ФІ) як відсоток моноцитів, що фагоцитують, та фагоцитарне число (ФЧ) як відношення загальної кількості поглинутих ЕБ або клітин *C. albicans* до числа моноцитів, що вступили в фагоцитоз. Наведені результати обстеження 58 пацієнтів із рецидивно-ремітувальним (PPPC) і 36 осіб із типом (ПРС) розсіяного склерозу, що прогресує.

**Результати.** Показано різну фагоцитарну активність моноцитів периферичної крові у відповідь на стимуляцію TLR4 та TLR7/8 у хворих на РС, що свідчить про особливості механізмів активації мононуклеарних клітин залежно від типу перебігу захворювання.

Пригнічення фагоцитарної активності моноцитів спостерігали в пацієнтів із PPPC, більше – у хворих на ПРС, що передусім пов'язано із FcR-опосередкованими механізмами фагоцитозу.

Ефективність лікування IFN- $\beta$  у хворих на PPPC супроводжувалася нормалізацією фагоцитарних реакцій моноцитів, і TLR7/8-опосередкована активація моноцитів – підвищенням кількості клітин, що фагоцитують.

У пацієнтів із незадовільними результатами лікування IFN- $\beta$  зниження фагоцитарної активності стимульованих моноцитів свідчить про зниження функціонального резерву щодо FcR-опосередкованого фагоцитозу.

**Висновки.** Результати вказують на різну активність мононуклеарних клітин при стимуляції TLR4, TLR7/8 і можуть свідчити про наявність функціональних і фенотипових альтерацій моноцитів периферичної крові залежно від ефективності лікування РС.



## TLR-опосредованная активация фагоцитоза моноцитов периферической крови у больных рассеянным склерозом

А. И. Скляр, О. Н. Коляда, Н. И. Вдовиченко, Т. И. Коляда

**Цель работы** – определить особенности фагоцитарной активности TLR4, TLR7/8-активированных моноцитов периферической крови в зависимости от типа течения рассеянного склероза и эффективности лечения.

**Материалы и методы.** В обогащенную моноцитами суспензию клеток добавляли липополисахарид *E. coli* или ssRNA40/LyoVec в качестве агонистов TLR4 и TLR7/8 соответственно и инкубировали в течение 24 часов при  $t$  37 °C при атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>. В качестве объекта фагоцитоза использовали в параллельных сериях сенсibilизированные гемолитической сывороткой эритроциты барана (ЭБ) и инактивированные клетки *C. albicans*, время инкубации – 30 минут. Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ) как процент фагоцитирующих моноцитов, фагоцитарное число (ФЧ) как отношение общего количества поглощенных ЭБ или клеток *C. albicans* к числу моноцитов, вступивших в фагоцитоз. Представлены результаты обследования 58 пациентов с рецидивирующим-ремиттирующим (PPPC) и 36 человек с прогрессирующим типом (ПРС) рассеянного склероза.

**Результаты.** Показана разная фагоцитарная активность моноцитов периферической крови в ответ на стимуляцию TLR4 и TLR7/8 у больных РС, что показывает особенности механизмов активации мононуклеарных клеток в зависимости от типа течения заболевания. Угнетение фагоцитарной активности моноцитов наблюдали у пациентов с PPPC, в большей степени – у больных ПРС, что в основном связано с FcR-опосредованными механизмами фагоцитоза.

Эффективность лечения IFN- $\beta$  у больных PPPC сопровождалась нормализацией фагоцитарных реакций моноцитов, и TLR7/8-опосредованная активация моноцитов сопровождалась повышением количества фагоцитирующих клеток. У пациентов с неудовлетворительными результатами лечения IFN- $\beta$  снижение фагоцитарной активности стимулированных моноцитов указывает на снижение их функционального резерва в отношении FcR-опосредованного фагоцитоза.

**Выводы.** Результаты указывают на разную активность мононуклеарных клеток при стимуляции TLR4 и TLR7/8 и могут свидетельствовать о наличии функциональных и фенотипических альтераций моноцитов периферической крови в зависимости от эффективности лечения РС.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, IFN- $\beta$ , фагоцитарная активность моноцитов, Toll-подобные рецепторы.

**Патология.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 228-233

Mononuclear phagocytes are known to be one of the initiators of inflammatory responses in various pathological conditions, including autoimmune demyelinating diseases. Therefore, the study of the role of these immune cells in the development of inflammatory processes in microglia may be a promising direction in investigating the pathogenic mechanisms involved in multiple sclerosis (MS) [1-4].

Acting as direct orthologues of glial cells of the central nervous system, peripheral blood monocytes are a valuable model system for studying the role of microglia in neurodegeneration [2]. Moreover, it is known that the functional properties of phagocytic cells may change in the course of inflammation, indicating that there is a direct link between these processes [1,4,5].

TLR-mediated activation (via Toll-like receptors) of peripheral blood monocytes is one of the physiological mechanisms of innate immunity resulting in the involvement of these cells in the process of immune response formation. Stimulation of TLRs of different types by agonists specific to them causes activation of the signaling pathway cascade, which in turn leads to the development of general and subpopulation-dependent functional reactions inherent in peripheral blood monocytes. It is known that TLR4 plays an important role in the development of inflammation and is part of one of the oldest signaling mechanisms of innate immunity [6-8], and an important role of TLR7/8 signaling in the development of neuroinflammatory processes has been shown [9,10].

Treatment of multiple sclerosis depends on the clinical form and nature of the disease. Treatment of exacerbations and progressive forms of MS involves administration of corticosteroids and cytostatics. Other pathogenic agents that can change the course of the disease and improve the survival of patients currently include inter-

ferons, synthetic glatiramer acetate polymer, and immunotherapy using monoclonal antibodies against specific integrin molecules [11].

It is known that monocytes are one of the most sensitive cells of the immune system capable of responding even to minor pathological processes in the body at the earliest stages of the immune response. Therefore, the analysis of the functional status of peripheral blood monocytes can be informative both for assessing the course of the disease and predicting the effectiveness of therapy [1,5,7-13]. All this indicates that mononuclear cells are unique and promising object that can be used as a biomarker to predict the course of multiple sclerosis.

### Aim

The aim of the study was to reveal peculiarities of the phagocytic activity of TLR4, TLR7/8-activated monocytes of peripheral blood, depending on the type of multiple sclerosis and clinical effectiveness of the treatment.

### Materials and methods

The study involved 94 patients with multiple sclerosis undergoing outpatient and inpatient treatment in the department of neuroinfection and multiple sclerosis of the State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine". The study included 39 men and 55 women with a mean age of  $34.8 \pm 7.4$  and  $42.2 \pm 7.7$  years, respectively, as well as 27 practically healthy subjects (control group) of both sexes with a mean age of  $35.3 \pm 5.4$  years. The study included patients with a verified diagnosis of multiple sclerosis (G35 code according to ICD-10 – Multiple Sclerosis). According to

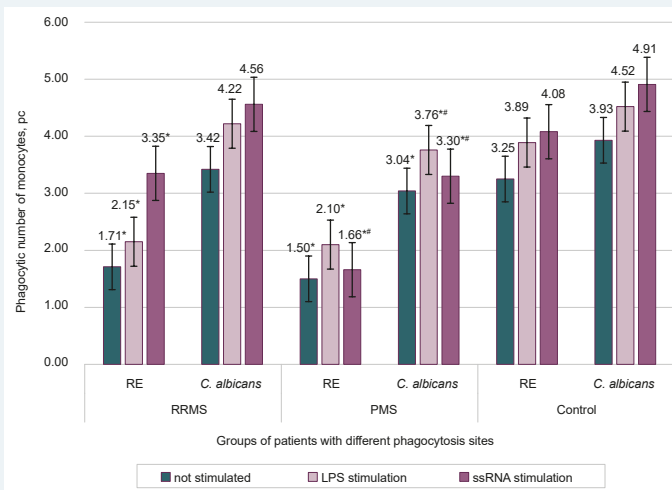


Fig. 1. Phagocytic index of peripheral blood monocytes relative to ram erythrocytes and *C. albicans* in patients with different types of MS.

\*; P < 0.05 when compared with control group; #; P < 0.05 when compared between patients with recurrent remitting MS and progressive MS.

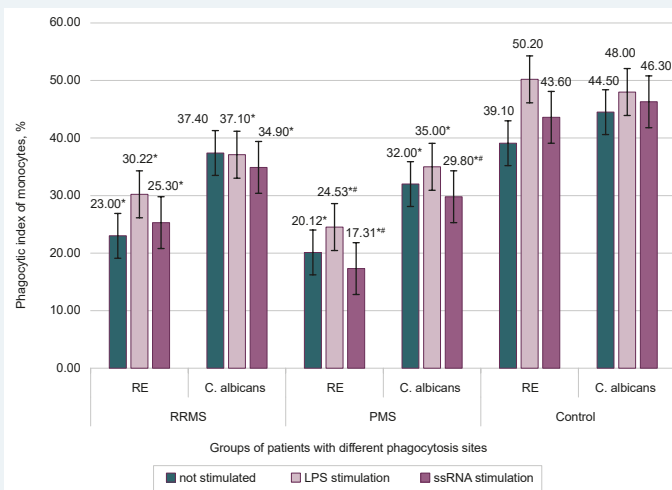


Fig. 2. Phagocytic number of peripheral blood monocytes relative to ram erythrocytes and *C. albicans* in patients with different types of MS.

\*; P < 0.05 when compared with control group; #; P < 0.05 when compared between patients with recurrent remitting MS and progressive MS.

the type of multiple sclerosis the patients were divided into two groups: 58 patients with relapsing-remitting MS (RRMS) and 36 patients with progressive MS (PMS). The biological material was blood samples from patients with multiple sclerosis and healthy subjects. All persons who participated in the study voluntarily gave their written consent to participate in the study.

In patients with RRMS, biological material was taken immediately prior to initiation of treatment and after completion of the annual course of treatment with recombinant human IFN-β "Betfer-1a" (Biopharma, Ukraine), administered according to the standard scheme. Patients who had at least one recurrence and/or increased EDSS disability score of 1 point or more during the year were classified as non-responders, and treatment efficacy was considered unsatisfactory. Patients who had a 1-point decrease in

EDSS in the absence of MS relapses were classified as responders [14].

The Responder Group (MS (IFN+)) included 37 patients (64 %), the Non-Responder Group (MS (IFN-)) included 21 subjects.

Monocyte isolation was performed using a double percoll gradient (Sigma, USA) according to the method [15], adapted to small volumes of blood. The number of monocytes in suspension was determined by immunofluorescence method using anti-CD14-PE (EXBIO Praha, a.s., Czech Republic). The monocyte-enriched cell suspension was resuspended with complete RPMI medium with the addition of 1 µg/ml *E. coli* lipopolysaccharide (LPS) or ssRNA40/LyoVec (Invivogen, USA) as TLR4 and TLR7/8 agonists, respectively, or without the addition of inducers (intact cells), obtaining the final concentration of cells in the wells of 96-well plate 1x10<sup>5</sup> cells/ml, and then incubated for 24 hours at t = 37 °C under an atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub>.

Phagocytosis object was used in parallel series sensitized with hemolytic serum of ram erythrocytes (RE) and inactivated cells of 18-hour *C. albicans* culture, the incubation time was 30 minutes. At microscopic examination of the dyed preparations 200 monocytes were counted. The phagocytic index (PhI) was calculated as the percentage of phagocytic monocytes and the phagocytic number (PhN) as the ratio of the total number of absorbed REs or *C. albicans* cells to the number of monocytes entering phagocytosis (standard units) [15].

The obtained data were statistically processed using Statistica 11.0 (StatSoft, Inc.) and XLSTAT 19.6 (Addinsoft) software. The Mann-Whitney test was used to determine the significance of differences between the indices in the studied samples of RRMS and PMS, and the Wilcoxon test was used when comparing the indices before and after treatment. The data in the text, figures and tables are presented in the form of arithmetic mean and standard deviation: M ± SD.

## Results

The study of phagocytic activity of peripheral blood monocytes in patients with different types of the course and different treatment efficacy was performed by modeling their activation by agonists, namely: *E. coli* lipopolysaccharides for TLR4, and ssRNA for TLR7/8.

The first stage of our study implied the assessment of the phagocytic activity of peripheral blood monocytes in patients with multiple sclerosis, depending on the form of the disease: recurrent remitting MS and progressive MS.

Regardless of the type of disease course in all patients with MS, abnormalities of phagocytic activity of non-stimulated monocytes were detected, indicating a simultaneous decrease in phagocytic number, as well as the number of cells capable of phagocytosis mediated, both to mannose receptors and to FcR receptors (Fig. 1, 2).

Stimulation of the Fc receptor in the group with recurrent type of disease using LPS resulted in an increase in PhI and PhN by 1.3 times (P < 0.05), and ssRNA40/LyoVec stimulation was associated with a two-fold increase in PM (P < 0.05). While in the group with progressive multiple sclerosis LPS and ssRNA40/LyoVec stimulation did not lead to significant changes in phagocytic activity

against intact monocytes in the study of phagocytosis against sensitized ram erythrocytes (Fig. 1, 2).

Assessment of indices of phagocytosis mediated by the mannose receptor revealed a decrease in phagocytic activity of intact monocytes in patients with progressive MS. At the same time, no significant differences in phagocytic activity were observed in the group with recurring remitting type of MS compared with the control group. Stimulation of cells by TLR4 and TLR7/8 agonists was not accompanied by significant changes in phagocytic index relative to non-stimulated cells, however, the PhI in both groups was significantly lower than in the control group ( $P < 0.05$ ). The PhN index in the group of patients with RRMS with cell stimulation did not differ from the control, and in the group of patients with PMS was significantly lower in comparison with the RRMS group and control,  $P < 0.05$  (Fig. 1, 2).

There is likely a number of mechanisms underlying the pathogenesis of multiple sclerosis that have common patterns that determine the effectiveness of multiple sclerosis therapy, especially when using IFN- $\beta$  and other agents.

In the next step, we conducted a study of phagocytic activity of peripheral blood monocytes in patients with RRMS who received IFN- $\beta$  therapy. Depending on the established efficacy of treatment, the patients were divided into two groups: MS (IFN+) responders and MS (IFN-) non-responders (Table 1, 2).

Evaluation of phagocytosis indices in patients with RRMS prior to treatment revealed significant inhibition mediated through the mannose receptor and especially through the FcR fragment of monocyte phagocytic responses. In addition, there was a decrease in the PhI and PhN indices of non-stimulated monocytes both in the responders and in the non-responders (Table 1, 2).

In the "responders" group, PhI was reduced relative to control by 1.75 times, PhN by 1.77 times, a corresponding decrease in phagocytic reactions was also observed in the "non-responders" group by 1.69 times and 2.07 times ( $P < 0.05$ ). The PhI and PhN indicators of TLR4- and TLR7/8-activated monocytes in the responder and non-responder groups were also significantly lower than in the healthy subjects. When stimulated with ssRNA40/LyoVec and with LPS, PhI indicators remained below control ( $P < 0.05$ ) (Table 1, 2).

After treatment in the MS (IFN+) group, there was an increase in the intact monocyte PhI and PhN against the control group ( $P < 0.05$ ). In FcR-mediated phagocytosis in TLR4-stimulated monocytes, there was a 1.42-fold increase in PhI after treatment and a 1.33-fold increase in PhN. At the same time, TLR7/8 stimulation resulted in a more pronounced increase in PhI, almost 2-fold, and a 1.18-fold increase in PhN (Table 1, 2).

As for MS (IFN-) patients who showed poor IFN- $\beta$  treatment results, PhI and PhN indices of non-stimulated monocytes remained lower relative to controls ( $P > 0.05$ ). After TLR4 and TLR7/8 stimulation, the PhI values in this group remained significantly lower than the phagocytosis indices in the control group, and were also significantly lower than in the corresponding MS (IFN+) group. When stimulated with ssRNA40/LyoVec, the PhN remained lower than in the control group ( $P < 0.05$ ). On the other hand, the PhN stimulation index did not differ from that of the MS (IFN+) group and control group (Table 1, 2).

**Table 1.** Indicators of phagocytic activity of peripheral blood monocytes against ram erythrocytes in patients with RRMS, depending on the effectiveness of treatment, (M  $\pm$  SD)

Series	Indices	Groups of patients				Control
		Before treatment		After treatment		
		Responders	Non-responders	Responders	Non-responders	
not stimulated	PhI, %	22.4 $\pm$ 2.1*#	23.1 $\pm$ 3.6*	37.0 $\pm$ 1.4#§	26.7 $\pm$ 4.5*§	39.1 $\pm$ 2.4
	PhN, pc	1.84 $\pm$ 0.12*#	1.57 $\pm$ 0.22*	3.77 $\pm$ 0.14#§	2.13 $\pm$ 0.21*§	3.25 $\pm$ 0.20
LPS stimulation	PhI, %	29.5 $\pm$ 1.8*#	25.3 $\pm$ 2.4**	46.4 $\pm$ 4.1#§	34.5 $\pm$ 2.6***§	50.2 $\pm$ 4.5
	PhN, pc	2.75 $\pm$ 0.21*#	2.03 $\pm$ 0.31*	3.58 $\pm$ 0.26#	2.98 $\pm$ 0.34	3.89 $\pm$ 0.30
ssRNA stimulation	PhI, %	24.1 $\pm$ 2.2*#§	18.7 $\pm$ 2.9***§	49.1 $\pm$ 3.5#§	23.9 $\pm$ 2.2***§	43.6 $\pm$ 2.8
	PhN, pc	3.21 $\pm$ 0.12*#§	1.74 $\pm$ 0.31*§	4.26 $\pm$ 0.15§	2.16 $\pm$ 0.35*§	4.08 $\pm$ 0.20

\*:  $P < 0.05$  when compared with control group; #:  $P < 0.05$  when compared with MS (IFN+) results before and after treatment; \*\*:  $P < 0.05$  when compared with MS (IFN-) results before and after treatment; §:  $P < 0.05$  when compared between MS (IFN+) and MS (IFN-) patients.

**Table 2.** Indicators of phagocytic activity of peripheral blood monocytes against *C. albicans* in patients with RRMS, depending on the effectiveness of treatment, (M  $\pm$  SD)

Series	Indices	Groups of patients				Control
		Before treatment		After treatment		
		Responders	Non-responders	Responders	Non-responders	
not stimulated	PhI, %	36.1 $\pm$ 1.5*	31.8 $\pm$ 2.2*	34.4 $\pm$ 3.1*	31.5 $\pm$ 4.1*	44.5 $\pm$ 2.3
	PhN, pc	3.5 $\pm$ 0.2#	3.12 $\pm$ 0.20*	4.35 $\pm$ 0.30#§	3.27 $\pm$ 0.20*§	3.93 $\pm$ 0.20
LPS stimulation	PhI, %	36.9 $\pm$ 2.3*	35.3 $\pm$ 4.2*	39.1 $\pm$ 1.6*	37.2 $\pm$ 3.1*	48.0 $\pm$ 2.1
	PhN, pc	4.17 $\pm$ 0.10#	3.94 $\pm$ 0.20	5.06 $\pm$ 0.16#§	4.15 $\pm$ 0.30§	4.52 $\pm$ 0.30
ssRNA stimulation	PhI, %	35.8 $\pm$ 1.9*#§	30.2 $\pm$ 3.1***§	40.5 $\pm$ 1.5#§	48.8 $\pm$ 4.5***§	46.3 $\pm$ 3.2
	PhN, pc	4.8 $\pm$ 0.2§	3.35 $\pm$ 0.30*§	5.24 $\pm$ 0.20§	3.21 $\pm$ 0.20*§	4.91 $\pm$ 0.30

\*:  $P < 0.05$  when compared with control group; #:  $P < 0.05$  when compared with MS(IfN+) results before and after treatment; \*\*:  $P < 0.05$  when compared with MS(IfN-) results before and after treatment; §:  $P < 0.05$  when compared between MS (IFN+) and MS (IFN-) patients.

With respect to the indices of mannose receptor-mediated phagocytosis, there was a decrease in PhI of unstimulated and stimulated monocytes in patients with RRMS in the MS (IFN+) group, prior to treatment, in contrast to PhN indices that had no significant differences from controls. Non-responders had a decrease in the levels of PhI and PhN of non-stimulated and stimulated monocytes.

After treatment in both groups, PhI values of non-stimulated and stimulated with LPS monocytes remained reduced. After stimulation with TLR7/8 agonists, the phagocytic index of monocytes did not differ from that of the control group. In the MS (IFN-) group, the PhN values of non-stimulated and ssRNA40/LyoVec stimulated monocytes remained low and did not differ from those before treatment (Table 1, 2).

The phagocytic features of mononuclear cells detected in non-responders on the one hand may indicate the presence of excessive, pathologically associated activation of non-stimulated cells, and on the other hand, indicate their functional depletion.

## Discussion

Many studies have found that the association between the functional features of monocytes and their phenotype is not sufficiently conservative and is able to vary substantially both under physiological and pathological conditions [4,16,17]. Waschbisch A. et al. and Pinheiro C. et al. have shown that “classical”, “intermediate” and “non-classical” monocytes have functional differences not only related to their properties, but also the specific ability to activate them in response to stimulation of MyD88-dependent TLRs of different types, in particular TLR4 and TLR7/8 [3,18]. Accordingly, we evaluated the composition of mononuclear cell subpopulations by influencing different types of TLR receptors. We have shown that activation of the Fc receptor of mononuclear cells by ssRNA40/LyoVec was stronger compared to the stimulating effect of LPS, possibly related to the involvement of a subpopulation of “non-classical” monocytes in phagocytosis.

Clarification of the role of peripheral blood monocytes in the pathogenesis of the disease, determination of appropriate immunophenotypes, according to some researchers may be of practical importance, in particular to be one of the criteria for predicting the effectiveness of therapy for stratification of patients with multiple sclerosis [4,7,9,18,19]. Zheng S. et al. have found out that the dysregulation of TLR7/8 signals on mononuclear cells may be considered as one of the key factors in the development of neuroinflammation in multiple sclerosis [7]. Hurtado-Guerrero I. et al. have demonstrated that TLR7 signaling mechanisms are disturbed in peripheral blood monocytes in patients with recurrent remitting disease [19]. The level of TLR7 expression on peripheral blood monocytes in MS patients was significantly reduced relative to mononuclear cells of healthy donors, and at the same time IFN- $\beta$  therapy led to an increase in TLR7 expression to healthy donor levels. These researchers have also shown that TLR7 transcription in dendritic cells of monocytic origin depends on endogenous IFN- $\beta$  production. A pattern has been revealed to indicate that impaired TLR7 expression in patients with RRMS is cell specific for the monocyte fraction of mononuclear cells, which also affects the production and modeling of IFN- $\beta$  by these cells. However, the level of TLR7 expression on B-lymphocytes in these patients does not differ from that of healthy donors [9,18,19].

We have found a decrease in phagocytic activity of TLR4- and TLR7/8-activated monocytes in patients with recurrent remitting and progressive type of MS relative to healthy subjects ( $P < 0.05$ ). The study has also shown a reduced reserve capacity of phagocytic mononuclear cells to LPS- and ssRNA-stimulated phagocytosis in patients with PMS compared with the corresponding RRMS group,  $P < 0.05$  (Table 1, 2).

Therapy with recombinant interferon beta-1a in patients with RRMS resulted in the correction of phagocytic activity disorders in the responders, with TLR7/8-mediated monocyte activation accompanied by an increase in the number of phagocytic cells. In non-responders, the nature of changes in phagocytic activity of TLR4 and TLR7/8-stimulated monocytes indicated a decrease in functional reserve for FcR-mediated phagocytosis.

Thus, we believe that indicators of FcR-mediated phagocytosis of intact and TLR-activated monocytes can be used to predict the potential of non-responders in the treatment with IFN- $\beta$ .

## Conclusions

1. Modeling of TLR-dependent activation of monocytes and assessment of the functional state of intact and activated mononuclear cells allowed to obtain new data on the existence of functional-phenotypic heterogeneity of cells of the monocyte fraction of peripheral blood mononuclear cells, depending on the clinical form of its treatment.

2. As a result of a study of TLR4- and TLR7/8-mediated activation of cells of the monocyte fraction of peripheral blood mononuclear cells in patients with recurrent remitting and progressive type of MS, a decrease in phagocytic activity was observed, which was more significant in patients with PMS.

3. TLR-mediated stimulation of respondent monocytes in patients with RRMS after treatment was accompanied by an increase in the number of phagocytic cells, in contrast to non-responders. The nature of the changes in the phagocytic activity of stimulated monocytes indicated a decrease in their functional reserve in FcR-mediated phagocytosis.

**Prospects for further research.** The relevance of further studies of phagocytic responses of mononuclear cells with TLR-mediated activation in MS patients is undeniable. However, new progressive methods are needed to allow real-time detection of changes in the population of monocytes, their functional properties, and the ability to determine the level of Fc receptor expression on these cells. This will clarify the peculiarities of the functional status of monocytes of different subpopulations and their pathogenic role in the development and course of multiple sclerosis.

## Funding

The study was financed from the state budget within the framework of the research and development program “Investigation of the role of virus-mediated activation of mononuclear phagocytes in multiple sclerosis” (state registration number 0120U100668) of the Laboratory of Clinical Immunology and Allergology of SI “I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”.

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

Надійшла до редакції / Received: 08.04.2020

Після доопрацювання / Revised: 27.04.2020

Прийнято до друку / Accepted: 04.05.2020

## Information about authors:

Skliar A. I., MD, PhD, Researcher, Laboratory of Clinical Immunology and Allergology, SI “I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-8273-3739](https://orcid.org/0000-0002-8273-3739)

Koliada O. M., MD, PhD, Associate Professor of D. O. Alpern Pathological Physiology Department, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-2826-0667](https://orcid.org/0000-0003-2826-0667)

Vdovichenko N. I., Researcher, Laboratory of Clinical Immunology and Allergology, SI "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-6952-9389](https://orcid.org/0000-0002-6952-9389)

Koliada T. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Clinical Immunology and Allergology, SI "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4143-8514](https://orcid.org/0000-0002-4143-8514)

### Відомості про авторів:

Скляр А. І., канд. мед. наук, науковий співробітник лабораторії клінічної імунології та алергології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Коляда О. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології імені Д. О. Альперна, Харківський національний медичний університет, Україна.

Вдовиченко Н. І., науковий співробітник лабораторії клінічної імунології та алергології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Коляда Т. І. д-р мед. наук, професор, зав. лабораторії клінічної імунології та алергології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

### Сведения об авторах:

Скляр А. И., канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и аллергологии, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

Коляда О. Н., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии имени Д. Е. Альперна, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Вдовиченко Н. И., научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и аллергологии, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

Коляда Т. И., д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией клинической иммунологии и аллергологии, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

### References

- [1] Baufeld, C., O'Loughlin, E., Calcagno, N., Madore, C., & Butovsky, O. (2018). Differential contribution of microglia and monocytes in neurodegenerative diseases. *Journal of neural transmission*, 125(5), 809-826. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1795-7>
- [2] Boyette, L. B., Macedo, C., Hadi, K., Elinoff, B. D., Walters, J. T., Ramaswami, B., Chalasani, G., Taboas, J. M., Lakkis, F. G., & Metes, D. M. (2017). Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS one*, 12(4), e0176460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176460>
- [3] Pinheiro, C., Monteiro, A., Dutra, F. F., Bozza, M. T., Peters-Golden, M., Benjamim, C. F., & Canetti, C. (2017). Short-Term Regulation of FcγR-Mediated Phagocytosis by TLRs in Macrophages: Participation of 5-Lipoxygenase Products. *Mediators of inflammation*, 2017, 2086840. <https://doi.org/10.1155/2017/2086840>
- [4] Gjelstrup, M. C., Stiund, M., Petersen, T., Møller, H. J., Petersen, E. L., & Christensen, T. (2018). Subsets of activated monocytes and markers of inflammation in incipient and progressed multiple sclerosis. *Immunology and cell biology*, 96(2), 160-174. <https://doi.org/10.1111/imcb.1025>
- [5] Jakubzick, C. V., Randolph, G. J., & Henson, P. M. (2017). Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nature reviews. Immunology*, 17(6), 349-362. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.28>
- [6] Asadzadeh Manjili, F., Yousefi-Ahmadipour, A., & Kazemi Arababadi, M. (2020). The roles played by TLR4 in the pathogenesis of multiple sclerosis: A systematic review article. *Immunology letters*, 220, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.02.004>
- [7] Zheng, C., Chen, J., Chu, F., Zhu, J., & Jin, T. (2020). Inflammatory Role of TLR-MyD88 Signaling in Multiple Sclerosis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 12, 314. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00314>
- [8] Bhargava, P., Noguerras-Ortiz, C., Chawla, S., Bæk, R., Jørgensen, M. M., & Kapogiannis, D. (2019). Altered Levels of Toll-Like Receptors in Circulating Extracellular Vesicles in Multiple Sclerosis. *Cells*, 8(9), 1058. <https://doi.org/10.3390/cells8091058>
- [9] Deckx, N., Willekens, B., Wens, I., Eijnde, B. O., Goossens, H., Van Damme, P., Berneman, Z. N., & Cools, N. (2016). Altered molecular expression of TLR-signaling pathways affects the steady-state

release of IL-12p70 and IFN-α in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Innate immunity*, 22(4), 266-273. <https://doi.org/10.1177/1753425916642615>

- [10] Bender, A. T., Tzvetkov, E., Pereira, A., Wu, Y., Kasar, S., Przetak, M. M., Vlach, J., Niewold, T. B., Jensen, M. A., & Okitsu, S. L. (2020). TLR7 and TLR8 Differentially Activate the IRF and NF-κB Pathways in Specific Cell Types to Promote Inflammation. *ImmunoHorizons*, 4(2), 93-107. <https://doi.org/10.4049/immunoHorizons.2000002>
- [11] Golden, R. (2018). A Review of Multiple Sclerosis Treatments: Interferon Beta, Glatiramer Acetate, Fingolimod, and Natalizumab. *Biology and Microbiology Graduate Students Plan B Research Projects*. 3. [https://openprairie.sdstate.edu/biomicro\\_plan-b/3](https://openprairie.sdstate.edu/biomicro_plan-b/3)
- [12] Chuluundorj, D., Harding, S. A., Abernethy, D., & La Flamme, A. C. (2017). Glatiramer acetate treatment normalized the monocyte activation profile in MS patients to that of healthy controls. *Immunology and cell biology*, 95(3), 297-305. <https://doi.org/10.1038/icb.2016.99>
- [13] Kzhyshkowska, J., Gudima, A., Moganti, K., Gratchev, A., & Orskov, A. (2016). Perspectives for Monocyte/Macrophage-Based Diagnostics of Chronic Inflammation. *Transfusion medicine and hemotherapy*, 43(2), 66-77. <https://doi.org/10.1159/000444943>
- [14] Bustamante, M. F., Morcillo-Suárez, C., Malhotra, S., Rio, J., Leyva, L., Fernández, O., ... Comabella, M. (2015). Pharmacogenomic study in patients with multiple sclerosis. *Neurology – Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2(5), e154. <https://doi.org/10.1212/wnx.0000000000000154>
- [15] Editors: Rousset, G. (Ed.) (2018). Macrophages. Methods and Protocols. In *Methods in Molecular Biology*. Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7837-3>
- [16] Metcalf, T. U., Wilkinson, P. A., Cameron, M. J., Ghneim, K., Chiang, C., Wertheimer, A. M., Hiscott, J. B., Nikolich-Zugich, J., & Haddad, E. K. (2017). Human Monocyte Subsets Are Transcriptionally and Functionally Altered in Aging in Response to Pattern Recognition Receptor Agonists. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 199(4), 1405-1417. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700148>
- [17] González-Oria, M. C., Márquez-Coello, M., Girón-Ortega, J. A., Argente, J., Moya, M., & Girón-González, J. A. (2019). Monocyte and Lymphocyte Activation and Regulation in Multiple Sclerosis Patients. Therapy Effects. *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*, 14(3), 413-422. <https://doi.org/10.1007/s11481-018-09832-z>
- [18] Waschbisch, A., Schröder, S., Schraudner, D., Sammet, L., Wexler, B., Melms, A., Pfeifenbring, S., Stadelmann, C., Schwab, S., & Linker, R. A. (2016). Pivotal Role for CD16+ Monocytes in Immune Surveillance of the Central Nervous System. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 196(4), 1558-1567. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501960>
- [19] Hurtado-Guerrero, I., Pinto-Medel, M. J., Urbaneja, P., Rodríguez-Bada, J. L., León, A., Guerrero, M., Fernández, O., Leyva, L., & Oliver-Martos, B. (2017). Activation of the JAK-STAT Signaling Pathway after In Vitro Stimulation with IFNβ in Multiple Sclerosis Patients According to the Therapeutic Response to IFNβ. *PLoS one*, 12(1), e0170031. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170031>

## Патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при мозкових інфарктах

О. О. Волошанська\*<sup>A,B,C,D</sup>, С. І. Тertiшній<sup>E,F</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

### Ключові слова:

патоморфологія, інфаркт мозку, судинне русло, колатеральний кровоток.

Патологія. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 234-240

### \*E-mail:

[oliasydm@gmail.com](mailto:oliasydm@gmail.com)

**Мета роботи** – вивчити патоморфологічні зміни судинного русла та стан колатерального кровотоку при інфарктах мозку.

**Матеріали та методи.** Вивчили головний мозок 45 померлих із півкульовими інфарктами з різними термінами захворювання. Група порівняння – 10 раптово померлих від гострої коронарної недостатності, які не мали захворювань нервової системи.

Для визначення морфофункціонального стану судин і виразності кровотоку визначали площу поперечного перетину судин, площу ядер ендотеліальних клітин, щільність їх розташування, довжину капілярної мережі.

**Результати.** У ранні терміни мозкового інсульту поряд із процесами незворотного пошкодження дрібних капілярів у зоні інфаркту та частково в зоні пенумбри, тромбозів судин м'якої мозкової оболонки та при незмінній кількості судин у перифокальній зоні інфаркту спостерігали процеси, які спрямовані на забезпечення ефективного кровотоку в ішемізованих ділянках мозку шляхом посилення колатерального кровотоку з боку лептоменінгеальних судин, збільшення діаметра судин і довжини капілярної мережі. На 6 добу захворювання зареєстрували процеси склерозування підпаутинного простору, що знижувало колатеральний кровоток із піяльних судин у підлеглих кіркові відділи мозку.

Зі збільшенням терміну хвороби діаметр капілярів повертався до початкових значень, у перифокальних ділянках інфаркту відбувалося перекалібрування просвіту артеріол зі зменшенням сумарної площі поперечного перетину новостворених судин, наявна значна кількість артеріол з облітерацією просвіту.

**Висновки.** У ранні терміни ішемічного інфаркту визначили посилення кровообігу внаслідок збільшення діаметра капілярів, довжини капілярної мережі та посилення колатерального кровообігу з боку піяльних судин. У віддаленому періоді зареєстрована редукція сумарної площі просвіту артеріол та зниження ефективності колатерального кровотоку, що слід вважати адаптивною реакцією судинного русла на зниження потреби у кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інсульту на стадії формування кісти.

### Key words:

pathology, cerebral infarction, vascular bed, collateral blood flow.

Pathologia  
2020; 17 (2), 234-240

### Pathomorphological changes of the vascular bed and the state of collateral blood flow in cerebral infarction

O. O. Voloshanska, S. I. Tertyshnyi

**The aim of the study.** To study the pathomorphological changes of the vascular bed and the state of collateral blood flow in cerebral infarction.

**Materials and methods.** The brains of 45 deceased patients with hemispheric infarctions with different terms of the disease were studied during the work. The comparison group consisted of 10 patients who died suddenly from acute coronary insufficiency, who did not have diseases of the nervous system.

To assess the morpho-functional state of blood vessels and the intensity of blood flow the cross-sectional area of blood vessels, the area of endothelial cell nuclei, the density of their location and the length of the capillary network were determined.

**Results.** In the early stages of stroke, along with the processes of irreversible damage of small capillaries in the area of infarction and partly in the area of the penumbra, myocardial thrombosis and constant number of vessels in the perifocal area of infarction, there are processes aimed at providing effective blood flow in ischemic areas of brain by increasing collateral blood flow from the leptomeningeal vessels, increasing the diameter of blood vessels and the length of the capillary network. On the 6<sup>th</sup> day of the disease, the processes of collagenization of the subarachnoid space are registered, which reduced the collateral blood flow from the pial vessels to the underlying cortical parts of the brain.

With the increasing of the disease duration, the diameter of the capillaries returns to initial values, in the perifocal areas of the infarct there is a recalibration of the lumen of the arterioles with a decrease in the total cross-sectional area of newly formed vessels, a significant number of arterioles with obliteration of the lumen are present.

**Conclusions.** In the early stages of ischemic stroke there is an increase in blood circulation due to an increase in the diameter of the capillaries, the length of the capillary network and increased collateral circulation by the pial vessels. In the long-term period there is a reduction in the total area of the lumen of arterioles and a decrease in the efficiency of collateral blood flow, which should be regarded as an adaptive response of the vascular bed to decreased need for blood supply to stroke areas at the stage of cyst formation.

## Морфологические изменения сосудистого русла и состояние коллатерального кровотока при мозговых инфарктах

О. А. Волошанская, С. И. Тертышный

**Цель работы** – изучить патоморфологические изменения сосудистого русла и состояние коллатерального кровотока при инфарктах мозга.

**Материалы и методы.** Изучен мозг 45 умерших с полушарными инфарктами в разные сроки заболевания. Группу сравнения составили 10 внезапно умерших от острой коронарной недостаточности, которые не имели заболеваний нервной системы. Для оценки морфофункционального состояния сосудов и выраженности кровотока определяли площадь поперечного сечения сосудов, площадь ядер эндотелиальных клеток, плотность их расположения, длину капиллярной сети.

**Результаты.** В ранние сроки мозгового инсульта наряду с процессами необратимого повреждения мелких капилляров в зоне инфаркта и частично в зоне пенумбры, тромбозов сосудов мягкой мозговой оболочки и при неизменном количестве сосудов в перифокальной зоне инфаркта отмечены процессы, направленные на обеспечение эффективного кровотока в ишемизированных участках мозга путем усиления коллатерального кровотока со стороны лептоменингеальных сосудов, увеличения диаметра сосудов и длины капиллярной сети. На 6 сутки заболевания зарегистрированы процессы коллагенизации подпаутинного пространства, снижен коллатеральный кровоток со стороны пиальных сосудов в подлежащие корковые отделы мозга. С увеличением срока болезни диаметр капилляров возвращался к исходным значениям, в перифокальных участках инфаркта происходили перекалибровка просвета артериол с уменьшением суммарной площади поперечного сечения новообразованных сосудов, отмечено значительное количество артериол с облитерацией просвета.

**Выводы.** В ранние сроки ишемического инфаркта отмечено усиление кровообращения за счет увеличения диаметра капилляров, длины капиллярной сети и усиление коллатерального кровообращения со стороны пиальных сосудов. В отдаленном периоде зарегистрирована редукция суммарной площади просвета артериол и снижение эффективности коллатерального кровотока, что следует расценивать как адаптивную реакцию сосудистого русла на снижение потребности в кровоснабжении участков организации мозгового инсульта на стадии формирования кисты.

**Ключевые слова:** патоморфология, инфаркт мозга, сосудистое русло, коллатеральный кровоток.

**Патология.** 2020. Т. 17, № 2(49). С. 234-240

Ішемічний інсульт – найважливіша проблема теоретичної та практичної медицини, оскільки є однією з основних причин смерті та інвалідності у світі [1,2]. У структурі гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) ішемічний інсульт становить 80–87 % випадків. Розвиток ішемічного інсульту в гострому періоді призводить до змін характеру кровопостачання ішемізованих ділянок мозку, метою якого є посилення кровообігу. Відновлення або покращення зниженого регіонального мозкового кровотоку – важливий чинник сприятливих наслідків інсульту та відновлення неврологічних функцій [3]. Збільшення мозкового кровотоку після ішемічного інсульту істотно залежить від активації ангиогенезу. Утворення нових судин відіграє важливу роль в ішемічному ремоделюванні мозку після інсульту, який не залежить від кровотоку [4].

Вивченню процесів ангиогенезу після інсульту присвячено багато досліджень, оглядових статей останніх років [5–7]. Однак захист мозку від ішемічного пошкодження, а також наслідки інсульту поряд із реперфузією та ангиогенезом залежать від стану коллатерального кровообігу [8,9], який визначається як мережа спеціалізованих «ендогенних шунтувальних судин», що знаходяться в більшості тканин і забезпечують захист від ішемічного пошкодження [10].

Посилення коллатерального кровотоку призводить до зміни морфофункціональних характеристик судин і судинної мережі загалом. Морфологічний компонент такої перебудови вивчений недостатньо.

### Мета роботи

Вивчити патоморфологічні зміни судинного русла та стан коллатерального кровотоку при інфарктах мозку.

### Матеріали і методи дослідження

Вивчили головний мозок 45 померлих із півкульовими інфарктами з різними термінами захворювання: до 3 діб (n = 6), 6 діб (n = 10), 9–12 (n = 12), понад 12 діб (n = 17), морфологічні зміни оцінювали в термін до 45 доби хвороби. Середній вік хворих становив  $71,52 \pm 10,12$  року. Об'єм півкульового інфаркту – від  $40 \text{ см}^3$  до  $280 \text{ см}^3$ , локалізований у каротидному басейні. Провідні фонові захворювання, що спричинили розвиток інфаркту мозку з порушенням кровообігу в дистальних гілках основних внутрішньомозкових артерій: атеросклероз – 42,89 %, гіпертонічна хвороба – 18,7 %, їх поєднання – 28,5 %. Тромбоемболічні інфаркти мозку в цьому дослідженні не вивчали. Об'єкт дослідження – перифокальні ділянки ішемічного півкульового інфаркту мозку, а також зони поза межами ішемічних уражень, зазвичай у протилежній півкулі.

Група порівняння – 10 раптово померлих від гострої коронарної недостатності, які не мали захворювань нервової системи.

Аутопсійний матеріал забирали в середньому через 6–12 годин після констатації смерті. Брали не менше ніж 5 ділянок із перифокальної зони, розмір –  $10 \times 5 \times 5$  мм. Для оглядової світлової мікроскопії мозок фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну протягом 24–48 годин, зневоднювали та заливали в парафін; серійні зрізи завтовшки 5 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином; виконували PAS-реакцію. Для оцінювання морфофункціонального стану судин визначали морфометричні показники: площу поперечного перетину судин, площу ядер ендотеліальних клітин для визначення їхнього функціонального стану, щільність їх розташування на стандартизовану одиницю довжини судини. Стан коллатерального кровотоку

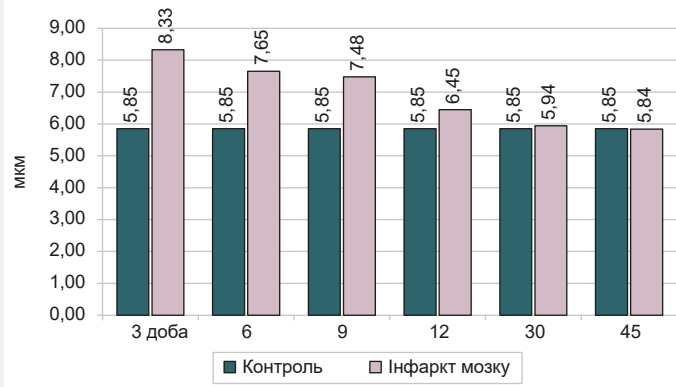


Рис. 1. Кількісні показники діаметра капілярів в іпсилатеральній півкулі.

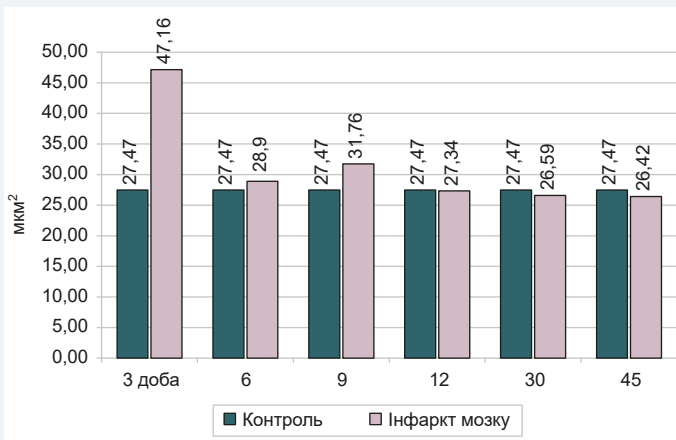


Рис. 2. Кількісні показники поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин, враховуючи показники у віддалені періоди (на 30 і 45 добу) в іпсилатеральній півкулі.

характеризували довжиною капілярної мережі. Останній показник обчислювали як суму довжини профілів кровососних судин у стандартизованому полі зору (поле зору світлового мікроскопа при збільшенні  $\times 400$ ). Дослідження виконали, використовуючи мікроскоп Axio Scope A1 «Carl Zeiss» (ФРН) з камерою Jenoptik Progres grupha® серії SUBRA (ФРН). У кожному випадку аналіз виконували в 5 полях зору за допомогою програми Відеотест-Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест, РФ).

Статистично результати опрацювали, використовуючи пакет Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J) з обчисленням медіани (Me), нижнього та верхнього квантилей (Q1; Q3). Відмінності між двома незалежними вибірками оцінювали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали відмінності між порівнюваними значеннями на рівні 95 % ( $p < 0,05$ ).

## Результати

До 3 доби хвороби морфометричні показники свідчили про незмінну кількість судин на одиницю площі в перифокальній зоні інфаркту. Кількість судин у цих зонах на одиницю площі статистично не відрізнялась від кількості судин в іпсилатеральній і контрлатеральних півкулях, але кровопостачання суттєво знижене,

оскільки чимала частина судин мікроциркуляторного русла заблокована клітинними агрегатами. У перифокальних зонах інфаркту визначили несуттєве збільшення довжини профілів капілярів порівняно з контр- та іпсилатеральною півкулями. Якщо в контрольних спостереженнях довжина профілів капілярів становила 25,71 (19,93; 34,34) мкм, то на 3 добу ці значення збільшувалися в 1,11 раза в контрлатеральній і в 1,3 раза в іпсилатеральній півкулі на незначному віддаленні (до 4–5 мм) від вогнища інфаркту та становили 28,67 (17,8; 37,04) мкм і 33,65 (27,13; 40,53) мкм відповідно. Більше збільшення довжини профілів капілярів з боку інфаркту вірогідно вказувало на посилення колатерального кровотоку.

У перифокальних ділянках інфаркту у проєкції найбільш виражених некротичних змін реакція мікроциркуляторного русла неоднозначна. Поряд зі значною кількістю повнокровних судин, навколо яких часто реєстрували дрібні крововиливи, переважали судини зі зменшеним на 6,71 % сумарним діаметром просвіту порівняно з контрольними спостереженнями. Таке зниження зумовлене периваскулярним набряком, який стримував розширення діаметра капілярного русла, й набряканням ядер ендотелію з частковим перекриттям просвіту судин. Дрібні капіляри (діаметром 5–10 мкм) у зоні інфаркту і частково в зоні пенумбри вже через 1 добу руйнувалися.

Кількісні дослідження показали: діаметр капілярів у півкулі з боку ураження на 3, 6 і 9 добу захворювання становив 8,33 (7,69; 8,76) мкм, 7,65 (7,36; 8,14) мкм і 7,48 (7,29; 7,93) мкм відповідно. Порівняння цього параметра в іпси- та контрлатеральній півкулі в різні терміни захворювання з контрольними значеннями показало, що в усіх порівнюваних групах наявне статистично вірогідне ( $p < 0,05$ ) збільшення цього показника, крім його значень у контрлатеральній півкулі на 3 добу захворювання. Незважаючи на те, що сумарно середній діаметр капілярів зменшувався зі збільшенням терміну захворювання, він залишався істотно вищим, ніж у контрольних спостереженнях на 43,37 %, 31,66 % і 28,74 % відповідно. У контрлатеральній півкулі в ці терміни діаметр капілярів збільшений порівняно з контрольними спостереженнями на 29,60 %, 26,67 % і 24,61 % відповідно. У віддалені періоди (на 30 і 45 добу) середній діаметр капілярів майже не відрізнявся від контрольних значень (рис. 1).

Площа поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин на 3 добу хвороби безпосередньо на межі з вогнищем некротичних змін збільшена в 1,86 раза і становила 47,16 (41,85; 50,53) мкм<sup>2</sup> порівняно зі значенням, що зареєстроване в контрлатеральній півкулі – 25,34 (23,43; 25,91) мкм<sup>2</sup>. На 6, 9 і 12 добу захворювання цей показник становив 28,9 (24,19; 34,3) мкм<sup>2</sup>, 31,76 (29,52; 35,17) мкм<sup>2</sup>, 27,34 (25,55; 32,66) мкм<sup>2</sup> відповідно, але тільки до 6 доби хвороби відмінності рівня цього показника порівняно з контрольними показниками були статистично значущі ( $p < 0,05$ ). Щільність розташування ядер ендотеліоцитів у судинах у зоні інфаркту порівняно з перифокальними ділянками інфаркту знижена на 12,4 %. Кількісні показники поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин, враховуючи показники у віддалені періоди (на



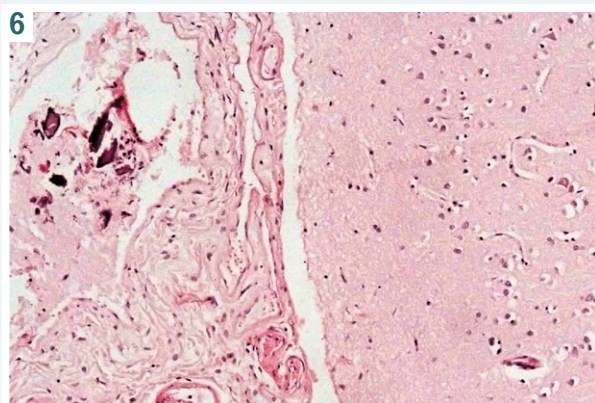
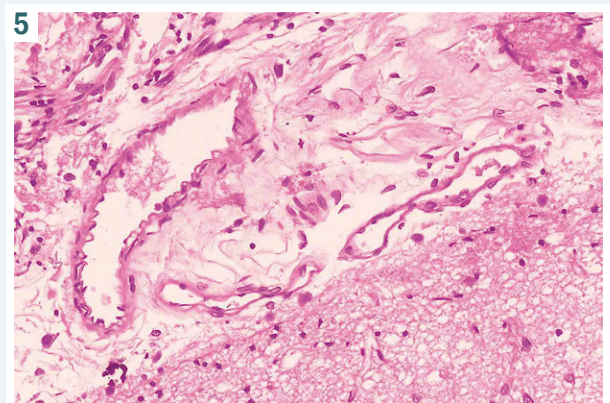
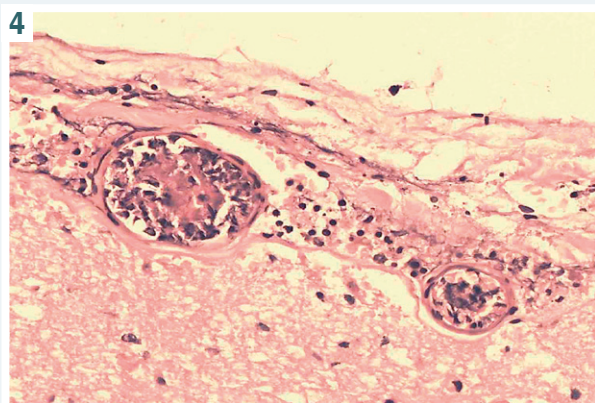
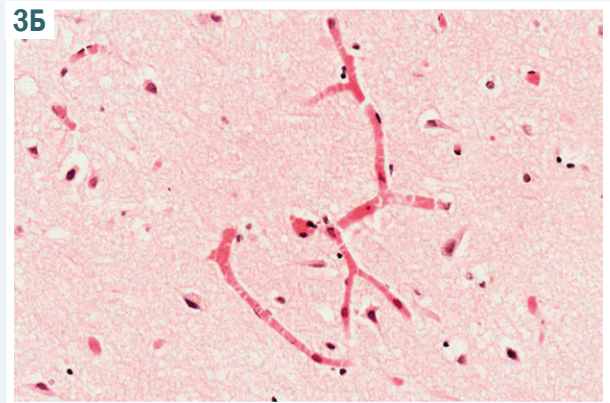
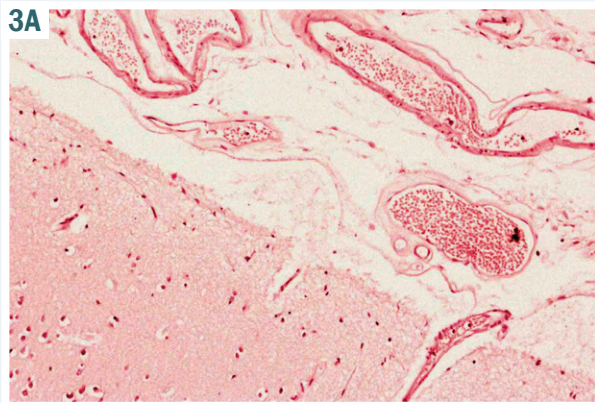


Рис. 3. А: розширення, повнокров'я палих судин. Зб.  $\times 100$ . Б: розширена капілярна мережа в перифокальній зоні інфаркту. Термін захворювання 3 доби. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб.  $\times 200$ .

Рис. 4. Тромбози судин м'якої мозкової оболонки. Термін хвороби – 3 доби. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб.  $\times 100$ .

Рис. 5. Збільшення волокнистого компонента сполучної тканини в оболонках мозку. PAS-реакція. Зб.  $\times 200$ .

Рис. 6. Склероз підпаутинного простору з вогнищами звапніння. Термін захворювання 15 діб. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб.  $\times 200$ .

30 і 45 добу) в іпсилатеральній півкулі, наведені на рис. 2.

На 6, 9 і 12 добу показники довжини капілярної мережі залишалися збільшеними щодо контрольних спостережень у середньому на 11–39%. На 6, 9, 12 добу площа поперечного перетину ядер ендотеліальних клітин становила 28,9 (24,19;34,3)  $\mu\text{m}^2$ , 29,63 (24,48; 36,19)  $\mu\text{m}^2$  і 27,75 (25,57; 33,24)  $\mu\text{m}^2$  відповідно; це більше, ніж контрольні показники на 16,01%, 18,94% і 11,40% відповідно.

У перифокальних ділянках некрозу довжина капілярної мережі поступово збільшувалася, в окремих спостереженнях її визначали до 45 добу. У цей термін значення довжини капілярної мережі становили  $46,65 \pm 18,07$   $\mu\text{m}$  – на 59,76% більше, ніж контрольні показники. Якщо в ранні терміни захворювання збіль-

шення цих значень зумовлене посиленням колатерального кровотоку, про що свідчило чимале збільшення середнього діаметра капілярів, то в пізні терміни, – ймовірно, внаслідок посиленого ангіо- і васкулогенезу.

Аналіз гістологічних препаратів показав, що в ранні терміни захворювання (до 3 добу) повнокров'я капілярів зареєстрували на тлі великих набрякових змін навколишньої паренхіми. У нейронах, які розташовувалися поряд із такими капілярами, прогресували дистрофічно-деструктивні зміни з вакуолізацією та еозинофілією цитоплазми, пікнозом ядра, каріолізом. На 9–12 добу і в пізніші терміни спостерігали значну редукцію набрякових змін, менш виражені зміни в нейронах і гліальних клітинах. Повнокров'я капілярів залишалось, але треба відзначити: у спостереженнях із тривалішим терміном життя за-

реєстрували менший об'єм інфаркту та сприятливіший перебіг хвороби з частковою редукцією неврологічного дефіциту (згідно з ретроспективним аналізом історій хвороб).

Враховуючи, що джерелом колатерального кровообігу є піальні судини, які забезпечують альтернативний шлях ретроградної реперфузії на територію мозку, котра кровопостачається з артерій, що зазнали оклюзії, то вивчили зміни цих артерій (піальних).

У гострій стадії інсульту (до 3 діб) на тлі набряку м'якої мозкової оболонки визначили суттєве розширення, повнокров'я та значне розгалуження піальних судин, включаючи артерії та вени м'якої мозкової оболонки. Суттєво розширювалися радіальні артерії при їх входженні вглиб звинин і борозен мозку (рис. 3А). У прилеглий паренхімі мозку також істотно розширювалися капіляри та дрібні артеріоли, нерідко формуючи поширену мережу, що анастомозує (рис. 3Б).

У ці терміни також на тлі повнокров'я нерідко спостерігали тромбози судин м'якої мозкової оболонки (рис. 4). Прогресування тромбозу призводило до появи вторинних ішемічних фокусів у кіркових відділах, на чималому віддаленні від первинного вогнища. Такі зони характеризувалися вираженими ішемічними змінами нейронів і глії, а також значущою лейкоцитарною інфільтрацією.

На 6 добу захворювання набряк м'яких мозкових оболонок поступово зменшувався, але істотно проникність судин у гострому періоді інфаркту з виходом за межі судин рідкої частини крові та формених елементів призводила до поступових явищ організації зі склерозом підпавутинного простору. Між капілярами значного розвитку набував PAS-позитивний волокнистий компонент сполучної тканини, істотно збільшувалася товщина підпавутинного простору (рис. 5). У великих артеріолах визначили потовщення адвентиціального шару внаслідок наявності сполучнотканинного компонента, що визначили на 9 добу хвороби.

На 6 і 9 добу навколо дрібних артеріол зареєстрована чимала гістоцитарна реакція. Її виявляли навколо судин насамперед в іпсилатеральній півкулі, а також вона поширювалася біля судин із боку мозкових оболонок на прилеглу паренхіму мозку. Біля окремих судин щільність клітинних елементів утворювала клітинні тяжі, поруч з ними виявляли багато дистрофічно змінених нейронів, частково з незворотними змінами, а також незначні скупчення гліальних клітин.

На 12 добу виразність гістоцитарної реакції навколо судин зменшувалась, однак наявна чимала кількість артеріол з облітерацією просвіту, які нагадували сполучнотканинні тяжі з великою щільністю клітинних елементів гліального й гематогенного походження навколо них. Навкруги судин, що функціонували, збільшувалась кількість гематогенних і резидентних макрофагів.

Також у ці терміни прогресували процеси організації в підпавутинному просторі. Він істотно ущільнювався, в ньому переважали судини зі склерозованими стінками й облітерацією просвіту. В 5 спостереженнях із терміном хвороби понад 12 діб виявляли вогнища звапніння (рис. 6). Склеротичні зміни суттєво знижували колатеральне кровопостачання з піальних судин у підлеглий кірковий відділ моз-

ку, а також, імовірно, порушували ліквородинаміку. В перифокальних ділянках інфаркту відбувалося перекалібрування просвіту судин зі зменшенням сумарної площі просвіту артеріол.

## Обговорення

Один із важливих чинників відновлення ефективного кровотоку в пацієнтів з інфарктами мозку – стан шляхів колатерального кровообігу [11], які тільки спільно з посиленням ангиогенезу можуть забезпечити відновлення достатнього кровотоку в ішемізованих ділянках. Відомості фахової літератури свідчать, що достатній колатеральний кровообіг є ключовим фактором, який впливає на успішну реперфузію та сприятливий клінічний результат [9].

Колатеральними шляхами кровообігу є первинні шляхи (коло Вілліса) і лептоменінгеальні шляхи внутрішньочерепних артерій. Коло Вілліса як важливий елемент колатерального кровообігу в мозку може підтримувати перфузію тільки при оклюзії артерії великого діаметра. Коли порушується кровообіг у дистальних гілках основних внутрішньомозкових артерій, коло Вілліса не може компенсувати зменшення кровотоку.

У наших спостереженнях у більшості випадків визначили порушення кровообігу саме в дистальних гілках основних внутрішньомозкових артерій. Отже, тільки вторинний колатеральний потік через лептоменінгеальні анастомози, як вказує низка авторів, може бути основним альтернативним шляхом підтримки кровотоку в ішемізованих ділянках [8]. У пацієнтів із повною оклюзією внутрішньочерепного сегмента внутрішньої сонної артерії посилення лептоменінгеальних колатералей, що задокументували ангиографією, корелювало з меншою смертністю після інсульту [12]. Особливість лептоменінгеальних колатералей – у цих судинах кровотік здійснюється в обох напрямках, що дає змогу ретроградній перфузії суміжних територій підтримувати життєздатність клітинних елементів у ділянках «ішемічної півтіні».

Результати дослідження свідчать: у ранні терміни мозкового інсульту суттєво розширюється мережа судин м'якої мозкової оболонки, які після входження в паренхіму мозку формують мережу судин, що анастомозують. Отже, судини м'якої оболонки головного мозку, від яких відходять радіальні судини, безпосередньо живлять кору мозку, є важливим джерелом адекватного кровопостачання кори мозку в ранні терміни після розвитку ішемічного інсульту. Однак колатеральна перфузія впливає не тільки на реканалізацію артерій, реперфузію, але й може призводити до геморагічної трансформації [13]. У наших дослідженнях також спостерігали периваскулярні крововиливи біля дрібних капілярів кори та в зоні ішемічної напівтіні, але їх виявляли в обмеженій кількості спостережень, і вони не мали великого поширення.

Також важливі параметри судинного ремоделювання, що забезпечують відновлення мозкового кровотоку після артеріальної оклюзії, – діаметр судин та їхня звивистість [14]. Результати дослідження свідчать про збільшення діаметра капілярів і з боку ураження, і в контрлатеральній півкулі на 3, 6 і 9

добу, але зі збільшенням терміну хвороби діаметр капілярів повертався до вихідних значень. Збільшення довжини капілярної мережі та діаметра ядер ендотеліальних клітин також свідчили про активні процеси судинного ремоделювання в ранні терміни мозкового інсульту.

У пізні терміни мозкового інсульту прогресували процеси організації в підпаутинному просторі, виявили багато артеріол з облітерацією просвіту, визначили перекалібрування великих артеріол, що свідчило про зниження кровотоку в перифокальних ділянках інфарктів.

## Висновки

1. Патоморфологічні зміни судинного русла при ішемічному інфаркті в ранні терміни захворювання характеризуються компенсаторним посиленням кровообігу в іпсилатеральній півкулі, що виявляється збільшенням діаметра капілярів, довжини капілярної мережі та посиленні колатерального кровообігу з боку пільних судин.

2. У віддаленому періоді кількісні показники судинного русла здебільшого повертаються до контрольних значень, але редукція сумарної площі просвіту артеріол, зниження ефективності колатерального кровотоку в пільних судинах, перекалібрування просвіту судин зі зменшенням сумарної площі просвіту артеріол слід вважати проявом адаптивного ремоделювання судинного русла у відповідь на зниження потреби у кровозабезпеченні ділянок організації мозкового інсульту на стадії формування кісти.

**Перспективи подальших досліджень** передбачають вивчення стану ремоделювання судинного русла залежно від перебігу захворювання та ефективності терапії при інфарктах мозку.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Морфогенез деструктивно-репаративних процесів головного мозку при захворюваннях судинного та токсико-метаболического генезу», № держреєстрації 0118U004253.

## Конфлікт інтересів:

відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.04.2020

Після доопрацювання / Revised: 11.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 22.05.2020

## Відомості про авторів:

Волошанська О. О., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-3856-4234](https://orcid.org/0000-0003-3856-4234)

## Information about authors:

Voloshanska O. O., MD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tertyshnyi S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Волошанская О. А., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Тертышный С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] Katan M, Luft A. Global Burden of Stroke. *Seminars in neurology*. 2018. Vol. 38, Iss. 2. P. 208-211. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1649503>
- [2] Vital Signs: Recent Trends in Stroke Death Rates – United States, 2000-2015 / Q. Yang, X. Tong, L. J. Schieb et al. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2017. Vol. 66, Iss. 35. P. 933-939. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6635e1>
- [3] Yin K., Hamblin M., Chen Y. E. Angiogenesis-regulating microRNAs and Ischemic Stroke. *Current vascular pharmacology*. 2015. Vol. 13, Iss. 3. P. 352-365. <https://doi.org/10.2174/1570161113119990016>
- [4] Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target? / M. Kanazawa, T. Takahashi, M. Ishikawa et al. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*. 2019. Vol. 39, Iss. 5. P. 753-769. <https://doi.org/10.1177/0271678X19834158>
- [5] Bensoussan A., Kiat H. Angiogenesis in Ischemic Stroke and Angiogenic Effects of Chinese Herbal Medicine / S. W. Seto, D. Chang, A. Jenkins et al. *Journal of clinical medicine*. 2016. Vol. 5, Iss. 6. P. E56. <https://doi.org/10.3390/jcm5060056>
- [6] Hatakeyama M., Ninomiya I., Kanazawa M. Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke. *Neural regeneration research*. 2020. Vol. 15, Iss. 1. P. 16-19. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264442>
- [7] High-Mobility Group Box-1-Induced Angiogenesis After Indirect Bypass Surgery in a Chronic Cerebral Hypoperfusion Model / S. Nishihira, T. Hishikawa, M. Hiramatsu et al. *Neuromolecular medicine*. 2019. Vol. 21, Iss. 4. P. 391-400. <https://doi.org/10.1007/s12017-019-08541-x>
- [8] Alves H. C., Pacheco F. T., Rocha A. J. Collateral blood vessels in acute ischemic stroke: a physiological window to predict future outcomes. *Arquivos de neuropsiquiatria*. 2016. Vol. 74, Iss. 8. P. 662-670. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160050>
- [9] Ginsberg M. D. The cerebral collateral circulation: Relevance to pathophysiology and treatment of stroke. *Neuropharmacology*. 2018. Vol. 134, Pt. B. P. 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.08.003>
- [10] Zhang H., Chalothorn D., Faber J. E. Collateral Vessels Have Unique Endothelial and Smooth Muscle Cell Phenotypes. *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20, Iss. 15. P. 3608. <https://doi.org/10.3390/ijms20153608>
- [11] Measurement of collateral perfusion in acute stroke: a vessel-encoded arterial spin labeling study / T. W. Okell, G. W. J. Harston, M. A. Chappell et al. *Scientific reports*. 2019. Vol. 9, Iss. 1. P. 8181. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44417-7>
- [12] The pattern of leptomeningeal collaterals on CT angiography is a strong predictor of long-term functional outcome in stroke patients with large vessel intracranial occlusion / F. O. Lima, K. L. Furie, G. S. Silva et al. *Stroke*. 2010. Iss. 41. P. 2316-2322. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.592303>
- [13] Leptomeningeal collateral status predicts outcome after middle cerebral artery occlusion / C. F. Madelung, C. Ovesen, C. Trampedach et al. *Acta neurologica Scandinavica*. 2018. Vol. 137, Iss. 1. P. 125-132. <https://doi.org/10.1111/ane.12834>
- [14] Temporal remodeling of pial collaterals and functional deficits in a murine model of ischemic stroke / B. Okyere, M. Creasey, Y. Lebovitz, M. H. Theus. *Journal of neuroscience methods*. 2018. Vol. 293. P. 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.09.010>

## References

- [1] Katan, M., & Luft, A. (2018). Global Burden of Stroke. *Seminars in neurology*, 38(2), 208-211. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1649503>
- [2] Yang, Q., Tong, X., Schieb, L., Vaughan, A., Gillespie, C., Wiltz, J. L., King, S. C., Odum, E., Merritt, R., Hong, Y., & George, M. G. (2017). Vital Signs: Recent Trends in Stroke Death Rates – United States, 2000-2015. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 66(35), 933-939. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6635e1>
- [3] Yin, K. J., Hamblin, M., & Chen, Y. E. (2015). Angiogenesis-regulating microRNAs and Ischemic Stroke. *Current vascular pharmacology*, 13(3), 352-365. <https://doi.org/10.2174/1570161113119990016>

- [4] Kanazawa, M., Takahashi, T., Ishikawa, M., Onodera, O., Shimohata, T., & Del Zoppo, G. J. (2019). Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target?. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 39(5), 753-769. <https://doi.org/10.1177/0271678X19834158>
- [5] Seto, S. W., Chang, D., Jenkins, A., Bensoussan, A., & Kiat, H. (2016). Angiogenesis in Ischemic Stroke and Angiogenic Effects of Chinese Herbal Medicine. *Journal of clinical medicine*, 5(6), 56. <https://doi.org/10.3390/jcm5060056>
- [6] Hatakeyama, M., Ninomiya, I., & Kanazawa, M. (2020). Angiogenesis and neuronal remodeling after ischemic stroke. *Neural regeneration research*, 15(1), 16-19. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.264442>
- [7] Nishihiro, S., Hishikawa, T., Hiramatsu, M., Kidani, N., Takahashi, Y., Murai, S., Sugiu, K., Higaki, Y., Yasuhara, T., Borlongan, C. V., & Date, I. (2019). High-Mobility Group Box-1-Induced Angiogenesis After Indirect Bypass Surgery in a Chronic Cerebral Hypoperfusion Model. *Neuromolecular medicine*, 21(4), 391-400. <https://doi.org/10.1007/s12017-019-08541-x>
- [8] Alves, H. C., Pacheco, F. T., & Rocha, A. J. (2016). Collateral blood vessels in acute ischemic stroke: a physiological window to predict future outcomes. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 74(8), 662-670. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160050>
- [9] Ginsberg, M. D. (2018). The cerebral collateral circulation: Relevance to pathophysiology and treatment of stroke. *Neuropharmacology*, 134(Pt B), 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.08.003>
- [10] Zhang, H., Chalothorn, D., & Faber, J. E. (2019). Collateral Vessels Have Unique Endothelial and Smooth Muscle Cell Phenotypes. *International journal of molecular sciences*, 20(15), 3608. <https://doi.org/10.3390/ijms20153608>
- [11] Okell, T. W., Harston, G., Chappell, M. A., Sheerin, F., Kennedy, J., & Jezzard, P. (2019). Measurement of collateral perfusion in acute stroke: a vessel-encoded arterial spin labeling study. *Scientific reports*, 9(1), 8181. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44417-7>
- [12] Lima, F. O., Furie, K. L., Silva, G. S., Lev, M. H., Camargo, E. C., Singhal, A. B., Harris, G. J., Halpern, E. F., Koroshetz, W. J., Smith, W. S., Yoo, A. J., & Nogueira, R. G. (2010). The pattern of leptomeningeal collaterals on CT angiography is a strong predictor of long-term functional outcome in stroke patients with large vessel intracranial occlusion. *Stroke*, 41(10), 2316-2322. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.592303>
- [13] Madelung, C. F., Ovesen, C., Trampedach, C., Christensen, A., Havsteen, I., Hansen, C. K., & Christensen, H. (2018). Leptomeningeal collateral status predicts outcome after middle cerebral artery occlusion. *Acta neurologica Scandinavica*, 137(1), 125-132. <https://doi.org/10.1111/ane.12834>
- [14] Okyere, B., Creasey, M., Lebovitz, Y., & Theus, M. H. (2018). Temporal remodeling of pial collaterals and functional deficits in a murine model of ischemic stroke. *Journal of neuroscience methods*, 293, 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.09.010>

## A modern view on potential biomarkers of Parkinson's disease (review)

A. V. Demchenko <sup>A,F</sup>, V. V. Biriuk <sup>\*B,C,D,E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Parkinson's disease (PD) is one of the most widespread neurodegenerative diseases. In spite of the large number of researches, the problem of earlier diagnosis and targeted pathogenetic therapy remains relevant. For more than 20 years, scientists have been continuing to study potential diagnostic and prognostic PD biomarkers. An accurate diagnostic biomarker can help identify PD before motor symptoms occur, or when motor and non-motor symptoms are insufficient to diagnose, and also can be used to differentiate between idiopathic PD and other forms of parkinsonism.

**The aim** of the research is to analyze the last studies of potential PD biomarkers in human biological fluids.

**Conclusions.** Most studies of recent years indicate that the level of total  $\alpha$ -synuclein, its oligomers in blood plasma and its formed elements is elevated in patients at the early stages of PD, and it can be a valuable prognostic biomarker for disease progression, in particular its motor symptoms. Studies of the level of this potential biomarker not only in blood plasma and its formed elements, but also in neuronal exosomes, are promising. The negative impact of oxidative stress in PD is a significant trigger for irreversible pathogenetic processes that affect the development of neurodegenerative changes. Perspectives of further researches may lay not only in identifying the concentrations of nitrotyrosine and oxidative stress components and antioxidants in the blood of PD patients, but also in determining of the effect of antiparkinsonian and neuroprotective drugs on the antioxidant system in order to pathogenetically justify their use for reducing of oxidative stress. It is promising to study the activity of melatonin in the context of its relationship with the components of oxidative stress and antioxidants by determining their concentrations in blood of PD patients.

### Key words:

Parkinson disease, biomarkers, synuclein, glutathione, glutathione peroxidase, melatonin, nitrotyrosine.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 241-247

\*E-mail:  
[varvarabiriuk@gmail.com](mailto:varvarabiriuk@gmail.com)

## Сучасний погляд на потенційні біомаркери хвороби Паркінсона (огляд)

А. В. Демченко, В. В. Бірюк

Хвороба Паркінсона (ХП) – одне з найпоширеніших нейродегенеративних захворювань. Незважаючи на велику кількість досліджень, що присвячені ХП, проблема ранньої діагностики та таргетованої патогенетичної терапії залишається актуальною. Науковці вже понад 20 останніх років досліджують потенційні діагностичні та прогностичні біомаркери ХП на різних стадіях захворювання. Точний діагностичний біомаркер може допомогти ідентифікувати ХП до виникнення моторних симптомів або коли моторних і немоторних симптомів недостатньо для встановлення діагнозу, а також його можна використовувати для диференційної діагностики між ХП та іншими неврологічними захворюваннями, зокрема під час диференціювання між ідіопатичною ХП та іншими формами паркінсонізму.

**Мета роботи** – проаналізувати останні дослідження потенційних біомаркерів ХП у біологічних рідинах людини.

**Висновки.** У більшості проаналізованих досліджень останніх років визначено, що рівень загального  $\alpha$ -синуклеїну, його олігомерів у плазмі крові та її формених елементах є підвищеним у пацієнтів на ранніх стадіях ХП, а також є цінним прогностичним маркером щодо прогресування захворювання, зокрема його моторних симптомів. Перспективними є дослідження рівня потенційного біомаркера не тільки у плазмі крові та її формених елементах, але й у нейрональних екзосомах. Негативний вплив оксидативного стресу при ХП – суттєвий тригер незворотних патогенетичних процесів, які впливають на розвиток нейродегенеративних змін. Перспективними можуть бути не тільки дослідження з виявлення концентрацій компонентів нітрозативного та оксидативного стресу, антиоксидантів у крові пацієнтів з ХП, але й з визначення впливу протипаркінсонічних і нейропротективних препаратів на стан антиоксидантної системи для патогенетичного обґрунтування їх використання для нівелювання проявів оксидативного стресу. Перспективним є дослідження активності мелатоніну в контексті його зв'язків із компонентами оксидативного стресу та антиоксидантами шляхом визначення їхніх концентрацій у крові пацієнтів з ХП.

### Ключові слова:

хвороба Паркінсона, біомаркери, синуклеїн, глутатіон, глутатіонпероксидаза, мелатонін, нітротирозин.

**Патологія.** 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 241-247

## Современный взгляд на потенциальные биомаркеры болезни Паркинсона (обзор)

А. В. Демченко, В. В. Бирюк

Болезнь Паркинсона (БП) – одно из наиболее распространённых нейродегенеративных заболеваний. Несмотря на большое количество исследований, посвящённых БП, проблема ранней диагностики и таргетированной патогенетической терапии остаётся актуальной. Ученые более 20 последних лет исследуют потенциальные диагностические и прогностические биомаркеры БП на разных стадиях заболевания. Точный диагностический биомаркер может помочь в идентификации БП до появления моторных симптомов или когда моторных и немоторных симптомов недостаточно для установления диагноза, а также может быть использован для дифференциальной диагностики между БП и другими неврологическими заболеваниями, в частности при дифференцировании между идиопатической БП и другими формами паркинсонизма.

**Ключевые слова:**  
болезнь

Паркинсона,  
биомаркеры,  
синуклеин,  
глутатион,  
глутатион-  
пероксидаза,  
мелатонин,  
нитротирозин.

Патология. 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 241-247

**Цель работы** – проанализировать последние исследования потенциальных биомаркеров БП в биологических жидкостях человека.

**Выводы.** В большинстве проанализированных исследований последних лет указано, что уровень общего  $\alpha$ -синуклеина, его олигомеров в плазме крови и ее форменных элементах повышен у пациентов на ранних стадиях БП, а также может быть ценным прогностическим маркером прогрессирования заболевания, в частности, его моторных симптомов. Перспективными являются исследования уровня потенциального биомаркера не только в плазме крови и ее форменных элементах, а и в нейрональных экзосомах. Отрицательное влияние оксидативного стресса при БП – существенный триггер необратимых патогенетических процессов, которые влияют на развитие нейродегенеративных изменений. Перспективными могут быть не только исследования по установлению концентраций компонентов нитрозативного и оксидативного стресса и антиоксидантов в крови пациентов с БП, но и по определению влияния противопаркинсонических и нейропротективных препаратов на состояние антиоксидантной системы с целью патогенетического обоснования их использования для нивелирования проявлений оксидативного стресса. Перспективным является исследование активности мелатонина в контексте его взаимоотношений с компонентами оксидативного стресса и антиоксидантами путем определения их концентраций в крови пациентов с БП.

Parkinson's disease (PD) is one of the most widespread neurodegenerative diseases [1] with no cure in sight [2]. In more than 200 years since the PD was officially recognized worldwide, the scientific community has learned quite a bit about the peculiarities of the pathogenesis, the course of the disease and developed international guidelines and recommendations for the management of patients at different PD stages [3]. Clinical manifestations of PD are caused by the death of dopaminergic neurons of the cerebral substantia nigra, degeneration of the nigrostriatal, mesolimbic and mesocortical pathways, decreased dopamine concentration, as well as imbalance of brain neurotransmitter systems (cholinergic, noradrenergic) [4]. It is known that this disease is characterized by a combination of motor (rest tremor, rigidity, hypokinesia) [5] and non-motor symptoms in the form of cognitive and psycho-emotional disorders (increased anxiety, apathy, depression of varying severity, etc.) [6,7], which can significantly impair a patient's quality of life. Such important non-motor symptoms of PD as hyposmia and sleep disorders may occur before motor symptoms [8], and their negative impact on patient's life quality is often underestimated [9]. But still the question of earlier diagnosis of PD [4], as well as targeted pathogenetic therapy, remains relevant [10].

To this end, for more than 20 years, scientists have been continuing to study potential diagnostic and prognostic PD biomarkers at different stages of the disease [11]. An accurate diagnostic biomarker can help identify PD before motor symptoms occur, or when motor and non-motor symptoms are insufficient to diagnose, and can be used to differentiate between idiopathic PD and other forms of parkinsonism [2]. Numerous studies of various potential PD biomarkers are ongoing, but only a few are important for clinical practice [12]. Studies of biomarkers in human biological fluids (blood plasma, its formed elements, cerebrospinal fluids, etc.) are quite common [2], as for rational implementation in clinical practice, detection of biomarkers requires maximum convenience and safety for the patient.

## Aim

The aim of the research is to analyze the last studies of potential PD biomarkers in human biological fluids.

It is known, that PD is a type of  $\alpha$ -synucleinopathies [13], as  $\alpha$ -synuclein is a central component of the patho-

genesis of this disease [14]. The level of  $\alpha$ -synuclein is studied in autopsy materials [15], cerebrospinal fluid and blood [16]. The most technically simple and safe lifetime method of detecting the concentration of potential PD biomarkers is their measuring in blood.

Over the past three years the global research database has been replenished with new data that have a common tendency to recognize  $\alpha$ -synuclein and its oligomers in blood plasma and its formed elements as one of the best potential PD biomarkers, even in the early stages of the disease. Thus, in 2017, Vicente Miranda H. et al. decided to determine whether posttranslational modifications of  $\alpha$ -synuclein in blood can be valuable biomarkers of PD. The study involved 58 PD patients and 30 healthy participants (groups were comparable in age). The authors found that the levels of Y125-phosphorylated, Y39-nitrated and glycosylated  $\alpha$ -synuclein were elevated in patients with PD [17]. Jian Ding and co-authors studied the plasma levels of  $\alpha$ -synuclein, T-tau, P-tau181 and A $\beta$ -42-proteins in 73 PD patients, and association of these levels with motor manifestations. Plasma  $\alpha$ -synuclein levels were significantly higher in PD patients compared to control group, and were also higher in the group of patients with postural instability and gait disturbance compared to the tremor-dominant subtype group [18]. Chin-Hsien Lin et al. studied plasma  $\alpha$ -synuclein levels in 80 PD patients and 34 healthy controls. There was a significant increase in  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients compared with controls and in  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients with a higher Hoehn–Yahr stage without any correlation with motor symptoms severity (according to Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) part III scores). However, plasma  $\alpha$ -synuclein levels were significantly higher in PD patients with concomitant dementia than in patients with mild cognitive impairment or normal cognition and were negatively correlated with Mini-Mental State Examination (MMSE) scores [19]. But there were other investigations with less optimistic results. For example, Nor A. Samat et al. did not reveal a significant difference between the plasma  $\alpha$ -synuclein levels of PD patients and cognitive impairment in groups distributed according to Montreal Cognitive Assessment test (MoCA) and Parkinson's Disease Cognitive Rating Scale (PDCRS) results [20].

In the same year a team of scientists led by S. Pchelina aimed to investigate glucocerebrosidase 1 (GBA) enzymatic activity in dried blood spots with assessing

plasma oligomeric  $\alpha$ -synuclein levels in sporadic PD (sPD) patients, in PD patients with mutations in the GBA gene (GBA-PD) and in controls. They found that plasma oligomeric  $\alpha$ -synuclein levels were increased in GBA-PD group compared to sPD and controls. Authors suggested that the decrease in enzymatic activity of lysosomal hydrolases in GBA mutation carriers may contribute to PD pathogenesis by increasing the level of neurotoxic oligomeric  $\alpha$ -synuclein species [21]. Matsumoto J. et al. paid attention that erythrocytes contain  $\alpha$ -synuclein concentrations ~1000-fold higher than the cerebrospinal fluid, as a source of potentially pathogenic  $\alpha$ -synuclein. Also erythrocytes produce  $\alpha$ -synuclein-rich extracellular vesicles (EVs), which can cross the blood-brain barrier (BBB), especially under inflammatory conditions provoked by peripheral administration of lipopolysaccharide. According to the authors this transport likely occurs via adsorptive-mediated transcytosis, with EVs that transit the BBB co-localizing with brain microglia. Examination of microglial reactivity upon exposure to  $\alpha$ -synuclein-containing erythrocyte EVs in vitro and in vivo revealed that uptake provoked an increase in microglial inflammatory responses, and EVs derived from the erythrocytes of PD patients elicited stronger responses than did those of control subjects [22].

In 2018 Hua Wang et al. published the results of a study, in which they investigated the levels of plasma  $\alpha$ -synuclein and central nervous system (CNS)  $\alpha$ -synuclein in 256 PD patients in the early stages in baseline and 2-year follow-up. The results demonstrated that baseline and longitudinal increase in total  $\alpha$ -synuclein predicted progression of cognitive decline in hyposmic PD patients with dopamine transporter (DAT) binding reduction. On the other hand, a longitudinal decrease in nervous system derived exosomal (NDE)  $\alpha$ -synuclein predicted worsening cognitive scores in hyposmic PD patients with DAT binding reduction. Finally, in PD patients with faster DAT progression, decreasing NDE/total  $\alpha$ -synuclein ratio was associated with a larger reduction in DAT from baseline to follow-up. Authors suggest that, though underlying mechanisms remain to be defined, alterations in plasma total and NDE  $\alpha$ -synuclein concentrations are likely associated with PD progression, especially in the aspect of cognitive impairment, in early stages of the disease [23].

The correlation between  $\alpha$ -synuclein and GBA genes and their mutations, associated with a higher risk of PD developing, has also been investigated. Nikolaos Papagiannakis and co-authors took erythrocyte membranes from 36 PD patients with mutation carriers in the  $\alpha$ -synuclein gene (A53T-PD) and GBA gene (GBA-PD), and patients without known mutations ( $n = 56$ ), and age-/sex-matched controls ( $n = 56$ ). A statistically significant increase of  $\alpha$ -synuclein dimer and dimer to monomer ratio was found in GBA-PD and in patients without these mutations. In contrast, dimer levels of A53T-PD were not different from controls. No difference was found in  $\alpha$ -synuclein monomer levels as well [24].

Simona Daniele et al. found the correlation between erythrocyte  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients ( $n = 28$ ) compared with control group ( $n = 45$ ) and the severity of the disease and motor deficiency [25]. Amrendra Pratap Singh with co-authors studied the levels of  $\alpha$ -synuclein

in 38 PD patients and 33 healthy controls and found a significant increase in plasma  $\alpha$ -synuclein concentration in PD patients [26].

In contrast to previous studies, Michalina Malec-Litwinowicz and co-authors did not find a significant statistical difference between plasma  $\alpha$ -synuclein levels in 58 PD patients and 38 controls. They found an inverse correlation between plasma  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients, who had postural instability and gait disturbances, and the Hoehn–Yahr stage [27]. And Jennifer G. Goldman et al. did not find a significant difference between plasma  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients and healthy controls [28].

Instead, A. Emelyanov et al. studied the blood  $\alpha$ -synuclein levels in 458 PD patients and 353 controls. Elevated levels of  $\alpha$ -synuclein single nucleotide polymorphisms and total  $\alpha$ -synuclein were found in the homogenous cell fraction of CD45+ blood cells in PD patients compared to control subjects [29].

Later, in 2019 Xiaoli Si determined, that CNS-produced exosomal  $\alpha$ -synuclein in blood plasma can be regarded as a biomarker for the differential diagnosis between essential tremor and early stages of PD [30]. Using newly developed electrochemiluminescence assays, Chen Tian et al. found that the level of total and aggregated  $\alpha$ -synuclein were higher in the erythrocytes membrane fractions of PD patients than in healthy controls [31]. Adeline S. L. Ng. with co-authors detected plasma  $\alpha$ -synuclein levels in 170 PD patients and 51 controls by single molecule array technology. Plasma  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients were significantly higher than in healthy controls. In PD,  $\alpha$ -synuclein levels did not vary by Hoehn–Yahr stages of the disease or UPDRS motor scores, but were significantly higher in PD patients with poorer cognition than controls [32]. According to the large meta-analysis, performed by Anastasia Bougea et al., plasma  $\alpha$ -synuclein levels in patients with PD were also significantly higher compared to control groups [33].

Researchers, whose studies were published in 2020, also observed the relationship between plasma  $\alpha$ -synuclein levels in PD patients and severity of motor symptoms. Chun-Wei Chang et al. revealed that the serum  $\alpha$ -synuclein level showed a significant correlation with patients in Hoehn–Yahr stages 1–3, implying that the serum  $\alpha$ -synuclein level may be a potential marker of motor symptom severity in patients with early PD [34]. Zheng Fan with co-authors also found the correlation between elevated plasma total  $\alpha$ -synuclein level in PD patients and the severity of their motor symptoms [35]. However, there is now a tendency for scientists to study the  $\alpha$ -synuclein level not just in blood plasma, but in its neuronal exosomes. Past studies showed that  $\alpha$ -synuclein and other proteins can be transported to the blood through exosomes [36]. Therefore, M. Niu team of investigators included in their study 36 PD patients in the early stages of the disease, 17 patients with advanced PD, 20 patients with idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder and 21 healthy controls. 18 of 36 patients in the early stages of PD were examined twice: at the beginning of the study and after another 22 months. As a result, a significant increase of the  $\alpha$ -synuclein levels in plasma neuronal exosomes of PD patients in the early stages compared with healthy controls was found. In addition,

Spearman's correlation analysis revealed that neuronal exosomal  $\alpha$ -synuclein concentrations were correlated with Movement Disorders Society UPDRS III/(I + II + III) scores, Non-Motor Symptom Questionnaire scores and Sniffin' Sticks 16-item test scores of patients with PD. After a mean follow-up of 22 months in patients with early-stage PD, a Cox regression analysis adjusted for age and gender showed that longitudinally increased  $\alpha$ -synuclein rather than baseline  $\alpha$ -synuclein levels were associated with higher risk for motor symptom progression in PD [37].

And in April 2020 Jiang C. et al. published the results of their study, according to which increased levels of neuronal exosomal  $\alpha$ -synuclein predicted the development of PD, persisted with the disease progression and helped to differentiate PD from other forms of atypical parkinsonism [38].

The development of oxidative and nitrosative stress also plays a leading role in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. It is known that increased levels of free radicals, oxidized proteins and lipids and decreased activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione, etc. make dopaminergic neurons more susceptible to oxidative stress [39,40]. Oxidative stress reflects an imbalance between the hyperproduction of free radicals and dynamic ability to detoxify their excess [41]. Oxidative stress is known to be associated with the etiology of many neurodegenerative diseases, including PD [42], and PD is associated with a decrease in nigral glutathione [43]. Although the exact mechanisms of neurodegeneration and persistent pathological changes remain unknown, the critical role of oxidative stress in pathogenesis of neurodegenerative diseases is associated with several proteins, including the central  $\alpha$ -synuclein for PD [41]. Deas et al. (2016) suggested that the interaction between  $\alpha$ -synuclein oligomers and metal ions could induce oxidative stress in rats with modeled PD. Neurons with  $\alpha$ -synuclein oligomers had higher levels of oxidative stress in the form of decreased glutathione levels and increased lipid peroxidation [44]. The state of the antioxidant system and the activity of the oxidative stress components and their detection in blood of PD patients is still being studied. Thus, according to C. Vida et al. (2019), high levels of oxidative stress and damage were observed in all blood cells of PD patients in the form of reduced glutathione peroxidase (GPx) activity and increased content of oxidized glutathione and malondialdehyde contents. Authors suggested that an accelerated immunosenescence in PD stage 2, and that several of the parameters studied could be appropriate peripheral biomarkers in the early stages of PD [45]. The GPx activity in PD patients was significantly higher than in healthy controls in Gökçe Çokal B. et al. study [46]. However, in 2018 Zexu Wei et al. did not find a significant difference between the GPx level in blood of PD patients and control group individuals [47]. Also, the study by Yongsheng Yuan et al., which was published in 2016, found a simultaneous decrease in both glutathione and GPx plasma levels in PD patients [48]. A study by Laurie K. Mischley (2016) found the association between low glutathione concentrations and stronger PD severity according to the MDS UPDRS. The authors suggest that blood glutathione may be used as PD biomarker, but note that future studies should determine whether this

is a modified risk factor for PD progression and whether glutathione administration can improve the condition of PD patients [49]. Therefore, these results are quite controversial. But there are interesting results of novel studies, in which the effects of certain anti-Parkinson disease medications on the glutathione level were investigated. Thus, levodopa (but not carbidopa) [50] and intranasally administrated selegiline increased the concentration of this antioxidant in blood of PD patients [51]. Also, there is a noteworthy study by Laurie K. Mischley et al. (2015), in which the safety and tolerability of intranasal glutathione in PD patients was determined [52].

Oxidative stress occurs in several stages, the most important of which is the overproduction of reactive oxygen species (ROS) [53]. In addition to ROS, reactive forms of nitrogen also take part in free radical processes. It is known that nitric oxide plays a significant role as a retrograde neurotransmitter in synapses and can perform posttranslational modifications in proteins, providing physiological mechanism for regulation their functions [54]. However, with age and in pathological processes, nitric oxide forms peroxynitrite, while reacting with the superoxide anion. In this case, peroxynitrite reacts mainly with the phenolic ring of tyrosine and forms nitrotyrosine, which greatly impairs the course of physiological processes in proteins. Under nitrosative stress conditions peroxynitrite is able to oxidize protein SH-groups and form 3-nitrotyrosine [55]. With a decrease of the antioxidant system functional activity, there is an increased ROS formation, both in cell and outside. The neuron's sufficiently active thiol antioxidant system, which is able to regulate the NO transport, provides cell resistance to nitrosative stress, as one of the earliest mechanisms of neuronal destruction. Protein nitrotyrosylation is an irreversible process that leads to the accumulation of modified proteins, contributing to the onset and progression of neurodegeneration, particularly in Alzheimer's disease [54]. Nitration due to tyrosine oxidation induces  $\alpha$ -synuclein aggregation, which inhibits its ability to connect with neurotransmitter vesicles [56]. Moreover, PTEN-induced kinase (PINK1), a mitochondrial serine/threonine-protein kinase that activates parkin, is nitrated in pro-oxidant environments [57], which provides harmful effects of parkin S-nitrosylation.

Past decades have been marked by researches about detection of nitrotyrosine concentrations in PD patients [54]. However, there is no information on studies of nitrotyrosine levels in PD patients in open publications in recent years. Instead, studies of the activity of this marker in laboratory animals, as well as determining the effects of certain substances on it, are ongoing. In particular, the protective properties of recombinant adeno-associated-virus (rAAV-Cbs) were revealed, as it reduced the aberrant accumulation of nitric oxide and 3-nitrotyrosine (an indicator of protein nitration) in the striatum of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induced PD in mice models [58]. Daily oral administration of dimethyl fumarate (10 mg/kg, 30 mg/kg, and 100 mg/kg) to PD mice models helped to reduce the expression of nitrotyrosine neuronal nitrite oxide synthase and also reduced the number of  $\alpha$ -synuclein-positive neurons and regulated glutathione levels [59]. There is an interesting study by M. Bandoakwala et al. (2019), which evaluated



the neuroprotective effect of edavaron – a powerful antioxidant – in combination with caffeine – an effective inhibitor of adenosine-A2-receptors, also known as antioxidant, on the course of PD in mice models and on the activity of oxidative stress markers. The authors found a decrease in level of 3-nitrotyrosine in the striatum, as well as the marker of lipid peroxidation – malonaldehyde – in the striatum, cerebrospinal fluid and urine of animals [60].

The development of preventive mechanisms against the progression of neurodegenerative diseases remains one of the main tasks of the scientific community. Melatonin has both chronobiotic and cytoprotective features. As a chronobiotic, melatonin can modify the phases and amplitudes of biological rhythms. As a cytoprotector, melatonin eliminates the effects of inflammation in neurodegenerative diseases in old patients during aging. In experimental models of PD and Alzheimer's disease, melatonin slowed the process of neurodegeneration. Melatonin also eliminated toxic proteins through the glymphatic system of the brain [61]. It is known, in particular, that melatonin reduces  $\alpha$ -synuclein toxicity in PD patients [62]. Therefore, determination of its level in PD patients, as well as the impact of changes in its concentrations on the course of the disease does not lose its relevance. As melatonin has detoxifying properties, it is interesting to study the relationship between its level and the state of the antioxidant system. Thus, Hui Jun Wei et al. (2019) revealed the increase of serum melatonin level and decrease of glutathione level in PD patients, the correlation of both melatonin and glutathione with PD severity and higher melatonin level in PD patients with sleep disorders, while PD patients with cognitive impairment tended to have lower glutathione level [63]. But this result is somewhat contradicted with a previous study by Uysal HA (2018) et al. Measurement of melatonin alone for the diagnosis of sleep disorders in PD patients was insufficient, as no significant difference in its level was found in patients who were diagnosed with such disorders using specific scales, and in those who did not have such disorders [64]. In the context of the relationship between melatonin and the components of oxidative stress, the article by G. G. Ortiz et al. (2017) is interesting. Considering the activity of GPx, as a known oxidative stress marker, and the detoxifying properties of melatonin, the researches tried to reduce the concentration of GPx in PD patients by prescribing 25 mg of melatonin every 12 hours for 12 months. Unfortunately, this method did not significantly affect the level of GPx in PD patients' blood compared to the placebo-group [65].

## Conclusions

Thus, most studies of recent years indicate that the level of total  $\alpha$ -synuclein, its oligomers in blood plasma and its formed elements is elevated in patients at the early stages of PD, and it can be a valuable prognostic biomarker for disease progression, in particular its motor symptoms. However, the conclusions about the relationship between protein levels and cognitive impairment and the development of psycho-emotional disorders are still quite contradictory, and therefore require further researchers. Studies of the level of a potential biomarker not only in blood plasma and its formed elements, but also in

neuronal exosomes, are promising. The negative impact of oxidative stress in PD is a significant trigger for irreversible pathogenetic processes that affect the development of neurodegenerative changes. Perspectives of further researches may lay not only in identifying the concentrations of oxidative stress components and antioxidants in the blood of PD patients, but also in determining of the effect of antiparkinsonian and neuroprotective drugs on the antioxidant system in order to pathogenetically justify their use for reducing of oxidative stress.

Considering the powerful negative effect of nitrotyrosine on the formation of pathological  $\alpha$ -synuclein – the key protein in the pathogenesis of the PD development – it is reasonable to make further studies of its changes in PD patients. There are interesting studies of the effect of various antioxidants and potential neuroprotective drugs on the content of nitrotyrosine in animal models of PD, which may have further prospects for more detailed clinical study.

It is known that melatonin is a powerful phase modifier of human biological rhythms, and a cytoprotector with powerful antitoxic properties. Nevertheless, the recognition of melatonin alone as a marker of sleep disturbance in PD patients is controversial. However, it is promising to study the activity of melatonin in the context of its relationship with the components of oxidative stress and antioxidants by determining their concentrations in the blood of PD patients.

Thus, a thorough investigation of modern scientific researches on the potential PD biomarkers justifies the feasibility of their further detection in patients at the early stages of this disease for the earlier diagnosis of PD and its targeted therapy.

## Funding

This review is a part of scientific research work in Zaporizhzhia State Medical University "Optimization of diagnostics and treatment tactic in patients with Parkinson's disease" (State registration number 0119U100453).

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

Надійшла до редакції / Received: 25.05.2020

Після доопрацювання / Revised: 09.06.2020

Прийнято до друку / Accepted: 17.06.2020

## Information about authors:

Demchenko A. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
ORCID ID: [0000-0002-4296-0902](https://orcid.org/0000-0002-4296-0902)

Biriuk V. V., MD, PhD-student of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
ORCID ID: [0000-0001-8826-1536](https://orcid.org/0000-0001-8826-1536)

## Відомості про авторів:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Бірюк В. В., очний аспірант каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бирюк В. В., очный аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Jagmag, S. A., Tripathi, N., Shukla, S. D., Maiti, S., & Khurana, S. (2016). Evaluation of Models of Parkinson's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 9, 503. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00503>
- [2] Li, T., & Le, W. (2020). Biomarkers for Parkinson's Disease: How Good Are They?. *Neuroscience bulletin*, 36(2), 183-194. <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00433-1>
- [3] Li, S., & Le, W. (2017). Milestones of Parkinson's Disease Research: 200 Years of History and Beyond. *Neuroscience bulletin*, 33(5), 598-602. <https://doi.org/10.1007/s12264-017-0178-2>
- [4] Kalia, L. V., & Lang, A. E. (2015). Parkinson's disease. *Lancet*, 386(9996), 896-912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- [5] Holden, S. K., Finseth, T., Sillau, S. H., & Berman, B. D. (2018). Progression of MDS-UPDRS Scores Over Five Years in De Novo Parkinson Disease from the Parkinson's Progression Markers Initiative Cohort. *Movement disorders clinical practice*, 5(1), 47-53. <https://doi.org/10.1002/mdc3.12553>
- [6] Schapira, A., Chaudhuri, K. R., & Jenner, P. (2017). Non-motor features of Parkinson disease. *Nature reviews. Neuroscience*, 18(7), 435-450. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.62>
- [7] Pfeiffer, R. F. (2016). Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 22 Suppl 1, S119-S122. <https://doi.org/10.1016/j.parkrel.2015.09.004>
- [8] Sui, X., Zhou, C., Li, J., Chen, L., Yang, X., & Li, F. (2019). Hyposmia as a Predictive Marker of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed research international*, 2019, 3753786. <https://doi.org/10.1155/2019/3753786>
- [9] Albers, J. A., Chand, P., & Anch, A. M. (2017). Multifactorial sleep disturbance in Parkinson's disease. *Sleep medicine*, 35, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2017.03.026>
- [10] Savitt, D., & Jankovic, J. (2019). Targeting  $\alpha$ -Synuclein in Parkinson's Disease: Progress Towards the Development of Disease-Modifying Therapeutics. *Drugs*, 79(8), 797-810. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01104-1>
- [11] Shao, Y. P., & Le, W. D. (2019). Recent advances and perspectives of metabolomics-based investigations in Parkinson's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14, Article 3. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0304-2>
- [12] Chen-Plotkin, A. S., Albin, R., Alcalay, R., Babcock, D., Bajaj, V., Bowman, D., Buko, A., Cedarbaum, J., Chelsky, D., Cookson, M. R., Dawson, T. M., Dewey, R., Foroud, T., Frasier, M., German, D., Gwinn, K., Huang, X., Kopil, C., Kremer, T., Lasch, S., ... Zhang, J. (2018). Finding useful biomarkers for Parkinson's disease. *Science translational medicine*, 10(454), eaam6003. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aam6003>
- [13] Alafuzoff, I., & Hartikainen, P. (2017). Alpha-synucleinopathies. *Handbook of clinical neurology*, 145, 339-353. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00024-9>
- [14] Rocha, E. M., De Miranda, B., & Sanders, L. H. (2018). Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, 109(Pt B), 249-257. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.04.004>
- [15] Liddle, R. A. (2018). Parkinson's disease from the gut. *Brain research*, 1693(Pt B), 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.01.010>
- [16] Parnetti, L., Gaetani, L., Eusebi, P., Paciotti, S., Hansson, O., El-Agnaf, O., Mollenhauer, B., Blennow, K., & Calabresi, P. (2019). CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology*, 18(6), 573-586. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30024-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30024-9)
- [17] Vicente Miranda, H., Cássio, R., Correia-Guedes, L., Gomes, M. A., Chegão, A., Miranda, E., Soares, T., Coelho, M., Rosa, M. M., Ferreira, J. J., & Outeiro, T. F. (2017). Posttranslational modifications of blood-derived alpha-synuclein as biochemical markers for Parkinson's disease. *Scientific reports*, 7(1), 13713. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14175-5>
- [18] Ding, J., Zhang, J., Wang, X., Zhang, L., Jiang, S., Yuan, Y., Li, J., Zhu, L., & Zhang, K. (2017). Relationship between the plasma levels of neurodegenerative proteins and motor subtypes of Parkinson's disease. *Journal of neural transmission*, 124(3), 353-360. <https://doi.org/10.1007/s00702-016-1650-2>
- [19] Lin, C. H., Yang, S. Y., Horng, H. E., Yang, C. C., Chieh, J. J., Chen, H. H., Liu, B. H., & Chiu, M. J. (2017). Plasma  $\alpha$ -synuclein predicts cognitive decline in Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 88(10), 818-824. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-314857>
- [20] Samat, N. A., Abdul Murad, N. A., Mohamad, K., Abdul Razak, M. R., & Mohamed Ibrahim, N. (2017). Apolipoprotein E $\epsilon$ 4: A Biomarker for Executive Dysfunction among Parkinson's Disease Patients with Mild Cognitive Impairment. *Frontiers in neuroscience*, 11, 712. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00712>
- [21] Pchelina, S., Emelyanov, A., Baydakova, G., Andoskin, P., Senkevich, K., Nikolaev, M., Miliukhina, I., Yakimovskii, A., Timofeeva, A., Fedotova, E., Abramychyeva, N., Usenko, T., Kulabukhova, D., Lavrinova, A., Kopytova, A., Garaeva, L., Nuzhnyi, E., Illarionshkin, S., & Zakhharova, E. (2017). Oligomeric  $\alpha$ -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 636, 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.039>
- [22] Matsumoto, J., Stewart, T., Sheng, L., Li, N., Bullock, K., Song, N., Shi, M., Banks, W. A., & Zhang, J. (2017). Transmission of  $\alpha$ -synuclein-containing erythrocyte-derived extracellular vesicles across the blood-brain barrier via adsorptive mediated transcytosis: another mechanism for initiation and progression of Parkinson's disease?. *Acta neuropathologica communications*, 5(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0470-4>
- [23] Wang, H., Atik, A., Stewart, T., Gingham, C., Aro, P., Kerr, K. F., Seibyl, J., Jennings, D., PARS Investigators, Jensen, P. H., Marek, K., Shi, M., & Zhang, J. (2018). Plasma  $\alpha$ -synuclein and cognitive impairment in the Parkinson's Associated Risk Syndrome: A pilot study. *Neurobiology of disease*, 116, 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.04.015>
- [24] Papagiannakis, N., Koros, C., Stamelou, M., Simitsi, A. M., Maniati, M., Antonelou, R., Papadimitriou, D., Dermentzaki, G., Moraitou, M., Michelakakis, H., & Stefanis, L. (2018). Alpha-synuclein dimerization in erythrocytes of patients with genetic and non-genetic forms of Parkinson's Disease. *Neuroscience letters*, 672, 145-149. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.11.012>
- [25] Daniele, S., Frosini, D., Pietrobbono, D., Petrozzi, L., Lo Gerfo, A., Baldacci, F., Fusi, J., Giacomelli, C., Siciliano, G., Trincavelli, M. L., Franzoni, F., Ceravolo, R., Martini, C., & Bonuccelli, U. (2018).  $\alpha$ -Synuclein Heterocomplexes with  $\beta$ -Amyloid Are Increased in Red Blood Cells of Parkinson's Disease Patients and Correlate with Disease Severity. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 53. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00053>
- [26] Singh, A. P., Bajaj, T., Gupta, D., Singh, S. B., Chakrawarty, A., Goyal, V., Dey, A. B., & Dey, S. (2018). Serum Mortalin Correlated with  $\alpha$ -Synuclein as Serum Markers in Parkinson's Disease: A Pilot Study. *Neuromolecular medicine*, 20(1), 83-89. <https://doi.org/10.1007/s12017-017-8475-5>
- [27] Malec-Litwinowicz, M., Plewka, A., Plewka, D., Bogunia, E., Morek, M., Szczudlik, A., Szubiga, M., & Rudzińska-Bar, M. (2018). The relation between plasma  $\alpha$ -synuclein level and clinical symptoms or signs of Parkinson's disease. *Neurologia i neurochirurgia polska*, 52(2), 243-251. <https://doi.org/10.1016/j.pjnns.2017.11.009>
- [28] Goldman, J. G., Andrews, H., Amara, A., Naito, A., Alcalay, R. N., Shaw, L. M., Taylor, P., Xie, T., Tuite, P., Henchcliffe, C., Hogarth, P., Frank, S., Saint-Hilaire, M. H., Frasier, M., Arnedo, V., Reimer, A. N., Sutherland, M., Swanson-Fischer, C., Gwinn, K., Fox Investigation of New Biomarker Discovery, ... Kang, U. J. (2018). Cerebrospinal fluid, plasma, and saliva in the BioFIND study: Relationships among biomarkers and Parkinson's disease Features. *Movement disorders*, 33(2), 282-288. <https://doi.org/10.1002/mds.27232>
- [29] Emelyanov, A., Kulabukhova, D., Garaeva, L., Senkevich, K., Verbitskaya, E., Nikolaev, M., Andoskin, P., Kopytova, A., Milyukhina, I., Yakimovskii, A., Timofeeva, A., Prakhova, L., Ilves, A., Vlasova, I., & Pchelina, S. (2018). SNCA variants and alpha-synuclein level in CD45+ blood cells in Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 395, 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2018.10.002>
- [30] Si, X., Tian, J., Chen, Y., Yan, Y., Pu, J., & Zhang, B. (2019). Central Nervous System-Derived Exosomal Alpha-Synuclein in Serum May Be a Biomarker in Parkinson's Disease. *Neuroscience*, 413, 308-316. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.05.015>
- [31] Tian, C., Liu, G., Gao, L., Soltys, D., Pan, C., Stewart, T., Shi, M., Xie, Z., Liu, N., Feng, T., & Zhang, J. (2019). Erythrocytic  $\alpha$ -Synuclein as a potential biomarker for Parkinson's disease. *Translational neurodegeneration*, 8, 15. <https://doi.org/10.1186/s40035-019-0155-y>
- [32] Ng, A., Tan, Y. J., Lu, Z., Ng, E., Ng, S., Chia, N., Setiawan, F., Xu, Z., Tay, K. Y., Prakash, K. M., Au, W. L., Tan, E. K., & Tan, L. (2019). Plasma alpha-synuclein detected by single molecule array is increased in PD. *Annals of clinical and translational neurology*, 6(3), 615-619. <https://doi.org/10.1002/acn3.729>
- [33] Bougea, A., Stefanis, L., Paraskevas, G. P., Emmanouilidou, E., Vekrelis, K., & Kapaki, E. (2019). Plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurological sciences*, 40(5), 929-938. <https://doi.org/10.1007/s10072-019-03738-1>

- [34] Chang, C. W., Yang, S. Y., Yang, C. C., Chang, C. W., & Wu, Y. R. (2020). Plasma and Serum Alpha-Synuclein as a Biomarker of Diagnosis in Patients With Parkinson's Disease. *Frontiers in neurology*, 10, 1388. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01388>
- [35] Fan, Z., Pan, Y. T., Zhang, Z. Y., Yang, H., Yu, S. Y., Zheng, Y., Ma, J. H., & Wang, X. M. (2020). Systemic activation of NLRP3 inflammasome and plasma  $\alpha$ -synuclein levels are correlated with motor severity and progression in Parkinson's disease. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1670-6>
- [36] Shi, M., Sheng, L., Stewart, T., Zabetian, C. P., & Zhang, J. (2019). New windows into the brain: Central nervous system-derived extracellular vesicles in blood. *Progress in neurobiology*, 175, 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.01.005>
- [37] Niu, M., Li, Y., Li, G., Zhou, L., Luo, N., Yao, M., Kang, W., & Liu, J. (2020). A longitudinal study on  $\alpha$ -synuclein in plasma neuronal exosomes as a biomarker for Parkinson's disease development and progression. *European journal of neurology*, 27(6), 967-974. <https://doi.org/10.1111/ene.14208>
- [38] Jiang, C., Hopfner, F., Katsikoudi, A., Hein, R., Catli, C., Evetts, S., Huang, Y., Wang, H., Ryder, J. W., Kuhlenbaeumer, G., Deuschl, G., Padovani, A., Berg, D., Borroni, B., Hu, M. T., Davis, J. J., & Tofaris, G. K. (2020). Serum neuronal exosomes predict and differentiate Parkinson's disease from atypical parkinsonism. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 91(7), 720-729. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322588>
- [39] Blesa, J., Trigo-Damas, I., Quiroga-Varela, A., & Jackson-Lewis, V. R. (2015). Oxidative stress and Parkinson's disease. *Frontiers in neuroanatomy*, 9, 91. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00091>
- [40] Khan, Z., & Ali, S. A. (2018). Oxidative stress-related biomarkers in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Iranian journal of neurology*, 17(3), 137-144.
- [41] Jiang, T., Sun, Q., & Chen, S. (2016). Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Progress in neurobiology*, 147, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.07.005>
- [42] Islam, M. T. (2017). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological research*, 39(1), 73-82. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1251711>
- [43] Coles, L. D., Tuite, P. J., Öz, G., Mishra, U. R., Kartha, R. V., Sullivan, K. M., Cloyd, J. C., & Terpstra, M. (2018). Repeated-Dose Oral N-Acetylcysteine in Parkinson's Disease: Pharmacokinetics and Effect on Brain Glutathione and Oxidative Stress. *Journal of clinical pharmacology*, 58(2), 158-167. <https://doi.org/10.1002/jcph.1008>
- [44] Deas, E., Cremades, N., Angelova, P. R., Ludtmann, M. H., Yao, Z., Chen, S., Horrocks, M. H., Banushi, B., Little, D., Devine, M. J., Gissen, P., Klennerman, D., Dobson, C. M., Wood, N. W., Gandhi, S., & Abramov, A. Y. (2016). Alpha-Synuclein Oligomers Interact with Metal Ions to Induce Oxidative Stress and Neuronal Death in Parkinson's Disease. *Antioxidants & redox signaling*, 24(7), 376-391. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6343>
- [45] Vida, C., Kobayashi, H., Garrido, A., Martínez de Toda, I., Carro, E., Molina, J. A., & De la Fuente, M. (2019). Lymphoproliferation Impairment and Oxidative Stress in Blood Cells from Early Parkinson's Disease Patients. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 771. <https://doi.org/10.3390/ijms20030771>
- [46] Gökçe Çokal, B., Yurtdaş, M., Keskin Güler, S., Güneş, H. N., Ataç Uçar, C., Aytaç, B., Durak, Z. E., Yoldaş, T. K., Durak, İ., & Çubukçu, H. C. (2017). Serum glutathione peroxidase, xanthine oxidase, and superoxide dismutase activities and malondialdehyde levels in patients with Parkinson's disease. *Neurological sciences*, 38(3), 425-431. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2782-8>
- [47] Wei, Z., Li, X., Li, X., Liu, Q., & Cheng, Y. (2018). Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 236. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00236>
- [48] Yuan, Y., Tong, Q., Zhang, L., Jiang, S., Zhou, H., Zhang, R., Zhang, S., Xu, Q., Li, D., Zhou, X., Ding, J., & Zhang, K. (2016). Plasma antioxidant status and motor features in de novo Chinese Parkinson's disease patients. *The International journal of neuroscience*, 126(7), 641-646. <https://doi.org/10.3109/00207454.2015.1054031>
- [49] Mischley, L. K., Standish, L. J., Weiss, N. S., Padowski, J. M., Kavanagh, T. J., White, C. C., & Rosenfeld, M. E. (2016). Glutathione as a Biomarker in Parkinson's Disease: Associations with Aging and Disease Severity. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 9409363. <https://doi.org/10.1155/2016/9409363>
- [50] Colamartino, M., Duranti, G., Ceci, R., Sabatini, S., Testa, A., & Cozzi, R. (2018). A multi-biomarker analysis of the antioxidant efficacy of Parkinson's disease therapy. *Toxicology in vitro*, 47, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.10.020>
- [51] Kumar, S., Dang, S., Nigam, K., Ali, J., & Baboota, S. (2018). Selegiline Nanoformulation in Attenuation of Oxidative Stress and Upregulation of Dopamine in the Brain for the Treatment of Parkinson's Disease. *Rejuvenation research*, 21(5), 464-476. <https://doi.org/10.1089/rej.2017.2035>
- [52] Mischley, L. K., Leverenz, J. B., Lau, R. C., Polissar, N. L., Neradilek, M. B., Samii, A., & Standish, L. J. (2015). A randomized, double-blind phase I/IIa study of intranasal glutathione in Parkinson's disease. *Movement disorders*, 30(12), 1696-1701. <https://doi.org/10.1002/mds.26351>
- [53] Jakubczyk, K., Dec, K., Kalduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species – sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski*, 48(284), 124-127.
- [54] Picón-Pagès, P., Garcia-Buendia, J., & Muñoz, F. J. (2019). Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochimica et biophysica acta*, 1865(8), 1949-1967. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2018.11.007>
- [55] Tsikas, D. (2017). What we authors, reviewers and editors of scientific work-can learn from the analytical history of biological 3-nitrotyrosine. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1058, 68-72. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.05.012>
- [56] Bural, R., Ait-Bouziad, N., Chiki, A., & Lashuel, H. A. (2015). Elucidating the Role of Site-Specific Nitration of  $\alpha$ -Synuclein in the Pathogenesis of Parkinson's Disease via Protein Semisynthesis and Mutagenesis. *Journal of the American Chemical Society*, 137(15), 5041-5052. <https://doi.org/10.1021/ja5131726>
- [57] Feng, J., Chen, X., Guan, B., Li, C., Qiu, J., & Shen, J. (2018). Inhibition of Peroxynitrite-Induced Mitophagy Activation Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury. *Molecular neurobiology*, 55(8), 6369-6386. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0859-x>
- [58] Yuan, Y. Q., Wang, Y. L., Yuan, B. S., Yuan, X., Hou, X. O., Bian, J. S., Liu, C. F., & Hu, L. F. (2018). Impaired CBS-H<sub>2</sub>S signaling axis contributes to MPTP-induced neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *Brain, behavior, and immunity*, 67, 77-90. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.159>
- [59] Campolo, M., Casili, G., Biundo, F., Crupi, R., Cordaro, M., Cuzzocrea, S., & Esposito, E. (2017). The Neuroprotective Effect of Dimethyl Fumarate in an MPTP-Mouse Model of Parkinson's Disease: Involvement of Reactive Oxygen Species/Nuclear Factor- $\kappa$ B/Nuclear Transcription Factor Related to NF-E2. *Antioxidants & redox signaling*, 27(8), 453-471. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6800>
- [60] Bandoorkwala, M., Sahu, A. K., Thakkar, D., Sharma, M., Khairam, A., & Sengupta, P. (2019). Edaravone-caffeine combination for the effective management of rotenone induced Parkinson's disease in rats: An evidence based affirmative from a comparative analysis of behavior and biomarker expression. *Neuroscience letters*, 711, 134438. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134438>
- [61] Cardinali, D. P. (2019). Melatonin: Clinical Perspectives in Neurodegeneration. *Frontiers in endocrinology*, 10, 480. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00480>
- [62] Gallardo-Fernández, M., Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2019). Melatonin, protocatechuic acid and hydroxytyrosol effects on vitagenes system against alpha-synuclein toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 134, 110817. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110817>
- [63] Wei, H. J., DU, M., & Bai, H. Y. (2019). Correlations of Melatonin and Glutathione Levels with Oxidative Stress Mechanism in Parkinson's Disease. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 41(2), 183-187. <https://doi.org/10.3881/j.issn.1000-503X.10775>
- [64] Uysal, H. A., Tiftikcioğlu, B. I., Öcek, L., & Zorlu, Y. (2018). Serum Levels of Melatonin and Sleep Evaluation Scales in the Diagnosis of Sleep Disorders in Patients with Idiopathic Parkinson's Disease. *Noro psikiyatri arsivi*, 56(4), 264-268. <https://doi.org/10.5152/npa.2017.19367>
- [65] Ortiz, G. G., Moráles-Sánchez, E. W., Pacheco-Moisés, F. P., Jiménez-Gil, F. J., Macías-Islas, M. A., Mireles-Ramírez, M. A., & González-Usigli, H. (2017). Efecto de la administración de melatonina sobre la actividad de la ciclooxigenasa-2, la concentración sérica de metabolitos del óxido nítrico, los lipoperóxidos y la actividad de la glutatión peroxidasa en pacientes con enfermedad de Parkinson [Effect of melatonin administration on cyclooxygenase-2 activity, serum levels of nitric oxide metabolites, lipoperoxides and glutathione peroxidase activity in patients with Parkinson's disease]. *Gaceta medica de Mexico*, 153(Supl. 2), S72-S81. <https://doi.org/10.24875/GMM.M17000008>

## Возрождение концепции и развитие донорства после циркуляторной смерти человека в эру трансплантации органов

В. А. Туманский\*<sup>A,D,C,F</sup>, С. И. Воротынцев<sup>C,E</sup>, Л. М. Туманская<sup>B,C</sup>

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи; E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

### Ключевые слова:

доноры, циркуляторная смерть, трансплантация органов.

Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 248-255

### \*E-mail:

[v.tumanskiy@gmail.com](mailto:v.tumanskiy@gmail.com)

С начала XX столетия параллельно с применяющимися в трансплантологии стандартами смерти целостного мозга донора и смерти ствола головного мозга донора практическое возрождение получила концепция донорства после циркуляторной смерти человека.

**Цель работы** – анализ возрождения концепции циркуляторной смерти человека и протоколов донорства после ее констатации.

В обзоре приведен ретроспективный анализ возрождения и развития концепции циркуляторной смерти человека, широко применяемой в современной трансплантологии. Установлено, что главным критерием циркуляторной смерти человека, принятым во всех странах с активными программами трансплантации органов, является утрата пациентом кровообращения и дыхания. Освещены особенности протоколов донорства после контролируемой и неконтролируемой циркуляторной смерти, донорства после эвтаназии, современные технологии эксплантации и сохранения донорских органов, а также морально-этические проблемы, связанные с контролируемым донорством после циркуляторной смерти.

**Выводы.** Широкое распространение донорства после циркуляторной смерти пациента привело к значительным успехам трансплантации почек, легкого, печени, поджелудочной железы и сердца.

### Ключові слова:

донори, циркуляторна смерть, трансплантація органів.

Патологія. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 248-255

## Відродження концепції та розвиток донорства після циркуляторної смерті людини в еру трансплантації органів

В. О. Туманський, С. І. Воротинцев, Л. М. Туманська

З XX століття паралельно зі стандартами смерті цілісного мозку донора та смерті стовбура головного мозку донора, що застосовуються у трансплантології, практичне відродження отримала концепція донорства після циркуляторної смерті людини.

**Мета роботи** – аналіз відродження концепції донорства після циркуляторної смерті людини та протоколів донорства після її констатації.

В огляді здійснили ретроспективний аналіз відродження, розвитку концепції циркуляторної смерті людини, що широко застосовується в сучасній трансплантології. Встановили, що головним критерієм циркуляторної смерті людини, що ухвалений в усіх країнах з активними програмами трансплантації органів, є втрата пацієнтом кровообігу та дихання. Висвітлені особливості протоколів донорства після контрольованої та неконтрольованої циркуляторної смерті, донорства після евтаназії, сучасні технології експлантації та зберігання донорських органів, а також морально-етичні проблеми, що пов'язані з контрольованим донорством після циркуляторної смерті.

**Висновки.** Поширення донорства після циркуляторної смерті пацієнта призвело до переконливих успіхів трансплантації нирок, легень, печінки, підшлункової залози та серця.

### Key words:

donors, circulatory death, organ transplantation.

Pathologia 2020; 17 (2), 248-255

## Revival of the concept and development of donation after human circulatory death in the era of organ transplantation

V. O. Tumanskyi, S. I. Vorotyntsev, L. M. Tumanska

Since the beginning of the twentieth century, in parallel with the standards of the whole brain death and the brain stem death of a donor used in transplantology, the concept of donation after human circulatory death has received a practical revival.

**Aim:** analysis of the revival of the concept of circulatory death of a person and donor protocols after its ascertaining.

The review analyzes retrospective data on the development of the concept of circulatory death of a person, widely used in modern transplantology. It has been established that the main criteria for human circulatory death, adopted in all countries with active organ transplantation programs, are the patient's loss of blood circulation and breathing. The features of donor protocols after controlled and uncontrolled circulatory death, donation after euthanasia, modern technologies of explantation and preservation of donor organs, as well as moral and ethical problems associated with controlled donation after circulatory death are defined.

**Conclusion.** The widespread donation after the patient's circulatory death led to significant success in transplantation of kidneys, lungs, liver, pancreas and heart.

Начало широкому распространению трансплантации положили первые пересадки органов, предпринятые в 1936–1967 гг., еще до принятия в большинстве стран законов, определяющих смерть человека. В соответствии с хронологией первых трансплантаций органов, приведенной С. Machado [1], в 1936 г. Ю. Ю. Вороной выполнен 6 безуспешных пересадок трупных человеческих почек пациентам с острой почечной недостаточностью, в 1954 г. проведена первая успешная трансплантация почки от идентичного близнеца, в 1955 г. – аллотрансплантация почки от неродственного донора. В 1963 г. выполнена первая трансплантация почек от пациента в коме *dépassé*, первая успешная пересадка трупной почки, первая трансплантация печени человека, а также первая пересадка легких. В 1966 г. проведена первая успешная пересадка поджелудочной железы, в 1967 г. осуществлена первая успешная трансплантация сердца человека.

Исторически значимыми для развития трансплантологии были отчет специального комитета Гарвардской медицинской школы (США) 1968 г., в котором предложена формулировка смерти человека как смерти всего мозга [2], а также принятие в 1981 г. в США закона о единообразном определении смерти [3]. Концепция смерти мозга как смерти человека, рассмотренная в предыдущей публикации [4], с момента легального применения открыла новые возможности для развития трансплантации органов от доноров «с погибшим мозгом, бьющимся сердцем и ИВЛ».

Принципы, регламентирующие трансплантацию органов от живых и умерших доноров, разработаны Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 1991 г. [5], пересмотрены в 1998 г. и рекомендованы для применения во всех странах мира [6]. Однако удельный вес трансплантации органов от живого родственника реципиенту остался незначительным. Например, в России в 2015–2016 гг. он составлял 20,1–21,4 % от общего числа трансплантаций почки [7]. В течение 2017 г. в США зарегистрированы 10 281 случаев посмертного донорства, что на 3,1 % больше, чем 2016 г., на 27 % больше, чем в 2007 г. [8]. В последние годы в мире каждый год выполняют приблизительно 120 000 пересадок органов; тем не менее, по оценкам ВОЗ, это количество трансплантатов удовлетворяет только 10 % годовой потребности в трансплантации во всем мире [9].

Накопленный опыт трансплантологии показал, что при диагностике смерти мозга длительные периоды ожидания между первыми двумя клинико-неврологическими обследованиями, а также дополнительным инструментальным тестированием необратимости смерти всего мозга, негативно влияют на качество донорских органов [10]. Для успешной трансплантации органы должны быть изъяты у донора с сохраненным системным кровообращением и адекватным органным газообменом. Именно эти обстоятельства легли в основу возрождения в большинстве стран с активными программами трансплантации органов концепции циркуляторной смерти человека, которая, наряду с концепцией смерти мозга, в США была закреплена

еще в 1981 г. в законе об унифицированном определении смерти. В 2000 г. Папа Иоанн Павел II заявил: «Что касается параметров, используемых сегодня для установления смерти – будь то «мозговые» или более традиционные «сердечно-дыхательные признаки» – Церковь не принимает технических решений. Она ограничивается обязанностью Евангелия сравнивать данные медицинской науки с христианским пониманием единства человека, выявляя сходства и возможные конфликты, способные поставить под угрозу уважение человеческого достоинства» [11].

Концепция донорства после циркуляторной смерти с 2011 г. принята Всемирной организацией здравоохранения [12]. В соответствии с концепцией циркуляторной смерти, смерть может быть объявлена у пациента без пульса, спонтанного дыхания и без какой-либо спонтанной циркуляции (механическая асистолия), даже если электрическая активность сердца все еще присутствует. Другими словами, электрическая асистолия, то есть неспособность генерировать любое спонтанное сердцебиение или кровообращение, означает механическую асистолию и циркуляторную смерть [13]. Позицию эквивалентности смерти мозга и циркуляторной смерти одобрила в 2016 г. Американская академия неврологов [14]. С этих позиций признается, что и при циркуляторной смерти, и при смерти мозга гибель других систем органов неизбежна без постоянного применения органосохраняющих технологий, поддерживающих перфузию и вентиляцию. Также как доказательство гибели каждой клетки миокарда не обязательно для определения циркуляторной смерти, доказательство гибели каждого нейрона не требуется для признания необратимой утраты всех функций мозга. Но донорство после сердечной смерти – новый протокол, применяемый к пациентам с тяжелыми неврологическими повреждениями, которые не соответствуют критериям смерти мозга.

Таким образом, сегодня в странах, активно развивающих трансплантацию, распространенными и законодательно закрепленными критериями смерти человека являются «смерть всего (целостного) мозга», «смерть ствола мозга» и «циркуляторная смерть» от остановки кровообращения, особенности которой неоднократно обсуждали J. L. Bernat и соавт. в 2010–2018 годах [15].

## Цель работы

Анализ возрождения концепции циркуляторной смерти человека и протоколов донорства после ее констатации.

В донорстве после циркуляторной смерти принято два разных сценария: доноры могут быть «контролируемыми» или «неконтролируемыми». Концепция контролируемой и неконтролируемой циркуляторной смерти изложена в Маастрихтской классификации 1995 г. [16], уточнена Европейской рабочей группой в составе стран зоны Евротрансплант, Великобритании, Франции, Испании [17] и принята VI Международной конференцией по донорству органов после циркуляторной смерти в Париже в 2013 г. [13].

«Контролируемое» донорство после циркуляторной смерти предполагает существование некоторой возможности прогнозировать и планировать предстоящее прекращение кровообращения [13]. После получения предварительного согласия на донорство пациента или согласия семьи безнадежного больного хирургическая поисковая группа мобилизуется в больницу донора, и после готовности хирургической бригады запланировано прекращается жизнеобеспечивающее лечение. Смерть пациента обычно наступает через час (реже – 2 часа) после прекращения лечения, поддерживающего его жизнь. После утраты пульса на магистральной артерии, остановки сердца и дыхания сердечно-легочная реанимация потенциального донора не проводится. Для предотвращения возможности сердечной аутореанимации после остановки сердца следует короткий период «без прикосновения» – «no-touch» (в США – 2 минуты, в Великобритании – 5 минут, в Италии – 20 минут), после которого объявляется смерть донора и незамедлительно начинается восстановление органов умершего [18]. Сердечная аутореанимация в редких случаях была зарегистрирована на 1–7 минуте после неудачной сердечно-легочной реанимации: она непредвиденно возникала при перемещении пациента в операционную или при интенсивном извлечении органов из брюшной полости из-за сжатия сердца [19]. В Шотландии циркуляторная смерть определяется после 5 минут отсутствия сердечно-легочной деятельности не только по отсутствию дыхания и пульса на магистральной артерии, но также по отсутствию электрической активности на электрокардиограмме и отсутствию движений сердца при фокусированной эхокардиографии [20].

«Неконтролируемые доноры» – жертвы тяжелой черепно-мозговой травмы, самоубийства вне больницы, которым реанимацию не проводили, а также пациенты с внезапной остановкой кровообращения и неудачной сердечно-легочной реанимацией вне больницы, которых бригады скорой помощи считают потенциальными донорами и доставляют в специальные центры, чтобы признать их клинически и юридически мертвыми по кардио-респираторным критериям [13]. Для отбора потенциальных доноров среди больных, поступающих в отделения интенсивной терапии после остановки сердца вне больницы, разработаны системы прогнозирования неблагоприятного неврологического исхода [21], показатели которого включают двустороннее отсутствие роговичных и зрачковых рефлексов, двустороннее отсутствие  $N_2O$  волны коротколатентных вызванных соматосенсорных потенциалов, высокие концентрации нейрон-специфической эналазы в крови, неблагоприятные паттерны на электроэнцефалограмме и признаки диффузного гипоксически-ишемического повреждения головного мозга на компьютерной томографии или магнитно-резонансной томографии мозга [22]. При наличии предварительного согласия пациента на донорство или после согласия его семьи (если согласие пациента отсутствует) начинается процедура восстановления органов умершего [23].

Протоколы контролируемого донорства после циркуляторной смерти внедрены в Испании, Фран-

ции, Италии, Великобритании, Нидерландах, США, Канаде, Бельгии, Швейцарии, Австрии, Польше, России, Беларуси, а также в Китае, Австралии и Новой Зеландии [24,25].

Для обеспечения непростой логистики доставки потенциальных доноров и выполнения специализированных, технически сложных процедур по восстановлению органов умерших доноров в США и других странах созданы специальные организации по обеспечению донорскими органами. В 1967 г. в Европе создана некоммерческая организация Евротрансплант, в состав которой входит 8 стран: Германия, Австрия, Люксембург, Нидерланды, Бельгия, Словения, Хорватия, Венгрия. Евротрансплант аккумулирует информацию о потенциальных донорах и реципиентах, о наличии в разных странах донорских органов, а также способствует международному обмену донорскими органами [26]. На территории государств «Евротранспланта» находятся 1601 донорская больница и 72 трансплантационных центра, в которых ежегодно получают до 7000 донорских органов [27].

Контролируемое донорство после циркуляторной смерти подняло немало медицинских, правовых и этических проблем. Прежде всего, при донорстве после циркуляторной смерти потенциальные доноры должны получать комплексную паллиативную помощь, включая седацию и анальгезию, до остановки сердца [28]. То, что при донорстве после циркуляторной смерти после остановки сердца и дыхания сердечно-легочная реанимация донора не проводится и, более того, предусмотрены меры по предотвращению аутореанимации и возобновлению мозгового кровообращения, некоторые авторы [29] называют «процессом отключения от жизни». Считают, что за короткий период «без прикосновения» («no-touch») в течение 2–20 минут наступает смерть головного мозга донора и, таким образом, соблюдается моральное основание для трансплантации. Учитывая короткий период «no-touch», выражающий сомнение, что все доноры после объявления циркуляторной смерти «могут быть мертвыми» во время восстановления органов; что это нарушает принятое в большинстве стран правило мертвого донора, по которому жизненно важные органы могут быть удалены только у умершего пациента, или, другими словами, удаление органов для трансплантации не должно вызывать смерть донора [30]. Для исключения ошибок в диагностике смерти потенциального донора по кардиореспираторным критериям во Франции и Швейцарии циркуляторная смерть определяется при остановке сердца и дыхания, а также после быстрого неврологического подтверждения отсутствия сознания, спонтанной двигательной активности и рефлексов ствола мозга [20]. Высказанные сомнения переросли в международную медицинскую и философскую дискуссию, в которой утверждали, что «необратимое» (irreversible) прекращение функций идентично «постоянному» (permanent) прекращению функций [15,31,32]. В этой дискуссии прозвучало также положение А. McGee, D. Gardiner [33], которое оправдывает действия медицинского персонала при контролируемом донорстве после цир-

куляторной смерти: «Циркуляция прекратилась, мы знаем, что она не будет восстановлена посредством автореанимации, и мы знаем, что реанимация человеческими действиями недопустима: поэтому мы знаем все, что нам нужно знать, чтобы объявить о смерти».

Для максимально быстрого извлечения и сохранения донорских органов для трансплантации при донорстве после циркуляторной смерти предусмотрены непростые протоколы извлечения почек, легких, печени, поджелудочной железы и сердца [18], которые неоднозначно воспринимаются с морально-этических позиций. Для сохранения, оценки и восстановления поврежденных после циркуляторной смерти органов донора применяется экстракорпоральная мембранная оксигенация крови, нормотермическая или гипотермическая региональная перфузия, а также методы обычной и машинной перфузии *ex-situ* [34]. Для сохранения органов донора необходимо раннее канюлирование артериальных и венозных сосудов, которое существенно отличается в зависимости от типа донорства (контролируемое или неконтролируемое), а также от вида органа, извлекаемого для трансплантации [13,20]. Например, канюлирование сосудов донора для брюшной нормотермической региональной перфузии по протоколу контролируемого ДПЦС может быть выполнено через проводники, проложенные в бедренные сосуды до прекращения жизнеобеспечивающей терапии или после объявления смерти донора; по протоколу неконтролируемого донорства, после циркуляторной смерти канюлирование выполняется посмертно в открытой брюшной полости донора после клипирования артериальных сосудов, исходящих из дуги аорты, для предотвращения возобновления мозгового кровообращения [35]. По данным мультицентрового когортного исследования [36], до 80 % врачей в Канаде испытывают дискомфорт, рекомендуя родственникам отключение безнадежного пациента от систем поддержки жизнедеятельности, после чего потенциальный донор быстро возвращается в реанимационное отделение для канюлирования сосудов, выполнения экстракорпоральной мембранной оксигенации или подключения портативных аппаратов искусственного кровообращения в целях восстановления и сохранения донорских органов. Считают, что выполнение срочных и сложных программ эксплантации органов у доноров с запланированной прекращенной жизнью, с этических позиций, является донорской эвтаназией [29].

Особая техника эксплантации сердца и его сохранения для трансплантации вновь подняла проблему соблюдения правила мертвого донора при донорстве после циркуляторной смерти. В практике трансплантации сердца используют 2 основных метода извлечения и сохранения сердца [18]. Первый включает помещение извлеченного сердца в контейнер для транспортировки, в котором кровь, насыщенная кислородом, перфузируется в изолированное сердце, чтобы стимулировать его сокращения. Это позволяет оценивать и транспортировать сердце со значительно меньшими его повреждениями в сравнении с транспортировкой во льду не бьющегося сердца. При втором методе после объявления смерти донора, в

его теле начинается экстракорпоральная мембранная оксигенация, сердце начинает сокращаться в течение нескольких минут, что позволяет провести детальную оценку его функции, оптимизировать их и эксплантировать сердце с меньшими тепловыми ишемическими повреждениями. При этом методе реперфузия крови в теле донора изолирована от сосудов головного мозга и верхних конечностей благодаря хирургическому клипированию артериальных сосудов, выходящих из дуги аорты. Оба метода подвергаются критике, так как они противоречат представлению о смерти как необратимого и постоянного прекращения функции кровообращения, поскольку сердце восстанавливает свои функции, и в некоторых областях тела донора восстанавливается кровообращение [37]. Протокол трансплантации сердца при циркуляторной смерти потенциального донора, примененный в 2019 г. в Бельгии [38], включает предварительное введение периферических веноартериальных канюль для экстракорпоральной мембранной оксигенации, торакоабдоминальную нормотермическую регионарную перфузию с клипированием 3 сосудов дуги аорты для исключения мозгового кровообращения и сердечную реанимацию *in-situ*. Полученные сердца трансплантируют реципиентам, находящимся в соседней операционной.

На концепции циркуляторной смерти основывается донорство после эвтаназии, которая юридически возможна в Нидерландах, Бельгии, Люксембурге и Колумбии [39]. Законы этих стран предусматривают запрос и медико-юридическую регистрацию пациента на эвтаназию с донорством органов [40]. Эвтаназия подразумевает внутривенное введение индуктора комы и миорелаксанта, в результате чего пациент быстро умирает от остановки кровообращения, часто без серьезной ишемии органов. В таких случаях сердечно-легочную реанимацию и многочасовое неврологическое тестирование функций мозга не проводят. Через 5 минут после остановки кровообращения у умершего пациента, предварительно заявившего о желании стать донором органов, бригада хирургов извлекает пожертвованные органы, которые Евротрансплант, признающий донорство после эвтаназии [41], распределяет между предварительно зарегистрированными и иммунологически совместимыми реципиентами [39].

Первый анализ применения органов от умерших после циркуляторной смерти показал приемлемые результаты функционирования трансплантированных почек и легких, но худшую выживаемость трансплантированной печени [42]. Однако разработка новых стратегий сохранения органов доноров, умерших от «контролируемой» и «неконтролируемой» циркуляторной смерти, привела к значительным успехам трансплантации не только почек, легкого и печени, но и сердца [43–47].

В настоящее время доноры после циркуляторной смерти составляют 24 % доноров в Испании [48]. В 2017 г. в Великобритании 40 % всех органов получены от умерших доноров с поражением мозга при контролируемом донорстве после циркуляторной смерти [18]. В США число доноров после циркуляторной

смерти с 2003 по 2018 г. возросло с 2 % до 12 % [49]. В Австралии уровень донорства органов после циркуляторной смерти с 2000 до 2014 г. возрос от 200 до 379 доноров в год [50].

## Заклучение

С начала XX столетия параллельно с применяющимися в трансплантологии стандартами смерти целостного мозга донора и смерти ствола головного мозга донора практическое возрождение получила концепция донорства после циркуляторной смерти человека, которая во многих странах заняла лидирующую позицию в восполнении дефицита донорских органов. Концепция донорства после циркуляторной смерти, клинически определяемой по утрате пациентом кровообращения и дыхания, с 2011 г. принята Всемирной организацией здравоохранения и сегодня принята всеми странами с активными программами трансплантации органов. Разработка новых протоколов сохранения органов доноров, умерших от «контролируемой» и «неконтролируемой» циркуляторной смерти, привела к значительным успехам трансплантации почек, легкого, печени, поджелудочной железы и сердца. Контролируемое донорство после циркуляторной смерти подняло немало медицинских, правовых и этических проблем, которые требуют неотложного решения.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.04.2020

Після доопрацювання / Revised: 06.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 25.05.2020

## Сведения об авторах:

Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, Украина, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Воротынцев С. И., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. анестезиологии и интенсивной терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Туманская Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Відомості про авторів:

Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет України, заслужений діяч науки і техніки України.

Воротинцев С. І., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Туманська Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Vice-Rector for Research, Zaporizhzhia State Medical University, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine.

Vorotyntsev S. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tumanska L. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Список литературы

- [1] Machado C. The First Organ Transplant from a Brain-Dead Donor. *Brain Death*. New York : Springer, 2007. URL : [https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6_2)
- [2] Beecher H. K. A definition of irreversible coma: Report of the ad hoc committee of the Harvard medical school to examine the definition of brain death. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1968. Vol. 205, Iss. 6, P. 337-340. <https://doi.org/10.1001/jama.1968.03140320031009>
- [3] Guidelines for the determination of death. Report of the medical consultants on the diagnosis of death to the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. *JAMA*. 1981. Vol. 246, Iss. 19, P. 2184-2186.
- [4] Туманский В. А., Туманская Л. М. Клинико-патоморфологические параметры смерти мозга: от истоков концепции до ее применения при трансплантации органов. *Патология*. 2020. Т. 17, № 1. С. 102-113. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203850>
- [5] World Health Organization 15.03.1991 № A 44/11. *International Digest of Health Legislation*. 1991. Vol. 42, Iss. 3. P. 393-394.
- [6] World Health Organization 15.03.1991 № A 44/11. *International Digest of Health Legislation*. 1998. Vol. 49. 1. P. 1-296. URL : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63933>
- [7] Готьє С. В., Хомяков С. М. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2016 году IX сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017. Т. 19, № 2. P. 6-26. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-2-6-26>
- [8] Deceased organ donors in US exceeded 10 thousand for first time in 2017 // Organ Procurement and Transplantation Network / U.S. Department of Health & Human Services. URL : <https://optn.transplant.hrsa.gov/news/deceased-organ-donors-in-us-exceeded-10-thousand-for-first-time-in-2017/>
- [9] Manyalich M., Nelson H., Delmonico F. L. The need and opportunity for donation after circulatory death worldwide. *Current opinion in organ transplantation*. 2018. Vol. 23, Iss. 1. P. 136-141. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000486>
- [10] Variability of Brain Death Policies in the United States / D. M. Greer, H. H. Wang, J. D. Robinson et al. *JAMA neurology*. 2016. Vol. 73, Iss. 2. P. 213-218. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.3943>
- [11] John Paul, Pope. Address to the 18th International Congress of the Transplantation Society. 2000, August 29. URL : [http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/en/speeches/2000/jul-sep/documents/hf\\_jp-ii\\_spe\\_20000829\\_transplants.html](http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/en/speeches/2000/jul-sep/documents/hf_jp-ii_spe_20000829_transplants.html).
- [12] Third WHO Global Consultation on Organ Donation and Transplantation: striving to achieve self-sufficiency, March 23-25, 2010, Madrid, Spain / WHO ; Transplantation Society (TTS) ; Organización Nacional de Trasplantes (ONT). *Transplantation*. 2011. Vol. 91 Suppl. 11, P. S27-S28. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182190b29>
- [13] New classification of donation after circulatory death donors definitions and terminology / M. Thuong, A. Ruiz, P. Evrard et al. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 2016. Vol. 29, Iss. 7. P. 749-759. <https://doi.org/10.1111/tri.12776>
- [14] Organ support after death by neurologic criteria: Results of a survey of US neurologists / A. Lewis, N. Adams, P. Varelas et al. *Neurology*. 2016. Vol. 87, Iss. 8. P. 827-834. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003008>
- [15] Bernat J. L. Conceptual Issues in DCDD Donor Death Determination. *The Hastings Center report*. 2018. Vol. 48, Suppl. 4. P. S26-S28. <https://doi.org/10.1002/hast.948>
- [16] Kootstra G., Daemen J. H., Oomen A. P. Categories of non-heart-beating donors. *Transplantation proceedings*, 1995. Vol. 27, Iss. 5. P. 2893-2894.
- [17] Categories of donation after cardiocirculatory death / O. Detry, H. Le Dinh, T. Noterdaeme et al. *Transplantation proceedings*. 2012. Vol. 44, Iss. 5. P. 1189-1195. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.05.001>
- [18] Gardiner D., McGee A. Death, permanence and current practice in donation after circulatory death. *QJM : An International Journal of Medicine*, 2017. Vol. 110, Iss. 4. P. 199-201. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcw184>



- [19] Hornby K., Hornby L., Shemie S. D. A systematic review of autoresuscitation after cardiac arrest. *Critical care medicine*. 2010. Vol. 38, Iss. 5. P. 1246-1253. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181d8caaa>
- [20] Ortega-Deballon I., Hornby L., Shemie S. D. Protocols for uncontrolled donation after circulatory death: a systematic review of international guidelines, practices and transplant outcomes. *Critical care (London, England)*. 2015. Vol. 19, Iss. 1. P. 268. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-0985-7>
- [21] Sandroni C., D'Arrigo S., Nolan, J. P. Prognostication after cardiac arrest. *Critical care (London, England)*. 2018. Vol. 22, Iss. 1. P. 150. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2060-7>
- [22] European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine Guidelines for Post-resuscitation Care 2015: Section 5 of the European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015 / J. P. Nolan, J. Soar, A. Cariou et al. *Resuscitation*. 2015. Vol. 95. P. 202-222. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2015.07.018>
- [23] Sandoval E., Fernández-Cisneros A., Boada M. DCD lungs: is it all the same?. *Annals of cardiothoracic surgery*. 2020. Vol. 9, Iss. 1. P. 54-55. <https://doi.org/10.21037/acs.2019.11.07>
- [24] Blackstock M. J., Ray D. C. Organ donation after circulatory death: an update. *European journal of emergency medicine : official journal of the European Society for Emergency Medicine*. 2014. Vol. 21, Iss. 5. P. 324-329. <https://doi.org/10.1097/MEJ.000000000000082>
- [25] Selected Legal Aspects of Donation After Circulatory Death in Poland / E. M. Guzik-Makaruk, M. Olesiak-Okomska, J. Matuszkiewicz-Rowińska, J. Malyszko. *Annals of transplantation*, 2019. Vol. 24, P. 93-99. <https://doi.org/10.12659/AOT.912567>
- [26] Состояние международного правового регулирования посмертного донорства: на пути к унификации (обзор) / С. А. Слипченко, А. Р. Шишка, С. Б. Булеца и др. *Georgian Medical News*. 2018. Iss. 10. P. 175-179.
- [27] Eurotransplant region / Eurotransplant International Foundation // Eurotransplant. URL : <https://www.eurotransplant.org/about-eurotransplant/region/>
- [28] Policy Statement Ethical Controversies in Organ Donation After Circulatory Death / A. H. M. Antommaria, M. E. Fallat, A. L. Katz et al. *Pediatrics*. 2013. Vol. 131, Iss. 5. P. 1021-1026. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-0672>
- [29] Резник О. Н., Скворцов А. Е., Попова О. В. Этическая проблематика донорства органов при необратимой остановке сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018. Т. 20, № 3. С. 116-125. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-3-116-125>
- [30] Nair-Collins M., Green S. R., Sutin A. R. Abandoning the dead donor rule? A national survey of public views on death and organ donation. *Journal of medical ethics*. 2015. Vol. 41, Iss. 4. P. 297-302. <https://doi.org/10.1136/medethics-2014-102229>
- [31] Bernat J. L. How the distinction between «irreversible» and «permanent» illuminates circulatory-respiratory death determination. *The Journal of medicine and philosophy*. 2010. Vol. 35, Iss. 3. P. 242-255. <https://doi.org/10.1093/jmp/jhq018>
- [32] International guideline development for the determination of death / S. D. Shemie, L. Hornby, A. Baker et al. *Intensive care medicine*. 2014. Vol. 40, Iss. 6. P. 788-797. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3242-7>
- [33] McGee A., Gardiner D. Donation After the Circulatory Determination of Death: Some Responses to Recent Criticisms. *The Journal of medicine and philosophy*. 2018. Vol. 43, Iss. 2. P. 211-240. <https://doi.org/10.1093/jmp/jhx037>
- [34] Organ donation after circulatory death: current status and future potential / M. Smith, B. Dominguez-Gil, D. M. Greer et al. *Intensive care medicine*. 2019. Vol. 45, Iss. 3. P. 310-321. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05533-0>
- [35] Hesseimer J. A., Fondevila C. Normothermic Regional Perfusion in Solid Organ Transplantation. *Advances in Extracorporeal Membrane Oxygenation*, 2019. Vol. 3. IntechOpen. URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.84771>
- [36] Mortality associated with withdrawal of life-sustaining therapy for patients with severe traumatic brain injury: A Canadian multicentre cohort study / A. F. Turgeon, F. Lauzier, J. F. Simard et al. *CMAJ*. 2011. Vol. 183, Iss. 14. P. 1581-1588. <https://doi.org/10.1503/cmaj.101786>
- [37] Tibballs J., Bhatia N. Transplantation of the heart after circulatory death of the donor: time for a change in law?. *The Medical journal of Australia*. 2015. Vol. 203, Iss. 6. P. 268-70.e1. <https://doi.org/10.5694/mja15.00295>
- [38] Successful clinical transplantation of hearts donated after circulatory death using normothermic regional perfusion / V. Tchana-Sato, D. Ledoux, O. Detry et al. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 2019. Vol. 38, Iss. 6. P. 593-598. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.02.015>
- [39] Organ Donation After Euthanasia: A Dutch Practical Manual / J. Bollen, W. de Jongh, J. Hagenaars et al. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2016. Vol. 16, Iss. 7. P. 1967-1972. <https://doi.org/10.1111/ajt.13746>
- [40] Euthanasia through living organ donation: Ethical, legal, and medical challenges / J. Bollen, D. Shaw, G. de Wert et al. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 2019. Vol. 38, Iss. 2. P. 111-113. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.07.014>
- [41] Evrard P. Belgian modified classification of Maastricht for donors after circulatory death. *Transplantation proceedings*. 2014. Vol. 46, Iss. 9. P. 3138-3142. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.09.169>
- [42] Neyrinck A., Van Raemdonck D., Monbaliu D. Donation after circulatory death: current status. *Current opinion in anaesthesiology*. 2013. Vol. 26, Iss. 3. P. 382-390. <https://doi.org/10.1097/ACO.0b013e328360dc87>
- [43] Summers D. M., Pettigrew, G. J. Kidney transplantation following uncontrolled donation after circulatory death. *Current opinion in organ transplantation*. 2020. Vol. 25, Iss. 2. P. 144-150. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000742>
- [44] Dhital K. K., Chew H. C., Macdonald P. S. Donation after circulatory death heart transplantation. *Current opinion in organ transplantation*. 2017. Vol. 22, Iss. 3. P. 189-197. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000419>
- [45] Sandoval E., Fernández-Cisneros A., Boada M. DCD lungs: is it all the same?. *Annals of cardiothoracic surgery*. 2020. Vol. 9, Iss. 1. P. 54-55. <https://doi.org/10.21037/acs.2019.11.07>
- [46] Ceulemans L. J., Inci I., Van Raemdonck D. Lung donation after circulatory death. *Current opinion in organ transplantation*. 2019. Vol. 24, Iss. 3. P. 288-296. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000627>
- [47] Favorable Outcomes After Liver Transplantation With Normothermic Regional Perfusion From Donors After Circulatory Death: A Single-center Experience / P. Ruiz, M. Gastaca, F. J. Bustamante et al. *Transplantation*. 2019. Vol. 103, Iss. 5. P. 938-943. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002391>
- [48] Donation after circulatory death and its expansion in Spain / E. Miñambres, J. J. Rubio, E. Coll, B. Domínguez-Gil. *Current opinion in organ transplantation*. 2018. Vol. 23, Iss. 1. P. 120-129. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000480>
- [49] Oderberg D. S. Death, unity, and the brain. *Theoretical medicine and bioethics*. 2019. Vol. 40, Iss. 5. P. 359-379. <https://doi.org/10.1007/s11017-019-09479-8>
- [50] Untapped potential in Australian hospitals for organ donation after circulatory death / S. S. Rakhra, H. I. Opdam, L. Gladkis et al. *The Medical Journal of Australia*. 2017. Vol. 207, Iss. 7. P. 294-301. <https://doi.org/10.5694/mja16.01405>

## References

- [1] Machado C. (2007). The First Organ Transplant from a Brain-Dead Donor. In: *Brain Death*. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6_2)
- [2] Beecher, H. K. (1968). A definition of irreversible coma: Report of the ad hoc committee of the Harvard medical school to examine the definition of brain death. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 205(6), 337-340. <https://doi.org/10.1001/jama.1968.03140320031009>
- [3] Guidelines for the determination of death. Report of the medical consultants on the diagnosis of death to the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. (1981). *JAMA*, 246(19), 2184-2186.
- [4] Tumanskyi, V. O., & Tumanska, L. M. (2020). Kliniko-patomorfologicheskie parametry smerti mozga: ot istokov kontseptsii do ee primeneniya pri transplantatsii organov [Clinical and pathomorphological parameters of brain death: from the origins of the concept to its use in organ transplantation]. *Pathologia*, 17(1), 102-113. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203850>
- [5] World Health Organization. (1991): *International Digest of Health Legislation*. World Health Organization – Vol. 42(3), 393-394.
- [6] World Health Organization. (1998): *Health legislation at the dawn of the 21st century*. World Health Organization – Vol. 49(Special issue). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63933>
- [7] Gautier, S. V., & Khomyakov, S. M. (2017). Донорство i transplantatsiya organov v Rossiiskoi Federatsii v 2016 godu IX soobshchenie registra Rossiiskogo transplantologicheskogo obshchestva [Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2016 9th report of the National Registry]. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*, 19(2), P. 6-26. [in Russian]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-2-6-26>

- [8] U.S. Department of Health & Human Services (2018, January 8). Deceased organ donors in US exceeded 10 thousand for first time in 2017. *Organ Procurement and Transplantation Network*. <https://optn.transplant.hrsa.gov/news/deceased-organ-donors-in-us-exceeded-10-thousand-for-first-time-in-2017/>
- [9] Manyalich, M., Nelson, H., & Delmonico, F. L. (2018). The need and opportunity for donation after circulatory death worldwide. *Current opinion in organ transplantation*, 23(1), 136-141. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000486>
- [10] Greer, D. M., Wang, H. H., Robinson, J. D., Varelas, P. N., Henderson, G. V., & Wijdicks, E. F. (2016). Variability of Brain Death Policies in the United States. *JAMA neurology*, 73(2), 213-218. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.3943>
- [11] John Paul, Pope. (2000, August 29). Address to the 18th International Congress of the Transplantation Society. [http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/en/speeches/2000/jul-sep/documents/hf\\_jp-ii\\_spe\\_20000829\\_transplants.html](http://w2.vatican.va/content/john-paul-ii/en/speeches/2000/jul-sep/documents/hf_jp-ii_spe_20000829_transplants.html)
- [12] WHO, Transplantation Society (TTS), & Organización Nacional de Transplantes (ONT) (2011). Third WHO Global Consultation on Organ Donation and Transplantation: striving to achieve self-sufficiency, March 23-25, 2010, Madrid, Spain. *Transplantation*, 91 Suppl 11, S27-S28. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182190b29>
- [13] Thuong, M., Ruiz, A., Evrard, P., Kuiper, M., Boffa, C., Akhtar, M. Z., Neuberger, J., & Ploeg, R. (2016). New classification of donation after circulatory death donors definitions and terminology. *Transplant international: official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 29(7), 749-759. <https://doi.org/10.1111/tri.12776>
- [14] Lewis, A., Adams, N., Varelas, P., Greer, D., & Caplan, A. (2016). Organ support after death by neurologic criteria: Results of a survey of US neurologists. *Neurology*, 87(8), 827-834. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003008>
- [15] Bernat J. L. (2018). Conceptual Issues in DCDD Donor Death Determination. *The Hastings Center report*, 48 Suppl 4, S26-S28. <https://doi.org/10.1002/hast.948>
- [16] Kootstra, G., Daemen, J. H., & Oomen, A. P. (1995). Categories of non-heart-beating donors. *Transplantation proceedings*, 27(5), 2893-2894.
- [17] Detry, O., Le Dinh, H., Noterdaeme, T., De Roover, A., Honoré, P., Squifflet, J. P., & Meurisse, M. (2012). Categories of donation after cardiocirculatory death. *Transplantation proceedings*, 44(5), 1189-1195. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.05.001>
- [18] Gardiner, D., & McGee, A. (2017). Death, permanence and current practice in donation after circulatory death. *QJM: An International Journal of Medicine*, 110(4), 199-201. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcw184>
- [19] Hornby, K., Hornby, L., & Shemie, S. D. (2010). A systematic review of autoresuscitation after cardiac arrest. *Critical care medicine*, 38(5), 1246-1253. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181d8caaa>
- [20] Ortega-Deballon, I., Hornby, L., & Shemie, S. D. (2015). Protocols for uncontrolled donation after circulatory death: a systematic review of international guidelines, practices and transplant outcomes. *Critical care (London, England)*, 19(1), 268. <https://doi.org/10.1186/s13054-015-0985-7>
- [21] Sandroni, C., D'Arrigo, S., & Nolan, J. P. (2018). Prognostication after cardiac arrest. *Critical care (London, England)*, 22(1), 150. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2060-7>
- [22] Nolan, J. P., Soar, J., Cariou, A., Cronberg, T., Moulart, V. R., Deakin, C. D., Bottiger, B. W., Friberg, H., Sunde, K., & Sandroni, C. (2015). European Resuscitation Council and European Society of Intensive Care Medicine Guidelines for Post-resuscitation Care 2015: Section 5 of the European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015. *Resuscitation*, 95, 202-222. <https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2015.07.018>
- [23] Sandoval, E., Fernández-Cisneros, A., & Boada, M. (2020). DCD lungs: is it all the same?. *Annals of cardiothoracic surgery*, 9(1), 54-55. <https://doi.org/10.21037/acs.2019.11.07>
- [24] Blackstock, M. J., & Ray, D. C. (2014). Organ donation after circulatory death: an update. *European journal of emergency medicine: official journal of the European Society for Emergency Medicine*, 21(5), 324-329. <https://doi.org/10.1097/MEJ.0000000000000082>
- [25] Guzik-Makaruk, E. M., Olesiuk-Okomska, M., Matuszkiewicz-Rońska, J., & Malyszko, J. (2019). Selected Legal Aspects of Donation After Circulatory Death in Poland. *Annals of transplantation*, 24, 93-99. <https://doi.org/10.12659/AOT.912567>
- [26] Slipchenko, S., Shyshka, O., Buletsa, S., Sinegubov, O., & Hrynko, R. (2018). Sostoyanie mezhdunarodnogo pravovogo regulirovaniya posmertnogo donorstva: na puti k unifikatsii (obzor) [The state of international legal regulation of cadaveric donation: on the path to unification (review)]. *Georgian Medical News*, (10), 175-179.
- [27] Eurotransplant International Foundation. Eurotransplant region. *Eurotransplant*. <https://www.eurotransplant.org/about-eurotransplant/region/>
- [28] Antommaria, A. H. M., Fallat, M. E., Katz, A. L., Mercurio, M. R., Moon, M. R., Okun, A. L., Webb, S. A., & Weise, K. L. (2013). Policy Statement Ethical Controversies in Organ Donation After Circulatory Death. *Pediatrics*, 131(5), 1021-1026. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-0672>
- [29] Reznik O. N., Skvortcov A. E., & Popova O. V. (2018). Ethical issues of organ donation after cardiac death. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*, 20(3), 116-125. [in Russian]. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-3-116-125>
- [30] Nair-Collins, M., Green, S. R., & Sutin, A. R. (2015). Abandoning the dead donor rule? A national survey of public views on death and organ donation. *Journal of medical ethics*, 41(4), 297-302. <https://doi.org/10.1136/medethics-2014-102229>
- [31] Bernat J. L. (2010). How the distinction between "irreversible" and "permanent" illuminates circulatory-respiratory death determination. *The Journal of medicine and philosophy*, 35(3), 242-255. <https://doi.org/10.1093/jmp/jhq018>
- [32] Shemie, S. D., Hornby, L., Baker, A., Teitelbaum, J., Torrance, S., Young, K., Capron, A. M., Bernat, J. L., Noel, L., & The International Guidelines for Determination of Death phase 1 participants, in collaboration with the World Health Organization (2014). International guideline development for the determination of death. *Intensive care medicine*, 40(6), 788-797. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3242-7>
- [33] McGee, A., & Gardiner, D. (2018). Donation After the Circulatory Determination of Death: Some Responses to Recent Criticisms. *The Journal of medicine and philosophy*, 43(2), 211-240. <https://doi.org/10.1093/jmp/jhx037>
- [34] Smith, M., Dominguez-Gil, B., Greer, D. M., Manara, A. R., & Souther, M. J. (2019). Organ donation after circulatory death: current status and future potential. *Intensive care medicine*, 45(3), 310-321. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05533-0>
- [35] Hessheimer, J. A., & Fondevila, C. (2019). Normothermic Regional Perfusion in Solid Organ Transplantation. In *Advances in Extracorporeal Membrane Oxygenation – Volume 3*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84771>
- [36] Turgeon, A. F., Lauzier, F., Simard, J. F., Scales, D. C., Burns, K. E. A., Moore, L., ... Fergusson, D. A. (2011). Mortality associated with withdrawal of life-sustaining therapy for patients with severe traumatic brain injury: A Canadian multicentre cohort study. *CMAJ*, 183(14), 1581-1588. <https://doi.org/10.1503/cmaj.101786>
- [37] Tibballs, J., & Bhatia, N. (2015). Transplantation of the heart after circulatory death of the donor: time for a change in law?. *The Medical journal of Australia*, 203(6), 268-70.e1. <https://doi.org/10.5694/mja15.00295>
- [38] Tchana-Sato, V., Ledoux, D., Detry, O., Hans, G., Ancion, A., D'Orto, V., Massion, P. B., Amabili, P., Bruls, S., Lavigne, J. P., Monard, J., Delbouille, M. H., Sakalihan, N., & Defraigne, J. O. (2019). Successful clinical transplantation of hearts donated after circulatory death using normothermic regional perfusion. *The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 38(6), 593-598. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.02.015>
- [39] Bollen, J., de Jongh, W., Hagenaaers, J., van Dijk, G., Ten Hoopen, R., Ysebaert, D., IJzermans, J., van Heurn, E., & van Mook, W. (2016). Organ Donation After Euthanasia: A Dutch Practical Manual. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 16(7), 1967-1972. <https://doi.org/10.1111/ajt.13746>
- [40] Bollen, J., Shaw, D., de Wert, G., Ten Hoopen, R., Ysebaert, D., van Heurn, E., & van Mook, W. (2019). Euthanasia through living organ donation: Ethical, legal, and medical challenges. *The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 38(2), 111-113. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.07.014>
- [41] Evrard, P., & Belgian Working Group on DCD National Protocol (2014). Belgian modified classification of Maastricht for donors after circulatory death. *Transplantation proceedings*, 46(9), 3138-3142. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.09.169>
- [42] Neyrinck, A., Van Raemdonck, D., & Monbaliu, D. (2013). Donation after circulatory death: current status. *Current opinion in anaesthesiology*, 26(3), 382-390. <https://doi.org/10.1097/ACO.0b013e328360dc87>
- [43] Summers, D. M., & Pettigrew, G. J. (2020). Kidney transplantation following uncontrolled donation after circulatory death. *Current opinion in organ transplantation*, 25(2), 144-150. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000742>

- [44] Dhital, K. K., Chew, H. C., & Macdonald, P. S. (2017). Donation after circulatory death heart transplantation. *Current opinion in organ transplantation*, 22(3), 189-197. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000419>
- [45] Sandoval, E., Fernández-Cisneros, A., & Boada, M. (2020). DCD lungs: is it all the same?. *Annals of cardiothoracic surgery*, 9(1), 54-55. <https://doi.org/10.21037/acs.2019.11.07>
- [46] Ceulemans, L. J., Inci, I., & Van Raemdonck, D. (2019). Lung donation after circulatory death. *Current opinion in organ transplantation*, 24(3), 288-296. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000627>
- [47] Ruiz, P., Gastaca, M., Bustamante, F. J., Ventoso, A., Palomares, I., Prieto, M., Fernández, J. R., Salvador, P., Pijoan, J. I., & Valdivieso, A. (2019). Favorable Outcomes After Liver Transplantation With Normothermic Regional Perfusion From Donors After Circulatory Death: A Single-center Experience. *Transplantation*, 103(5), 938-943. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002391>
- [48] Miñambres, E., Rubio, J. J., Coll, E., & Domínguez-Gil, B. (2018). Donation after circulatory death and its expansion in Spain. *Current opinion in organ transplantation*, 23(1), 120-129. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000480>
- [49] Oderberg D. S. (2019). Death, unity, and the brain. *Theoretical medicine and bioethics*, 40(5), 359-379. <https://doi.org/10.1007/s11017-019-09479-8>
- [50] Rakhra, S. S., Opdam, H. I., Gladkis, L., Arcia, B., Fink, M. A., Kanelis, J., Macdonald, P. S., Snell, G. I., & Pilcher, D. V. (2017). Untapped potential in Australian hospitals for organ donation after circulatory death. *The Medical journal of Australia*, 207(7), 294-301. <https://doi.org/10.5694/mja16.01405>

# Патофізіологічні механізми прогресування та фатальних ускладнень коронавірусної хвороби (COVID-19) у пацієнтів із цукровим діабетом

Т. О. Брюханова \*<sup>A,C,D,E</sup>, А. Л. Загайко <sup>A,E,F</sup>, Д. В. Литкін <sup>B,C</sup>

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

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

**Ключові слова:**  
коронавірусна хвороба, цукровий діабет, ангіотензин-перетворювальний фермент-2, цитокіни.

**Патологія. 2020.**  
**Т. 17, № 2(49).**  
**С. 256-263**

\*E-mail:  
tatianna.briukhanova@gmail.com

Одна з найгостріших медико-соціальних проблем – пандемія коронавірусної хвороби (COVID-19). Відомо, що обтяження перебігу та розвиток важких ускладнень, як-от гострого респіраторного дистрес-синдрому, найчастіше асоційоване з коморбідним станом і віком пацієнтів (старші за 50 років).

Цукровий діабет – найпоширеніше ендокринне захворювання, результати клініко-епідеміологічних досліджень підтверджують, що ця патологія – фактор високого ризику важкого перебігу, прогресування та смертності в пацієнтів із COVID-19.

**Мета роботи** – аналіз відомостей наукової літератури щодо передбачуваних патофізіологічних механізмів асоціації цукрового діабету та коронавірусної хвороби.

Висвітлена роль змін експресії ангіотензин-перетворювального ферменту-2, який визначено як функціональну мішень на поверхні клітин для проникнення SARS-CoV-2. Проаналізували результати експериментальних досліджень щодо впливу препаратів, які включені у клінічні протоколи лікування діабету (інсулін, аналоги глюкагоноподібного пептиду-1, тiazолідиндіони, інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту, блокатори рецепторів ангіотензину-2, статини) на активність ферменту.

Узагальнили відомості щодо патогенезу порушень імунологічного статусу, які можуть суттєво впливати на перебіг COVID-19, у пацієнтів із цукровим діабетом: формування пізнього гіперзапального спалаху та синдрому «цитокінового шторму», – що є предикторами серйозних ускладнень, як-от гострого респіраторного дистрес-синдрому. Проаналізували результати ретроспективних клінічних досліджень щодо перебігу COVID-19 у пацієнтів із цукровим діабетом, в яких немає інших супутніх захворювань.

**Висновки.** Наведені відомості обґрунтовують необхідність наступних клінічних досліджень для об'єктивного оцінювання потенційної користі та ризику застосування лікарських засобів, що призначаються пацієнтам із цукровим діабетом і COVID-19, для перегляду схем терапії в разі виявлення їхнього негативного впливу на перебіг захворювання. Дані, що наведені в огляді, вказують на високий ризик розвитку та несприятливого прогнозу інфекції SARS-CoV-2 в пацієнтів, які мають цукровий діабет.

**Key words:**  
SARS Coronavirus, diabetes mellitus, angiotensin-converting enzyme-2, cytokine.

**Pathologia**  
**2020; 17 (2), 256-263**

## Pathophysiological mechanisms of coronavirus disease (COVID-19) progression and fatal complications in patients with diabetes

T. O. Briukhanova, A. L. Zagayko, D. V. Lytkin

Pandemic of the coronavirus disease (COVID-19) is still one of the most acute medical and social problem in the world. It's well known that development of severe complications, including acute respiratory distress syndrome, is most often associated with comorbid condition and patients age (category over 50 years).

Diabetes mellitus is the most common endocrine disease, clinical and epidemiological trials confirm it's a high risk factor for progression and mortality in patients with COVID-19.

**The aim** of the work was to analyze the data of the scientific literature on the suspected pathophysiological mechanisms between diabetes mellitus and coronavirus disease association.

The article highlights role of angiotensin-converting enzyme-2 expression changes, which is defined as a functional target on the cell surface for SARS-CoV-2 penetration. The review analyzes the results of experimental studies about effects of medicines included in diabetes clinical protocols (insulin, glucagon like peptide-1 analogues, thiazolidinediones derivatives, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin-2 receptor blockers, statins) on ACE-2 activity.

Immunological disorders in diabetes mellitus patients, may significantly affect the COVID-19 state, in particular, due late hyperinflammatory condition and cytokine storm syndrome formation, which are predictors of serious complications, including acute respiratory distress syndrome. The results of the retrospective clinical study that involves people with COVID-19 and diabetes mellitus who don't have other comorbidities were analyzed.

**Conclusions.** The data presented in current review necessitate further clinical trials for objective assessment of the potential benefits and risks of medicines used in patients with diabetes under COVID-19 and for treatment regimens revision in case of adverse effect on disease progression and state. The review data indicate a high risk of unfavorable prognosis of SARS-CoV-2 infection in patients with diabetes mellitus.

## Патофизиологические механизмы прогрессирования и фатальных осложнений коронавирусной болезни (COVID-19) у пациентов с сахарным диабетом

Т. А. Брюханова, А. Л. Загайко, Д. В. Лыткин

Одна из наиболее острых медико-социальных проблем – пандемия коронавирусной болезни (COVID-19). Известно, что осложненное течение и развитие серьезных осложнений, в частности острого респираторного дистресс-синдрома, чаще всего ассоциировано с коморбидным состоянием и возрастом пациентов (старше 50 лет). Сахарный диабет – наиболее распространенное эндокринное заболевание, и данные клинико-эпидемиологических исследований подтверждают, что патология является фактором высокого риска тяжелого течения, прогрессирования и смертности у пациентов с COVID-19.

**Цель работы** – анализ данных научной литературы относительно предполагаемых патофизиологических механизмов ассоциации сахарного диабета и коронавирусной болезни.

Освещена роль изменений экспрессии ангиотензин-превращающего фермента-2, который определен как функциональная мишень на поверхности клеток для проникновения SARS-CoV-2, проанализированы результаты экспериментальных исследований влияния препаратов, входящих в клинические протоколы лечения диабета (инсулин, аналоги глюкагоноподобного пептида-1, тиазолидинионы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы рецепторов ангиотензина 2, статины) на активность фермента. Обобщены данные о патогенезе нарушений иммунологического статуса, которые могут существенно влиять на течение COVID-19, у пациентов с сахарным диабетом: формирование позднего гипертрофического состояния и синдрома «цитокинового шторма», – которые являются предикторами серьезных осложнений, в том числе острого респираторного дистресс-синдрома. Проанализированы результаты ретроспективного клинического исследования о течении COVID-19 у пациентов с сахарным диабетом, у которых отсутствуют другие сопутствующие заболевания.

**Выводы.** Приведенные в обзоре данные обуславливают необходимость проведения клинических исследований для объективной оценки потенциальной пользы и риска лекарственных средств, применяемых у пациентов с сахарным диабетом при COVID-19, для пересмотра схем терапии в случае обнаружения их негативного влияния на течение заболевания. Данные свидетельствуют о высоком риске развития и неблагоприятного прогноза инфекции SARS-CoV-2 у пациентов, имеющих сахарный диабет.

**Ключевые слова:** коронавирусная болезнь, сахарный диабет, ангиотензин-превращающий фермент-2, цитокины.

**Патология. 2020. Т. 17, № 2(49). С. 256-263**

У 2020 р. однією з найгостріших медико-соціальних проблем світового масштабу стала коронавірусна хвороба (COVID-19), що викликана новим РНК-вмісним бета-коронавірусом (SARS-CoV-2). Швидке поширення нового захворювання, перший випадок якого зафіксований у м. Ухань (КНР) 31 грудня 2019 р., призвело до того, що 11 березня 2020 р. генеральний директор Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) Тедрос Аданом Гебреїсус оголосив пандемію COVID-19 [1,3,4].

Станом на 15 червня 2020 р. у світі зафіксовано 8 066 839 підтверджених випадків, із них 437 296 пацієнтів померли (в Україні офіційно підтверджені 31 810 випадків COVID-19, 901 летальний випадок) [2].

Темпи поширення цього захворювання у світі спричинені низкою факторів, що зумовлені відмінностями державних систем охорони здоров'я в різних країнах, характером карантинних та обмежувальних заходів, раннім чи більш пізнім закриттям кордонів країни, можливостями щодо здійснення лабораторних та інструментальних досліджень для підтвердження діагнозу тощо [4]. Але узагальнена структура даних щодо розвитку важких або несумісних із життям ускладнень у пацієнтів із підтвердженим діагнозом COVID-19 – доволі однотипна в різних країнах [4–5].

Аналіз відомостей наукової літератури показує: розвиток важких ускладнень був здебільшого асоційований із наявністю супутніх (часто – хронічних) захворювань і віком пацієнтів (група особливо високого ризику – пацієнти віком понад 50–55 років) [3,6,7].

Правильне розуміння закономірностей, що призводять до швидшого поширення, прогресування та обтяження перебігу COVID-19, – надзвичайно важли-

вий крок для стримування пандемії та нормалізації епідеміологічної ситуації. Крім того, перспективним є дослідження біохімічних механізмів впливу препаратів для лікування основного захворювання на різні ланки патогенезу коронавірусної хвороби, зважаючи на відсутність лікарських засобів із доведеною ефективністю та сприятливим профілем безпеки для лікування COVID-19 [3,6–8].

Зрозуміло, першочергова роль у прогресуванні й обтяженні інфекції, яка викликана SARS-CoV-2, належить захворюванням, що поширені в популяції [4,9,10].

Цукровий діабет (ЦД) – найпоширеніше захворювання ендокринологічного профілю, за оцінками експертів ВООЗ, за масштабами є неінфекційною пандемією, оскільки показники захворюваності стабільно збільшуються [4,9–11,15,16]. Пацієнти з ЦД є сприйнятливішими до низки інфекційних захворювань, як-от викликаних *S. aureus* і *M. tuberculosis*; імовірно, це зумовлено порушеннями з боку імунної системи в цих пацієнтів [9,12].

Діабет визначений як головний фактор обтяження перебігу та підвищення ризику смертності при Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV). Результати епідеміологічних спостережень у регіонах, які сильно постраждали від SARS-CoV-2, та доповідях Центрів по контролю та профілактиці захворювань (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) й інших національних медичних центрів і лікарень показали: ризик летального результату від COVID-19 до 50 % вищий у пацієнтів із ЦД, ніж у тих, хто не має цього захворювання [5,13].

Викладені факти, висока медико-соціальна значущість пандемії COVID-19 зумовили актуальність дослідження, що здійснили.

## Мета роботи

Аналіз відомостей наукової літератури щодо передбачуваних патофізіологічних механізмів асоціації цукрового діабету та коронавірусної хвороби.

Фактори суттєвого збільшення ризику розвитку ускладнень і смертності від коронавірусної хвороби: вік пацієнта (особливо група 50+), наявність ЦД, артеріальної гіпертензії та серйозного ожиріння (ІМТ >40 кг/м<sup>2</sup>) [3, 14–17]. Враховуючи чималу поширеність кардіоваскулярних патологій, ожиріння та гіпертонічної хвороби в пацієнтів із ЦД, залишається не до кінця зрозумілим, чи є ЦД незалежним фактором ризику в пацієнтів із COVID-19, чи наявний комплексний негативний вплив коморбідного стану. Рівень глюкози у плазмі крові та ЦД – незалежні фактори несприятливого прогнозу у хворих на ГРВІ [11, 12].

За відомостями фахової літератури, потенційні патогенетичні механізми, які можуть бути залучені в підвищення сприйнятливості до COVID-19 і спричиняти розвиток фатальних ускладнень у пацієнтів із ЦД, можна узагальнити та визначити основні:

- вища афінність до зв'язування з рецепторами на мембрані та, відповідно, більша ефективність проникнення вірусу у клітини;
- знижений кліренс вірусу;
- ослаблення функції Т-клітин;
- схильність до розвитку гіперзапального стану та синдрому «цитокінового шторму»;
- наявність серцево-судинних захворювань [11].

Відомо, що в аспекті прогнозу одне із найбільш несприятливих ускладнень коронавірусної хвороби – гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС), патофізіологічні механізми розвитку якого залишаються не до кінця з'ясованими. Однак спеціалісти галузі охорони здоров'я відзначають, що наявність ЦД асоційована з більшим ризиком розвитку ГРДС на тлі COVID-19 та вищими показниками смертності [9, 11, 13, 16, 18].

Для SARS-CoV-2 визначили молекулярний механізм проникнення у клітини організму людини. Відомо, що коронавірус складається з 4 структурних білків: шипоподібного (S), мембранного (M), нуклеокапсидного (N) і білка оболонки (E). Саме шипоподібний білок (S) відповідає за зв'язування з рецепторами на мембрані клітин господаря [11, 19, 20].

Ангіотензин-перетворювальний фермент-2 (АПФ-2) визначений як клітинний рецептор-мішень для SARS-CoV та SARS-CoV-2 [11, 22]. Він є інтегральним мембранним глікопротеїном типу 1, який конститутивно експресується епітеліальними клітинами легень, нирок, кишечника, підшлункової залози та ендотелію судин. Відповідно, саме зв'язування з АПФ-2 визначає, з одного боку, схильність до інфікування (внаслідок проникнення вірусу в клітини), з іншого, – очищення клітин від вірусу (кліренс), швидкість якого визначає тривалість періоду від інфікування до реконвалесценції [21–24]. Після взаємодії SARS-CoV-2 з АПФ-2 запускається каскад перетворень у структурних білках вірусу, переважно внаслідок дії специфічних протеаз (TMPRSS2 і фурину), які спричиняють потрапляння SARS-CoV-2 в клітини ендосомальним шляхом [11, 19, 20]. Після цього відбувається перенесення генетичної інформації SARS-CoV-2 до цитозолю, де

надалі відбувається реплікація вірусу. Ймовірно, цьому сприяють клітинні протеази, зокрема катепсин-L, але їхня роль у цьому каскаді поки не підтверджена. В інфікованих клітинах активуються проапоптотичні сигнальні шляхи, наслідком чого є загибель клітин, розвиток потужних запальних реакцій, що загалом опосередковує патогенез COVID-19 [11, 19, 20].

Оверекспресія АПФ-2 в альвеолярних клітинах АТ2 (alveolar type 2 – АТ2), міокарді, нирках і підшлунковій залозі може зумовлювати посилення клітинного зв'язування SARS-CoV-2 [23, 25, 26] і пояснювати розвиток поліорганної недостатності в пацієнтів із важким перебігом COVID-19 [11].

В експериментальних дослідженнях, що здійснені на гризунах із модельованим ЦД, спостерігали збільшення експресії АПФ-2 в легенях, нирках, міокарді, підшлунковій залозі [27, 28]. Виявили, що введення інсуліну пригнічує експресію АПФ-2 [27, 28], а гіпоглікемічні засоби (аналоги глюкагоноподібного пептиду-1 (ГПП-1) – ліраглутид; препарат групи тіазолідиніонів – піоглітазон), антигіпертензивні препарати з групи інгібіторів АПФ та антиатеросклеротичні препарати групи статинів підвищували експресію АПФ-2 [11, 29–32].

В епідеміологічних дослідженнях встановили, що ЦД може підвищувати експресію АПФ-2 в легенях людини [33], але автори наголошують: жоден із результатів, що отримали, не витримав суворих багаторазових корекцій тестування (рівень хибнопозитивних результатів <0,05). Ця кореляція може певною мірою пояснювати вищу сприйнятливості пацієнтів із ЦД до розвитку COVID-19 після контакту з інфікованими людьми [11, 33].

За фізіологічних умов АПФ-2 руйнує ангіотензин-II і, менше, ангіотензин-I з утворенням пептидів – ангіотензину<sub>(1-7)</sub> та ангіотензину<sub>(1-9)</sub> відповідно [34]. Система АПФ-2/ангіотензин<sub>(1-7)</sub> відіграє важливу роль у реалізації протизапальної та антиоксидантної активності, що має принципове значення у захисті легень за умов ГРДС. Захисні ефекти АПФ-2 продемонстровані для інфекції з високою летальністю – пташиного грипу А Н5N1 [35]. На відміну від даних, що наведені в роботі Rao et al. [33], у низці джерел є протилежні дані щодо зниження експресії АПФ-2 в умовах ЦД. Автори робіт трактують це як наслідки патологічного глікозилування та пов'язують із цим розвиток фатальних ускладнень у пацієнтів із ЦД і COVID-19 із боку дихальної системи, зокрема ГРДС [7, 33, 34].

У доступних джерелах фахової літератури відсутня одностайна думка щодо впливу ЦД на експресію АПФ-2, що, ймовірно, опосередковується наявністю додаткових факторів впливу, з-поміж яких, можливо, – поліморфізм гена АПФ-2, тривалість ЦД або застосовувана антидіабетична терапія тощо.

Відомо, що підвищення активності співвідношення АПФ/АПФ-2 у легенях асоційоване з розвитком ГРДС [11] та спричиняло накопичення ангіотензину II. З'єднуючись з АПФ-2, SARS-CoV, ймовірно, знижує клітинну експресію АПФ-2, а зростання рівня ангіотензину II зумовлює його неконтрольований вплив і спричиняє формування гострого ураження легень [36]. Зв'язування тільки з АПФ-2 не призводить до тяжких уражень легень, як це спостерігали у випадку інфекцій, виклика-

них коронавірусами (CoVs) [37,38]. Залишається не до кінця з'ясованим, чи модулює SARS-CoV-2 активність АПФ-2 у легенях [11].

Незважаючи на доволі суперечливі дані щодо впливу ЦД на експресію АПФ-2, науковці переконані: оверекспресія АПФ-2 є негативною щодо прогнозу COVID-19, оскільки SARS-CoV-2 потрапляє у пневмоцити саме шляхом взаємодії з АПФ-2 [39].

Беручи до уваги можливість впливу лікарських засобів на активність АПФ-2, зокрема тих, що включені у протоколи лікування ЦД (аналогі ГПП-1, тiazолідиніони, інгібітори АПФ, блокатори рецепторів ангіотензину II – БРА II, статини) [11,33,34], виникає необхідність здійснення досліджень із виявлення впливу цих препаратів на перебіг COVID-19, зважаючи на потенційну можливість його погіршення.

Добре відомий ефект підвищення експресії АПФ-2 у пацієнтів із ЦД та артеріальною гіпертензією, які отримують терапію інгібіторами АПФ і БРА II, – компенсаторна реакція на збільшення циркулюючих рівнів ангіотензину II та ангіотензину I, що потенційно може призвести до важчого перебігу коронавірусної хвороби, включаючи збільшення показників смертності [34,40]. Але в доступних наукових джерелах не виявили вірогідні дані щодо такого виду впливу. Американський кардіологічний коледж (American College of Cardiology), Американська асоціація серця (American Heart Association) та Американське товариство з вивчення гіпертонії (American Society of Hypertension) рекомендували пацієнтам, зокрема з ЦД, продовжувати лікування за допомогою антигіпертензивної терапії, яку пацієнт використовував на постійній основі, та до появи вірогідних доказів користі чи ризику не змінювати терапію в умовах пандемії COVID-19 [34].

Серед інших препаратів, що можуть впливати на активність АПФ-2, – пероральні гіпоглікемічні засоби піоглітазон і ліраглутид, які в дослідженнях на тваринах індукували оверекспресію ферменту [32,40]. Утім унаслідок браку достовірних даних ці результати не можуть бути екстрапольовані на пацієнтів, бо в жодному дослідженні не враховували базову терапію [34].

У нещодавньому завершеному клінічному дослідженні показано, що частота важкого та критичного перебігу в пацієнтів із COVID-19 асоційовані з вираженістю гіпокаліємії, яка розвивалася, ймовірно, внаслідок збільшення екскреції калію нирками. Автори вважають, що це може бути результатом зменшення фізіологічної активності АПФ-2 за впливу SARS-CoV-2, наслідком чого було пригнічення деградації ангіотензину-II. Це, своєю чергою, стимулювало секрецію альдостерону, який інтенсифікував виведення калію. Виявлено, що якомога рання нормалізація сироваткового рівня калію є предиктором сприятливого прогнозу в пацієнтів із COVID-19 [34,41].

У пацієнтів із ЦД спостерігали також підвищення активності фуруину – серинової протеази, що залучена до відщеплення доменів S1 і S2 шипоподібного білка, який відіграє одну з ключових ролей у полегшенні проникнення SARS-CoV-2 у клітини [43]. Результати нещодавнього дослідження, в якому вивчали кліренс SARS-CoV-2 в пацієнтів із ЦД, свідчать: виведення

вірусу дійсно знижене в цих пацієнтів порівняно з тими, хто не має порушень обміну вуглеводів [42].

Важливий патофізіологічний механізм, що опосередковує високий ризик обтяження перебігу COVID-19 у пацієнтів із ЦД, – порушення імунологічних механізмів. Патогенез ЦД включає розвиток потужного імунологічного дисбалансу, який проявляється пригніченням нейтрофільного хемотаксису, фагоцитозу та порушеннями адаптаційного імунітету, що характеризується початковою затримкою активації клітинного імунітету Th1 і розвитком пізньої гіперзапальної реакції [44].

У рамках доклінічного дослідження на гуманізованій моделі інфекції MERS-CoV, що відтворювали на мишах, яких утримували на дієті з високим вмістом жирів [45], доведено: після інфікування MERS-CoV захворювання було важчим і тривалішим у діабетичних мишей-самців, характеризувалося зміною кількості Т-клітин CD4+ та аномальною цитокиною відповіддю (підвищувався рівень IL17a). Зважаючи на те, що нуклеотидна послідовність у SARS-CoV-2 і MERS-CoV збігається на понад 50 %, можна передбачати наявність схожих порушень імунологічних ланок [11,37,38,46].

Одне з найбільш актуальних питань – вивчення молекулярних механізмів різних ланок патогенезу COVID-19 і його ускладнень, як-от ГРДС. Саме пацієнти із ЦД утворюють одну з основних груп ризику щодо розвитку фатального ГРДС. З погляду патофізіології, відбувається потужна активація прозапальних цитокинів, що призводить до рекрутингу імунологічних клітин. Th1 (CD4+ Т-хелпери) регулюють імунологічну відповідь проти внутрішньоклітинних патогенів, зокрема CoV, через продукцію IFN-γ. Th17 клітини індукують рекрутинг нейтрофілів і макрофагів, продукуючи інтерлейкін-17 (IL-17), IL-21 та IL-22 [47]. SARS-CoV-2 інфікує імунні клітини, що циркулюють, і збільшує апоптоз лімфоцитів (CD3, CD4 і CD8 Т-клітин), призводячи до розвитку лімфоцитопенії, ступінь якої прямо корелює з тяжкістю перебігу інфекції [3,11,51]. Зниження Т-клітинної функції та надмірна активність нейтрофілів призводять до гіперпродукції низки прозапальних цитокинів (IL1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-17, MCP1, TNFα тощо), які умовно називають синдромом «цитокинового шторму» [11,52]. Циркулюючі рівні цитокинів і хемокинів, імовірно, відіграють провідну роль у гіперзапаленні, яке характерне для COVID-19, наслідком якого нерідко стає розвиток поліорганної недостатності [48–50]. Можливо, пацієнти з ЦД можуть мати неадекватну протівірусну активність інтерферону-гамма (INFγ) та уповільнену активацію Th1/Th17, що може зумовлювати пізню посилену запальну реакцію [11].

Нещодавно визначили ще один потенційний молекулярний механізм взаємозв'язку між коронавірусною хворобою та ЦД – фермент дипептидилпептидаза-4 (ДПП-4), який добре відомий як фармакологічна мішень під час терапії ЦД2. У дослідженнях його також визначено як функціональний рецептор коронавірусу людини – Erasmus Medical Center (hCoV-EMC), вірус, що відповідальний за MERS. Антитіла проти ДПП-4 інгібували інфекцію hCoV-EMC первинних клітин [53].

Фермент ДПП-4 – трансмембранний глікопротеїн типу II, який широко конститутивно експресується

в організмі. Він залучений до регуляції метаболізму глюкози та інсуліну, але також опосередковує розвиток прозапального стану, характерного для патогенезу ЦД2 [53]. Залишається нез'ясованим, чи залучений цей механізм до патогенезу COVID-19, але, зважаючи на чималу подібність генома SARS-CoV-2 і MERS-CoV, не можна виключати таку вірогідність [11,37,38,46]. Беручи до уваги наявність лікарських засобів, що є інгібіторами ДПП-4 (ситагліптин, відагліптин, алогліптин тощо), необхідні наступні дослідження в цьому напрямі для об'єктивного оцінювання перспектив використання гліптинів у клінічній практиці як засобів патогенетичної терапії COVID-19, зокрема в пацієнтів із ЦД [5,13].

У науковій літературі наявні дуже обмежені дані щодо результатів клінічних досліджень пацієнтів із COVID-19 і супутніми захворюваннями, як-от ЦД, що зумовлено, на нашу думку, двома основними причинами: незначним проміжком часу від початку пандемії та зміщенням фокусу уваги дослідників саме на пошук та оцінювання ефективності/безпеки засобів етіотропної терапії коронавірусної хвороби; дослідження перебігу захворювання в пацієнтів із коморбідними станами відходять на другий план.

Ретроспективне дослідження, що здійснене Guo et al. у м. Ухань (КНР), включало аналіз демографічних даних, історій хвороби, клінічної симптоматики, результатів лабораторних досліджень і комп'ютерної томографії легень 174 пацієнтів із підтвердженим діагнозом COVID-19. Автори виявили, що 41 пацієнт, крім підтвердженого діагнозу COVID-19, мав основне захворювання, з-поміж них 24 пацієнти мали цукровий діабет (обох типів).

Автори виявили, що пацієнти з COVID-19, які не мають інших супутніх захворювань крім ЦД, мають вищий ризик виникнення ускладнень, як-от пневмонії важкого ступеня. Наявність ЦД як основного захворювання також було асоційована з вираженішими запальними реакціями, розвитком гіперкоагуляційного стану та інтенсивним вивільненням тканинних ферментів. Крім того, в цих пацієнтів визначили вірогідно більші концентрації ( $p < 0,01$ ) сироваткових біомаркерів запалення: інтерлейкіну-6 (IL-6), С-реактивного протеїну, феритину, – а також вміст D-димеру порівняно з пацієнтами без ЦД. Автори зробили висновок, що ЦД – фактор високого ризику швидкого прогресування та обтяження перебігу COVID-19 порівняно з пацієнтами, які не мають цієї патології [9].

Відзначимо, що в цьому дослідженні є низка обмежень, котрі унеможливають об'єктивне оцінювання (групи відрізнялися за віком пацієнтів, тривалістю основного захворювання, терапією; невелика вибірка хворих тощо). Однак результати, що отримані в дослідженні Guo et al., загалом узгоджуються з даними наукових джерел щодо асоціації COVID-19 і ЦД.

## Висновки

1. Наявність цукрового діабету обтяжує перебіг і збільшує ризик розвитку фатальних ускладнень COVID-19, як-от ГРДС, у пацієнтів до 50 %. Патологічні механізми, що лежать в основі асоціації

ЦД і коронавірусної хвороби, базуються на розвитку дизрегуляції експресії АПФ-2 – ключового фактора проникнення у клітину та кліренсу вірусу й порушення імунологічної відповіді, загалом зумовлюючи більшу сприйнятливості пацієнтів із ЦД до розвитку інфекції SARS-CoV-2 і більший ризик формування гіперзапального стану й синдрому «цитокінового шторму».

2. Вірогідно не відомо, чи впливають препарати, що призначають хворим на ЦД (інсулін, пероральні гіпоглікемічні засоби, антигіпертензивні препарати тощо), на ланки патогенезу COVID-19. Наявні відомості не дають можливості однозначно оцінити співвідношення ризику/користі цих препаратів, а тому пацієнтам рекомендовано призначати терапію основного захворювання у звичайному режимі. Але це питання потребує продовження клініко-епідеміологічних досліджень, оскільки дасть змогу обґрунтовано обирати терапевтичну стратегію у випадках коморбідного стану.

3. Пацієнти з ЦД належать до групи високого ризику прогресування та обтяження перебігу коронавірусної хвороби, а отже є висока ймовірність розвитку серйозних ускладнень.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 19.05.2020

Після доопрацювання / Revised: 17.06.2020

Прийнято до друку / Accepted: 24.06.2020

## Відомості про авторів:

Брюханова Т. О., канд. біол. наук, асистент каф. біологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-8042-9063](https://orcid.org/0000-0002-8042-9063)

Загайко А. Л., д-р біол. наук, професор каф. біологічної хімії, проректор з науково-педагогічної роботи, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-2226-976X](https://orcid.org/0000-0002-2226-976X)

Литкін Д. В., канд. біол. наук, асистент каф. біологічної хімії, заступник директора Навчально-наукового інституту прикладної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-4173-3046](https://orcid.org/0000-0002-4173-3046)

## Information about authors:

Briukhanova T. O., PhD in Biology, Assistant of the Department of Biological Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Zagayko A. L., PhD, DSc in Biology, Professor of the Department of Biological Chemistry, Vice-rector for Scientific and Pedagogical Work, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Lytkin D. V., PhD in Biology, Assistant of the Department of Biological Chemistry, Vice Director of the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Брюханова Т. А., канд. биол. наук, ассистент каф. биологической химии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Загайко А. Л., д-р биол. наук, профессор каф. биологической химии, проректор по научно-педагогической работе, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Лыткин Д. В., канд. биол. наук, ассистент каф. биологической химии, заместитель директора Учебно-научного института прикладной фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.



## Список літератури

- [1] COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) [Web source]: Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. URL : <https://coronavirus.jhu.edu>
- [2] Офіційний інформаційний портал Кабінету Міністрів України «Коронавірус в Україні»: Covid19.gov.ua. URL : <https://covid19.gov.ua>
- [3] Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China / W. Guan, Z. Ni, Y. Hu et al. *New England Journal of Medicine*. 2020. Vol. 382, Iss. 18. P. 1708-1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
- [4] Maddaloni E., Buzzetti R. Covid-19 and diabetes mellitus: unveiling the interaction of two pandemics. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2020. Advance online publication. P. e33213321. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3321>
- [5] Remuzzi A., Remuzzi G. COVID-19 and Italy: what next? *Lancet (London, England)*. 2020. Vol. 395, Iss. 10231. P. 1225-1228. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30627-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30627-9)
- [6] Wu Z., McGoogan J. M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *Jama*. 2020. Vol. 323, Iss. 13. P. 1239. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- [7] Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China / C. Wu, X. Chen, Y. Cai et al. *JAMA Internal Medicine*. 2020. Published online March 13, 2020. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- [8] Clinical and Laboratory Profiles of 75 Hospitalized Patients with Novel Coronavirus Disease 2019 in Hefei, China / Z. Zhao, J. Xie, M. Yin et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.03.01. P. 20029785. <https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029785>
- [9] Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19 / W. Guo, M. Li, Y. Dong et al. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2020. Advance online publication. P. e3319. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3319>
- [10] Hussain A., Bhowmik B., do Vale Moreira N. C. COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes research and clinical practice*. 2020. Vol. 162. P. 108142. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108142>
- [11] Muniyappa R., Gubbi S. COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2020. Vol. 318, Iss. 5. P. 736-741. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00124.2020>
- [12] Plasma glucose levels and diabetes are independent predictors for mortality and morbidity in patients with SARS / J. K. Yang, Y. Feng, M. Y. Yuan et al. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2006. Vol. 23, Iss. 6. P. 623-628. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01861.x>
- [13] Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19 / S. R. Bornstein, F. Rubino, K. Khunti et al. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2020. Vol. 8, Iss. 6. P. 546-550. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30152-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30152-2)
- [14] Onder G., Rezza G., Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA*. 2020. Vol. 323, Iss. 18. P. 1775-1776. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4683>
- [15] National Diabetes Statistics Report, 2020. 277 Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services [Web source]: Centers for Disease Control and Prevention. URL : <https://www.cdc.gov>
- [16] Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis / J. Yang, Y. Zheng, X. Gou et al. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2020. Vol. 94. P. 91-95. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017>
- [17] Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou, T. Yu, R. Du et al. *Lancet (London, England)*. 2020. Vol. 395, Iss. 10229. P. 1054-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- [18] Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome / M. Griffiths, D. F. McAuley, G. D. Perkins et al. *BMJ Open Respiratory Research*. 2019. Vol. 6, Iss. 1. P. e000420. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2019-000420>
- [19] Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein / A. C. Walls, Y. J. Park, M. A. Tortorici et al. *Cell*. 2020. Vol. 181, Iss. 2. P. 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- [20] SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor / M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder et al. *Cell*. 2020. Vol. 181, Iss. 2. P. 271-280. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- [21] Human Kidney is a Target for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection / B. Diao, Z. Feng, C. Wang et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.03.04. P. 20031120. <https://doi.org/10.1101/2020.03.04.20031120>
- [22] Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus / W. Li, M. J. Moore, N. Vasilieva et al. *Nature*. 2003. Vol. 426, Iss. 6965. P. 450-454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- [23] Highly ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreas Damage After SARS-CoV-2 Infection / F. Liu, X. Long, W. Zou et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.02.28. P. 20029181. <https://doi.org/10.1101/2020.02.28.20029181>
- [24] COVID-19 and the cardiovascular system / Y. Y. Zheng, Y. T. Ma, J. Y. Zhang, X. Xie. *Nature reviews. Cardiology*. 2020. Vol. 17, Iss. 5. P. 259-260. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0360-5>
- [25] Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection / X. Zou, K. Chen, J. Zou et al. *Frontiers of medicine*. 2020. Vol. 14, Iss. 2. P. 185-192. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>
- [26] SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells / S. Lukassen, R. L. Chua, T. Trefzger et al. *The EMBO journal*. 2020. Vol. 39, Iss. 10. P. e105114. <https://doi.org/10.15252/embj.20105114>
- [27] Characterization of ACE and ACE2 Expression within Different Organs of the NOD Mouse / H. Roca-Ho, M. Riera, V. Palau et al. *International journal of molecular sciences*. 2017. Vol. 18, Iss. 3. P. 563. <https://doi.org/10.3390/ijms18030563>
- [28] ACE and ACE2 activity in diabetic mice / J. Wysocki, M. Ye, M. J. Soler et al. *Diabetes*. 2006. Vol. 55, Iss. 7. P. 2132-2139. <https://doi.org/10.2337/db06-0033>
- [29] Tissue specific up regulation of ACE2 in rabbit model of atherosclerosis by atorvastatin: role of epigenetic histone modifications / K. Tikoo, G. Patel, S. Kumar et al. *Biochemical pharmacology*. 2015. Vol. 93, Iss. 3. P. 343-351. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.11.013>
- [30] Acute respiratory distress syndrome leads to reduced ratio of ACE/ACE2 activities and is prevented by angiotensin-(1-7) or an angiotensin II receptor antagonist / R. M. Wösten-van Asperen, R. Lutter, P. Specht et al. *The Journal of pathology*. 2011. Vol. 225, Iss. 4. P. 618-627. <https://doi.org/10.1002/path.2987>
- [31] Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China / J. Zhang, X. Dong, Y. Cao et al. *Allergy*. 2020. [published online ahead of print, 2020 Feb 19]. <https://doi.org/10.1111/all.14238>
- [32] Activation of the GLP-1 Receptor by Liraglutide Increases ACE2 Expression, Reversing Right Ventricle Hypertrophy, and Improving the Production of SP-A and SP-B in the Lungs of Type 1 Diabetes Rats / M. Romani-Pérez, V. Outeiriño-Iglesias, C. M. Moya et al. *Endocrinology*. 2015. Vol. 156, Iss. 10. P. 3559-3569. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1685>
- [33] Rao S., Lau A., So H. C. Exploring Diseases/Traits and Blood Proteins Causally Related to Expression of ACE2, the Putative Receptor of SARS-CoV-2: A Mendelian Randomization Analysis Highlights Tentative Relevance of Diabetes-Related Traits. *Diabetes care*. 2020. Vol. 43, Iss. 7. P. 1416-1426. <https://doi.org/10.2337/dc20-0643>
- [34] Pal R., Bhansali A. COVID-19, diabetes mellitus and ACE2: The conundrum. *Diabetes research and clinical practice*. 2020. Vol. 162. P. 108132. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108132>
- [35] Angiotensin-converting enzyme 2 protects from lethal avian influenza A H5N1 infections / Z. Zou, Y. Yan, Y. Shu et al. *Nature communications*. 2014. Vol. 5. P. 3594. <https://doi.org/10.1038/ncomms4594>
- [36] A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury / K. Kubo, Y. Imai, S. Rao et al. *Nature medicine*. 2005. Vol. 11, Iss. 8. P. 875-879. <https://doi.org/10.1038/nm1267>
- [37] Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*. 2019. Vol. 17, Iss. 3. P. 181-192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- [38] Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses / S. Su, G. Wong, W. Shi et al. *Trends in microbiology*. 2016. Vol. 24, Iss. 6. P. 490-502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- [39] Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation / D. Wrapp, N. Wang, K. S. Corbett et al. *Science. (New York, N.Y.)*. 2020. Vol. 367, Iss. 6483. P. 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
- [40] Fang L., Karakiulakis G., Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *The Lancet. Respiratory medicine*. 2020. Vol. 8, Iss. 4. e21. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30116-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30116-8)
- [41] Hypokalemia and Clinical Implications in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) / D. Chen, X. Li, Q. Song et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.02.27. P. 20028530. <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.20028530>
- [42] Hypertension and Diabetes Delay the Viral Clearance in COVID-19 Patients / X. Chen, W. Hu, J. Ling et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.03.22. P. 20040774. <https://doi.org/10.1101/2020.03.22.20040774>
- [43] Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality / C. Fernandez, J. Rysä, P. Almgren et al.

- Journal of internal medicine*. 2018. Vol. 284, Iss. 4. P. 377-387. <https://doi.org/10.1111/joim.12783>
- [44] Immunological mechanisms contributing to the double burden of diabetes and intracellular bacterial infections / K. Hodgson, J. Morris, T. Bridson et al. *Immunology*. 2015. Vol. 144, Iss. 2. P. 171-185. <https://doi.org/10.1111/imm.12394>
- [45] Comorbid diabetes results in immune dysregulation and enhanced disease severity following MERS-CoV infection / K. A. Kulcsar, C. M. Coleman, S. E. Beck, M. B. Frieman. *JCI insight*. 2019. Vol. 4, Iss. 20. P. e131774. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.131774>
- [46] Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding / R. Lu, X. Zhao, J. Li et al. *Lancet (London, England)*. 2020. Vol. 395, Iss. 10224. P. 565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- [47] SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses / E. De Wit, N. Van Doremalen, D. Falzarano, V. J. Munster. *Nature reviews. Microbiology*. 2016. Vol. 14, Iss. 8. P. 523-534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>
- [48] Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19 / Y. Gao, T. Li, M. Han et al. *Journal of medical virology*. 2020. Vol. 92, Iss. 7. P. 791-796. <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>
- [49] COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression / P. Mehta, D. F. McAuley, M. Brown et al. *Lancet (London, England)*. 2020. Vol. 395, Iss. 10229. P. 1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- [50] Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP) / S. Wan, Q. Yi, S. Fan et al. *MedRxiv*. 2020. Vol. 2020.02.10. P. 20021832. <https://doi.org/10.1101/2020.02.10.20021832>
- [51] Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China / C. Wu, X. Chen, Y. Cai et al. *JAMA Internal Medicine*. 2020. [published online ahead of print, 2020 Mar 13]. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- [52] Патологічне обґрунтування ефективності застосування кварцетину в терапії корона вірусної хвороби (COVID-19) / І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, Н. П. Безугла, І. А. Отришко. *Патологія*. 2020. Т. 17, № 1. С. 93-101 <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203844>
- [53] Iacobellis G. COVID-19 and diabetes: Can DPP4 inhibition play a role?. *Diabetes research and clinical practice*. 2020. Vol. 162. P. 108125. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108125>
- ## References
- [1] Johns Hopkins University. (2020). *COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)*. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. <https://coronavirus.jhu.edu/>
- [2] Cabinet of Ministers of Ukraine. (2020). *Ofitsiyniy informatsiyniy portal Kabinetu Ministriv Ukrainy "Koronavirus v Ukraini"* [COVID-19 pandemic in Ukraine. Current information about coronavirus and quarantine]. <https://covid19.gov.ua/>
- [3] Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D., Du, B., Li, L., Zeng, G., Yuen, K., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Chen, P., Xiang, J., Li, S., Wang, J., Liang, Z., Peng, Y., Wei, L., Liu, Y., Hu, Y., Peng, P., Wang, J., Liu, J., Chen, Z., Li, G., Zheng, Z., Qiu, S., Luo, J., Ye, C., Zhu, S. & Zhong, N. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708-1720. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
- [4] Maddaloni, E., & Buzzetti, R. (2020). Covid-19 and diabetes mellitus: unveiling the interaction of two pandemics. *Diabetes/metabolism research and reviews*, e33213321. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3321>
- [5] Remuzzi, A., & Remuzzi, G. (2020). COVID-19 and Italy: what next?. *Lancet (London, England)*, 395(10231), 1225-1228. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30627-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30627-9)
- [6] Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *Jama*, 323(13), 1239. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- [7] Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., Zhang, L., Zhou, X., Du, C., Zhang, Y., Song, J., Wang, S., Chao, Y., Yang, Z., Xu, J., Zhou, X., Chen, D., Xiong, W., Xu, L., Zhou, F., Jiang, J., Bai, C., Zheng, J., & Song, Y. (2020). Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- [8] Zhao, Z., Xie, J., Yin, M., Yang, Y., He, H., Jin, T., Li, W., Zhu, X., Xu, J., Zhao, C., Li, L., Li, Y., Mengist, H., Zahid, A., Yao, Z., Ding, C., Qi, Y., Gao, Y., & Ma, X. (2020). Clinical and Laboratory Profiles of 75 Hospitalized Patients with Novel Coronavirus Disease 2019 in Hefei, China. *MedRxiv*, 2020.03.01.20029785. <https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029785>
- [9] Guo, W., Li, M., Dong, Y., Zhou, H., Zhang, Z., Tian, C., Qin, R., Wang, H., Shen, Y., Du, K., Zhao, L., Fan, H., Luo, S., & Hu, D. (2020). Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes/metabolism research and reviews*, e3319. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3319>
- [10] Hussain, A., Bhowmik, B., & do Vale Moreira, N. C. (2020). COVID-19 and diabetes: Knowledge in progress. *Diabetes research and clinical practice*, 162, 108142. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108142>
- [11] Muniyappa, R., & Gubbi, S. (2020). COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 318(5), E736-E741. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00124.2020>
- [12] Yang, J. K., Feng, Y., Yuan, M. Y., Yuan, S. Y., Fu, H. J., Wu, B. Y., Sun, G. Z., Yang, G. R., Zhang, X. L., Wang, L., Xu, X., Xu, X. P., & Chan, J. C. (2006). Plasma glucose levels and diabetes are independent predictors for mortality and morbidity in patients with SARS. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 23(6), 623-628. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01861.x>
- [13] Bornstein, S. R., Rubino, F., Khunti, K., Mingrone, G., Hopkins, D., Birkenfeld, A. L., Boehm, B., Amiel, S., Holt, R. I., Skyler, J. S., DeVries, J. H., Renard, E., Eckel, R. H., Zimmel, P., Alberti, K. G., Vidal, J., Geloneze, B., Chan, J. C., Ji, L., & Ludwig, B. (2020). Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 8(6), 546-550. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30152-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30152-2)
- [14] Onder, G., Rezza, G., & Brusaferro, S. (2020). Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA*, 323(18), 1775-1776. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.4683>
- [15] U.S. Department of Health & Human Services. (2020). *National Diabetes Statistics Report, 2020*. 277 Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov>
- [16] Yang, J., Zheng, Y., Gou, X., Pu, K., Chen, Z., Guo, Q., Ji, R., Wang, H., Wang, Y., & Zhou, Y. (2020). Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 94, 91-95. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.017>
- [17] Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1054-1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- [18] Griffiths, M., McAuley, D. F., Perkins, G. D., Barrett, N., Blackwood, B., Boyle, A., Chee, N., Connolly, B., Dark, P., Finney, S., Salam, A., Silversides, J., Tarmey, N., Wise, M. P., & Boudouin, S. V. (2019). Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome. *BMJ open respiratory research*, 6(1), e000420. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2019-000420>
- [19] Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veerler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- [20] Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- [21] Diao, B., Feng, Z., Wang, C., Wang, H., Liu, L., Wang, C., Wang, R., Liu, Y., Liu, Y., Wang, G., Yuan, Z., Wu, Y., & Chen, Y. (2020). Human Kidney is a Target for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection. *MedRxiv*, 2020.03.04.20031120. <https://doi.org/10.1101/2020.03.04.20031120>
- [22] Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426(6965), 450-454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- [23] Liu, F., Long, X., Zou, W., Fang, M., Wu, W., Li, W., Zhang, B., Zhang, W., Chen, X., & Zhang, Z. (2020). Highly ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreas Damage After SARS-CoV-2 Infection. *MedRxiv*, 2020.02.28.20029181. <https://doi.org/10.1101/2020.02.28.20029181>
- [24] Zheng, Y. Y., Ma, Y. T., Zhang, J. Y., & Xie, X. (2020). COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature reviews. Cardiology*, 17(5), 259-260. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0360-5>
- [25] Zou, X., Chen, K., Zou, J., Han, P., Hao, J., & Han, Z. (2020). Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Frontiers of medicine*, 14(2), 185-192. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0754-0>

- [26] Lukassen, S., Chua, R. L., Trefzer, T., Kahn, N. C., Schneider, M. A., Muley, T., Winter, H., Meister, M., Veith, C., Boots, A. W., Hennig, B. P., Kreuter, M., Conrad, C., & Eils, R. (2020). SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *The EMBO journal*, 39(10), e105114. <https://doi.org/10.15252/emboj.20105114>
- [27] Roca-Ho, H., Riera, M., Palau, V., Pascual, J., & Soler, M. J. (2017). Characterization of ACE and ACE2 Expression within Different Organs of the NOD Mouse. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 563. <https://doi.org/10.3390/ijms18030563>
- [28] Wysocki, J., Ye, M., Soler, M. J., Gurley, S. B., Xiao, H. D., Bernstein, K. E., Coffman, T. M., Chen, S., & Battle, D. (2006). ACE and ACE2 activity in diabetic mice. *Diabetes*, 55(7), 2132-2139. <https://doi.org/10.2337/db06-0033>
- [29] Tikoo, K., Patel, G., Kumar, S., Karpe, P. A., Sanghavi, M., Malek, V., & Srinivasan, K. (2015). Tissue specific up regulation of ACE2 in rabbit model of atherosclerosis by atorvastatin: role of epigenetic histone modifications. *Biochemical pharmacology*, 93(3), 343-351. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.11.013>
- [30] Wösten-van Asperen, R. M., Lutter, R., Specht, P. A., Moll, G. N., van Woensel, J. B., van der Loos, C. M., van Goor, H., Kamilic, J., Florquin, S., & Bos, A. P. (2011). Acute respiratory distress syndrome leads to reduced ratio of ACE/ACE2 activities and is prevented by angiotensin-(1-7) or an angiotensin II receptor antagonist. *The Journal of pathology*, 225(4), 618-627. <https://doi.org/10.1002/path.2987>
- [31] Zhang, J., Dong, X., Cao, Y., Yuan, Y., Yang, Y., & Yan, Y., Akdis, C., & Gao, Y. (2020). Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1111/all.14238>
- [32] Román-Pérez, M., Outeiriño-Iglesias, V., Moya, C. M., Santisteban, P., González-Matias, L. C., Vigo, E., & Mallo, F. (2015). Activation of the GLP-1 Receptor by Liraglutide Increases ACE2 Expression, Reversing Right Ventricle Hypertrophy, and Improving the Production of SP-A and SP-B in the Lungs of Type 1 Diabetes Rats. *Endocrinology*, 156(10), 3559-3569. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1685>
- [33] Rao, S., Lau, A., & So, H. C. (2020). Exploring Diseases/Traits and Blood Proteins Causally Related to Expression of ACE2, the Putative Receptor of SARS-CoV-2: A Mendelian Randomization Analysis Highlights Tentative Relevance of Diabetes-Related Traits. *Diabetes care*, 43(7), 1416-1426. <https://doi.org/10.2337/dc20-0643>
- [34] Pal, R., & Bhansali, A. (2020). COVID-19, diabetes mellitus and ACE2: The conundrum. *Diabetes research and clinical practice*, 162, 108132. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108132>
- [35] Zou, Z., Yan, Y., Shu, Y., Gao, R., Sun, Y., Li, X., Ju, X., Liang, Z., Liu, Q., Zhao, Y., Guo, F., Bai, T., Han, Z., Zhu, J., Zhou, H., Huang, F., Li, C., Lu, H., Li, N., Li, D., ... Jiang, C. (2014). Angiotensin-converting enzyme 2 protects from lethal avian influenza A H5N1 infections. *Nature communications*, 5, 3594. <https://doi.org/10.1038/ncomms4594>
- [36] Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., Guan, B., Huan, Y., Yang, P., Zhang, Y., Deng, W., Bao, L., Zhang, B., Liu, G., Wang, Z., Chappell, M., Liu, Y., Zheng, D., Leibbrandt, A., Wada, T., Slutsky, A. S., ... Penninger, J. M. (2005). A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature medicine*, 11(8), 875-879. <https://doi.org/10.1038/nm1267>
- [37] Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*, 17(3), 181-192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- [38] Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in microbiology*, 24(6), 490-502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- [39] Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., Graham, B. S., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N. Y.)*, 367(6483), 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
- [40] Fang, L., Karakiulakis, G., & Roth, M. (2020). Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection?. *The Lancet. Respiratory medicine*, 8(4), e21. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30116-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30116-8)
- [41] Chen, D., Li, X., Song, Q., Hu, C., Su, F., & Dai, J. (2020). Hypokalemia and Clinical Implications in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *MedRxiv*, 2020.02.27.20028530. <https://doi.org/10.1101/2020.02.27.20028530>
- [42] Chen, X., Hu, W., Ling, J., Mo, P., Zhang, Y., Jiang, Q., Ma, Z., Cao, Q., Deng, L., Song, S., Zheng, R., Gao, S., Ke, H., Gui, X., Lundkvist ALI, J., Lindahl, J., & Xiong, Y. (2020). Hypertension and Diabetes Delay the Viral Clearance in COVID-19 Patients. *MedRxiv*, 2020.03.22.20040774. <https://doi.org/10.1101/2020.03.22.20040774>
- [43] Fernandez, C., Rysä, J., Almgren, P., Nilsson, J., Engström, G., Orho-Melander, M., Ruskoaho, H., & Melander, O. (2018). Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality. *Journal of internal medicine*, 284(4), 377-387. <https://doi.org/10.1111/joim.12783>
- [44] Hodgson, K., Morris, J., Bridson, T., Govan, B., Rush, C., & Ketheesan, N. (2015). Immunological mechanisms contributing to the double burden of diabetes and intracellular bacterial infections. *Immunology*, 144(2), 171-185. <https://doi.org/10.1111/imm.12394>
- [45] Kulcsar, K. A., Coleman, C. M., Beck, S. E., & Frieman, M. B. (2019). Comorbid diabetes results in immune dysregulation and enhanced disease severity following MERS-CoV infection. *JCI insight*, 4(20), e131774. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.131774>
- [46] Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London, England)*, 395(10224), 565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- [47] De Wit, E., Van Doremalen, N., Falzarano, D., & Munster, V. J. (2016). SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*, 14(8), 523-534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>
- [48] Gao, Y., Li, T., Han, M., Li, X., Wu, D., Xu, Y., Zhu, Y., Liu, Y., Wang, X., & Wang, L. (2020). Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *Journal of medical virology*, 92(7), 791-796. <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>
- [49] Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., Manson, J. J., & HLH Across Speciality Collaboration, UK (2020). COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- [50] Wan, S., Yi, Q., Fan, S., Lv, J., Zhang, X., Guo, L., Lang, C., Xiao, Q., Xiao, K., Yi, Z., Qiang, M., Xiang, J., Zhang, B., & Chen, Y. (2020). Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). *MedRxiv*, 2020.02.10.20021832. <https://doi.org/10.1101/2020.02.10.20021832>
- [51] Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., ... Song, Y. (2020). Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- [52] Zupanets, I., Shebeko, S., Bezugla, N., & Otrishko, I. (2020). Patofiziologichne obgruntuvannya efektyvnosti zastosuвання kvvertsetynu v terapii korona virusnoi khvoroby (COVID-19) [Pathophysiological substantiation of the effectiveness of quercetin use in coronavirus disease (COVID-19) therapy]. *Pathologia*, 17(1). <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203844>
- [53] Iacobellis, G. (2020). COVID-19 and diabetes: Can DPP4 inhibition play a role?. *Diabetes research and clinical practice*, 162, 108125. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108125>

## Clinical case of basal cell carcinoma therapy using 5 % imiquimod cream

H. I. Makurina <sup>id</sup>\*A-F, O. I. Makarchuk <sup>id</sup>E, I. P. Dmytrenko <sup>id</sup>B, A. V. Holovkin <sup>id</sup>C,  
L. O. Cherneda <sup>id</sup>D

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

### Key words:

basal cell carcinoma, skin neoplasms, topical therapy.

### Pathologia

2020; 17 (2), 264-268

### \*E-mail:

[makurinagalina1@gmail.com](mailto:makurinagalina1@gmail.com)

**Aim.** To describe clinical case of the basal cell carcinoma treatment, determine personalized diagnostic algorithm of the patient management with further selection of the therapy method regarding visual, dermatoscopic and pathomorphological picture of disease.

**Materials and methods.** The own observation of clinical case of local treatment of the patient with basal cell carcinoma by means of 5 % imiquimod cream was described.

**Results.** Based on comprehensive examination of the patient with determination of features of visual, dermatoscopic and pathohistological picture the diagnosis “Basal cell carcinoma, nodular variant” was determined. Taking into account considerable traumatization and possibility of functional motor impairment after surgery it was determined to replace the treatment approach with the local use of 5 % imiquimod cream according to the standardized scheme. Step-by-step application of topical agent on the upper part of BCC affected area had also influence on the non-treated zone which began to regress by itself starting from the 9<sup>th</sup> week.

Spontaneous regress of BCC stipulates rare and unusual course of disease. Control clinical and pathomorphological examination did not reveal any neoplastic processes in skin after 12 weeks course of treatment with 5 % imiquimod cream and within 1 year of further observation. In case of BCC the possibility of using topical agents increases therapeutic potential and compliance between doctor and patient.

**Conclusions.** Annual increase of quantity of new cases of non-melanoma skin tumours and variability of clinical implications enable the rise of oncological suspicion level among practicing physicians. Creation of personalized algorithm of diagnostics ensures making the diagnosis timely and selection of differential treatment approach. Neglecting the neoplasm with significant affected area size the topical use of 5 % imiquimod is the effective alternative to invasive intervention for treatment of patients with the basal cell carcinoma.

### Ключові слова:

базально-клітинна карцинома, новоутворення шкіри, топічна терапія.

### Патологія. 2020.

Т. 17, № 2(49).  
С. 264-268

## Клінічний випадок терапії базально-клітинної карциноми з використанням 5 % крему іміквімоду

Г. І. Макуріна, О. І. Макачук, І. П. Дмитренко, А. В. Головкін, Л. О. Чернеда

**Мета роботи** – описати клінічний випадок лікування базально-клітинної карциноми (БКК), визначити персоніфікований діагностичний алгоритм ведення пацієнта з дальшим вибором методу терапії, спираючись на візуальну, дерматоскопічну та патоморфологічну картину захворювання.

**Матеріали та методи.** Навели власне спостереження клінічного випадку місцевого лікування хворої на базально-клітинну карциному з використанням 5 % іміквімод-крему.

**Результати.** На підставі всебічного обстеження хворого з визначенням особливостей візуальної, дерматоскопічної та патогістологічної картини встановили діагноз базально-клітинної карциноми, нодулярний варіант. Враховуючи чималу травматизацію та можливість функціональних рухових порушень після оперативного втручання, вирішили змінити тактику лікування на користь місцевого використання 5 % іміквімод-крему за стандартизованою схемою. Поетапне нанесення топічного засобу на верхню частину вогнища БКК вплинуло також на неліковану ділянку, що почала регресувати самостійно, починаючи з 9 тижня.

Спонтанний регрес БКК характеризує рідкісний і неординарний перебіг захворювання. Контрольне клінічне та патоморфологічне обстеження не показало жодних неопластичних процесів у шкірі після 12-тижневого курсу лікування 5 % іміквімодом, а також протягом 1 року спостереження. Можливість використання топічних засобів при БКК збільшує терапевтичний потенціал і комплаєнс між лікарем і пацієнтом.

**Висновки.** Щорічне збільшення кількості нових випадків немеланомних пухлин шкіри та варіабельність клінічних проявів зумовлюють підвищення рівня онконастороженості лікарів-практиків.

Створення персоніфікованого алгоритму діагностики забезпечить своєчасне встановлення діагнозу та вибір диференційованої тактики лікування. Незважаючи на чимале за площею ураження новоутворення, топічне використання 5 % іміквімод-крему – ефективна альтернатива інвазивним втручанням під час лікування пацієнтів із базально-клітинною карциною.

## Клинический случай терапии базально-клеточной карциномы с использованием 5 % крема имиквимода

Г. И. Макурина, А. И. Макачук, И. П. Дмитренко, А. В. Головкин, Л. А. Чернеда

**Цель работы** – описать клинический случай лечения базально-клеточной карциномы (БКК), определить персонализированный диагностический алгоритм ведения пациента с дальнейшим выбором метода терапии, учитывая визуальную, дерматоскопическую и патоморфологическую картину заболевания.

**Материалы и методы.** Описано собственное наблюдение клинического случая местного лечения больной с базально-клеточной карциномой, используя 5 % крем имиквимод.

**Результаты.** На основании всестороннего обследования больной с определением особенностей визуальной, дерматоскопической и патогистологической картины установлен диагноз базально-клеточной карциномы, нодулярный вариант. Учитывая значительную травматизацию и возможность функциональных двигательных нарушений после оперативного вмешательства, решено изменить тактику лечения в пользу местного использования 5 % крема имиквимода по стандартизированной схеме. Поэтапное нанесение топического средства на верхний участок очага БКК повлияло также на нелеченную часть, которая начала регрессировать самостоятельно, начиная с 9 недели. Спонтанный регресс БКК характеризует редкое и неординарное течение заболевания. Контрольное клиническое и патоморфологическое обследование не показало неопластические процессы в коже после 12-недельного курса лечения 5 % имиквимодом, а также в течение 1 года наблюдения. Возможность использования топических средств при БКК увеличивает терапевтический потенциал и комплаенс между врачом и пациентом.

**Выводы.** Ежегодное увеличение количества новых случаев немеланомных опухолей кожи, а также вариабельность клинических проявлений способствуют повышению уровня онконастороженности среди практических врачей. Создание персонализированного алгоритма диагностики обеспечит своевременную постановку диагноза и выбор дифференцированной тактики лечения. Несмотря на значительное по площади поражения новообразование, топическое использование 5 % крема имиквимода – эффективная альтернатива инвазивным вмешательствам при лечении пациентов с базально-клеточной карциномой.

**Ключевые слова:** базально-клеточная карцинома, новообразования кожи, топическая терапия.

**Патология. 2020.**  
Т. 17, № 2(49).  
С. 264-268

Basal cell carcinoma (BCC) belongs to the most common skin tumour which is formed from basal layer of epidermis and defined by rapid growth and evident destructive component. BCC makes approximately 75 % of all cases of non-melanoma skin tumours [1]. In population-based cohort study which was carried out in Olmsted County, Minnesota within 2000–2010 G. Muzic et al. showed that in comparison with 1976–1984 number of basal cell carcinomas had increased by 145 % [2]. According to data of National Cancer Register in 2018, in Ukraine 181 709 persons with non-melanoma skin tumours were registered [3]. More frequently BCC is detected among adults, mainly males [4]. Risk factors of formation of this neoplasm are the age, characteristics of skin phototype, presence of immunosuppression and increased insolation. Thus, the open parts of body susceptible to excessive influence of solar radiation are the most common location of basalioma. BCC has relatively favorable prognosis and cases of metastasis are almost absent [5].

Clinically the following forms are defined: superficial, nodular, sclerodermoid basal cell, pigmented, locally spread, metastatic, metatype or base squamosal and Pinkus tumour. Histologically subtypes of BCC are divided depending on incidence of recurrent disease. Base squamosal carcinoma, sclerodermoid basal cell, infiltrative, micronodular and BCC with sarcomatoid differentiation are referred to high risk group. Nodular, superficial, pigmented, fibroepithelial variants and BCC with involvement of appendages have the low level of reappearance [6]. Variability of clinical implications causes diagnostic errors and wrong selection of the treatment approach.

### Aim

To describe clinical case of basal cell carcinoma treatment, determine personalized diagnostic algorithm of patient

management with further selection of the therapy method based on visual, dermoscopic and pathomorphological picture of disease.

### Materials and methods

Own observation of the clinical case of local treatment of patient with basal cell carcinoma using 5 % imiquimod cream is described. Examination and treatment were made on the basis of Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education and Municipal Institution “Zaporizhzhia Regional Dermatovenerological Clinical Dispensary” of Zaporizhzhia Municipal Council.

### Clinical case

Patient A, born in 1980, with complaints of available neoplasm on the shoulder skin visited dermatovenerologist of Regional Dermatovenerological Clinical Dispensary. From the case history it is known that for the first time she had noticed the affected area 5 years ago but hadn't asked for professional aid and hadn't treated it by herself. During last 1.5 years the patient had noticed the increase of neoplasm size. At the moment of examination on the right shoulder skin there was the plaque up to 5–6 cm in diameter with distinct limits of hot pink color with partially available crusts, swelling at the edges stipulated by more evident infiltration (*Fig. 1*).

Dermatoscopically the following patterns were observed: gray-blue spots and ovoid structures, single focuses of pigmentation in form of “maple leaf” and also branched tree-shaped vessels associated with erythema, focally located erosions.



Fig. 1. BCC at the beginning of the therapy.



Fig. 2. In two weeks after beginning of the treatment.



Fig. 3. End of the 9<sup>th</sup> week of the treatment.



Fig. 4. The 12<sup>th</sup> week of the treatment.



Fig. 5. In 2 months after the treatment was complete.



Fig. 6. In 1 year after the treatment was complete.

In order to verify the diagnosis, the morphological study by means of the skin punch biopsy was performed. Presence of tumour meeting the basal cell carcinoma by its histological structure was determined in specimen of derma.

The pathohistological conclusion: basal cell carcinoma, nodular variant (ICD-O 8097/3). Surgical procedure for removal of the neoplasm was proposed to the patient. But the patient refused the invasive treatment, taking into account sizes of BCC, probability of formation of the rough painful scar in future and occurrence of functional motor impairment of the upper limb. Based on flat refusal of the patient to have surgical procedure and impossibility of treatment in the Regional Cancer Centre (for family reasons) it was decided to assign therapy with topical use of 5% imiquimod cream.

In connection with the size of affected area it was proposed to use step-by-step treatment of basal cell carcinoma. Conventionally the neoplasm was divided into two parts, 5% imiquimod cream was applied only to the area of 2 × 3 cm in size in the upper part of BCC. Topical treatment was made according to the following scheme: the cream was applied one time per day, every

day within 5 days with further 2-day break in therapy. In two weeks of treatment it was noted that the affected area size had increased almost twice due to the evident inflammation as the expected result of imiquimod use (Fig. 2).

It is rather non-typical that starting from the 9<sup>th</sup> week of local therapy the part of basal cell carcinoma which was not involved in treatment started to regress by itself. (Fig. 3).

Complete course of imiquimod use was 12 weeks (Fig. 4).

In 2 months after the treatment was complete the skin specimens were taken from 4 different parts of affected area by means of punch biopsy method in order to check quality of the therapy (Fig. 5). Pathohistologically the basal cell carcinoma signs were not detected in any specimen. During control examination of the patient in 6 and 12 months no signs of progression of the affected area or formation of new BCC were detected (Fig. 6)

## Discussion

Annual increase of number of the basal cell carcinoma new cases promotes the introduction of precise and re-

liable methods in patient examination algorithm. Clinical picture is rather unstable, thus, focusing only on examination of the patient it is possible to make errors in detection and further management of such patients.

If the signs of multiple BCC are revealed in young age it is necessary to perform differential diagnostics with genodermatoses. Gorlin-Goltz syndrome is inherited autosomal dominant disease for which (except for great number of BCC) the concomitant lesions of skeletal, central nervous, urogenital and cardiovascular systems are typical. Bazex-Dupre-Christol and Rombo syndromes are very rare nosologies [7].

Differential diagnostics of the basal cell carcinomas and tumours of hair follicles (trichoepitheliomas, trichoblastomas), squamous cell carcinomas, Merkel cell carcinomas is difficult both for clinical physicians and pathologists [8,9].

In order to improve diagnostic measures in addition to the visual assessment of neoplasms there are dermatoscopy and pathomorphological study which promote selection of not only well-grounded but personal scheme of treatment.

Assessment of dermatoscopic picture increases probability of establishing a correct diagnosis. The present non-invasive diagnostic method has sensitivity of 91.2 % and specificity of 94.8 % during examination of the basal cell carcinomas. Increase of the method sensitivity was registered in case when dermatoscopy was performed by skilled specialists based on personal dermatoscopy but not studying only the increased image of neoplasm [10]. Besides J. A. Aguilar et al. determined dermatoscopic patterns of the basal cell carcinoma which are predictors of clinical response for the therapy with imiquimod. Available focally located gray spots and multiple erosions up to 2 mm are the most typical BCC signs which have a good reaction on the local treatment [11].

The "gold standard" in BCC diagnostics is the pathomorphological study for determination of neoplasm type that is not only prognostic marker but also indicator of treatment method selection [12]. According to data of M. C. Cameron et al. 50–80 % of affected areas is the nodular type whereas 10–30 % is referred to the superficial basal cell carcinoma [13].

Selection of the treatment method depends on results of diagnostics and assessment of general state of the patient and availability of comorbid pathology. Thus, the first line of therapy is the standard surgical excision and Mohs surgery especially if high risk BCC subtype is available. According to data of C. H. Williams et al. five-year indicator of successful application of imiquimod in case of nodular and superficial variants made 82.5 % whereas for the surgery it made 97.7 % [14].

If the patient has low risk BCC or concomitant factors that is the contraindication for application of invasive methods the topical therapy will be used. For this treatment it is reasonable to use imiquimod, 5-fluorouracil locally or photodynamic therapy [15,16]. Jansen H. E., Maud et al. showed that possibility of absence of tumour in 5 years after treatment of superficial BCC for photodynamic therapy with methyl-aminolevulinic acid made 62.7 %, for imiquimod – 80.5 % and 70 % for 5-fluorouracil. The best indicator of efficiency is the therapy with use of topical

imiquimod [17]. Timely detection, diagnostics of the skin neoplasms is the basis for rational and reasonable selection of the treatment approach.

## Conclusions

1. Considerable spreading and variability of the clinical picture of basal cell carcinomas promotes formation of diagnostic algorithm for timely verification of diagnosis and selection of differential approach for the treatment.

2. The main components of diagnostic measures in case of BCC are thorough inspection of the affected area, dermatoscopic and pathomorphological observation.

3. Neglecting the neoplasm with significant affected area size the topical use of 5 % imiquimod is the effective alternative to invasive intervention for treatment of patients with the basal cell carcinoma that increases compliance between doctor and the patient.

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

Надійшла до редакції / Received: 16.03.2020  
Після доопрацювання / Revised: 30.04.2020  
Прийнято до друку / Accepted: 12.05.2020

## Information about authors:

Makurina H. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3293-2748](https://orcid.org/0000-0002-3293-2748)

Makarchuk O. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4031-2207](https://orcid.org/0000-0002-4031-2207)

Dmytrenko I. P., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-5865-1901](https://orcid.org/0000-0002-5865-1901)

Holovkin A. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-7873-6910](https://orcid.org/0000-0002-7873-6910)

Cherneda L. O., PhD-student of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3057-8685](https://orcid.org/0000-0002-3057-8685)

## Відомості про авторів:

Макуріна Г. І., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Макарчук О. І., д-р мед. наук, доцент каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Дмитренко І. П., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Головкін А. В., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Чернеда Л. О., очний аспірант каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Сведения об авторах:

Макурина Г. И., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Макачук А. И., д-р мед. наук, доцент каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Дмитренко И. П., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Головкин А. В., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Чернеда Л. А., очный аспирант каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### References

- Peris, K., Fargnoli, M. C., Garbe, C., Kaufmann, R., Bastholt, L., Seguin, N. B., Bataille, V., Marmol, V. D., Dummer, R., Harwood, C. A., Hauschild, A., Höller, C., Haedersdal, M., Malvehy, J., Middleton, M. R., Morton, C. A., Nagore, E., Stratigos, A. J., Szeimies, R. M., Tagliaferri, L., ... European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Dermato-Oncology (EADO) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (2019). Diagnosis and treatment of basal cell carcinoma: European consensus-based interdisciplinary guidelines. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 118, 10-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.06.003>
- Muzic, J. G., Schmitt, A. R., Wright, A. C., Alniemi, D. T., Zubair, A. S., Olazagasti Lourido, J. M., Sosa Seda, I. M., Weaver, A. L., & Baum, C. L. (2017). Incidence and Trends of Basal Cell Carcinoma and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Population-Based Study in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *Mayo Clinic proceedings*, 92(6), 890-898. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.02.015>
- Ukrainian cancer registry statistics. (2020). Rak v Ukraini, 2017-2018. Zakhvoriuvanist, smertnist, pokaznyky diialnosti onkolohichnoi sluzhby [Cancer in Ukraine, 2017-2018. Occupation, death, demonstration of oncological service]. *Bulletin of National Cancer Registry of Ukraine*, 20. [in Ukrainian]. [http://ncru.inf.ua/publications/BULL\\_20/index.htm](http://ncru.inf.ua/publications/BULL_20/index.htm)
- Asgari, M. M., Moffet, H. H., Ray, G. T., & Quesenberry, C. P. (2015). Trends in Basal Cell Carcinoma Incidence and Identification of High-Risk Subgroups, 1998-2012. *JAMA dermatology*, 151(9), 976-981. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2015.1188>
- Tang, S., Thompson, S., & Smea, R. (2017). Metastatic basal cell carcinoma: case series and review of the literature. *The Australasian journal of dermatology*, 58(2), e400e43. <https://doi.org/10.1111/ajd.12459>
- Elder, D. E., Massi, D., Scolyer, R. A., & Willemze, R. (2018). *Who classification of skin tumours*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Lang, B. M., Balermipas, P., Bauer, A., Blum, A., Brösch, G. F., Dirschka, T., Follmann, M., Frank, J., Frerich, B., Fritz, K., Hauschild, A., Heindl, L. M., Howaldt, H. P., Ihrler, S., Kakkassery, V., Klumpp, B., Krause-Bergmann, A., Löser, C., Meissner, M., Sachse, M. M., ... Grabbe, S. (2019). S2k Guidelines for Cutaneous Basal Cell Carcinoma – Part 1: Epidemiology, Genetics and Diagnosis. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*, 17(1), 94-103. <https://doi.org/10.1111/ddg.13733>
- Stanoszek, L. M., Wang, G. Y., & Harms, P. W. (2017). Histologic Mimics of Basal Cell Carcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 141(11), 1490-1502. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0222-ra>
- Kunz, M., Kerl, K., & Braun, R. P. (2018). Basal Cell Carcinoma Mimicking Desmoplastic Trichoepithelioma: A Case with Correlation of Dermoscopy and Histology. *Case reports in dermatology*, 10(2), 133-137. <https://doi.org/10.1159/000489164>
- Reiter, O., Mimouni, I., Gdalevich, M., Marghoob, A. A., Levi, A., Hodak, E., & Leshem, Y. A. (2019). The diagnostic accuracy of dermoscopy for basal cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80(5), 1380-1388. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.12.026>
- Aguilar, J. A., Garcés, M. H., Bayona, J. I. Y., Rodriguez, M. A., Ezquerro, I. M. D., & Aldecoa-Otalora, J. S. (2019). Dermoscopic signs as predictors of non-response to imiquimod treatment in superficial basal cell carcinoma. *Anales Del Sistema Sanitario De Navarra*, 42(3), 303-307. <https://doi.org/10.23938/assn.0722>
- Godoy, C., Neta, A., Leão, S., Dantas, R. L., Carvalho, V., & Silva, S. (2017). Evaluation of surgical margins according to the histological type of basal cell carcinoma. *Anais brasileiros de dermatologia*, 92(2), 226-230. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20175076>
- Cameron, M. C., Lee, E., Hibler, B. P., Barker, C. A., Mori, S., Cordova, M., Nehal, K. S., & Rossi, A. M. (2019). Basal cell carcinoma: Epidemiology; pathophysiology; clinical and histological subtypes; and disease associations. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80(2), 303-317. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.03.060>
- Williams, H. C., Bath-Hextall, F., Ozolins, M., Armstrong, S. J., Colver, G. B., Perkins, W., Miller, P., & Surgery Versus Imiquimod for Nodular and Superficial Basal Cell Carcinoma (SINS) Study Group (2017). Surgery Versus 5% Imiquimod for Nodular and Superficial Basal Cell Carcinoma: 5-Year Results of the SINS Randomized Controlled Trial. *The Journal of investigative dermatology*, 137(3), 614-619. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.10.019>
- Work Group, Invited Reviewers, Kim, J., Kozlow, J. H., Mittal, B., Moyer, J., Olencki, T., & Rodgers, P. (2018). Guidelines of care for the management of basal cell carcinoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 78(3), 540-559. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.10.006>
- Kebalo, D. I., Yermolova, V. I., Miroshnykova, N. P., Pashchenko, S. M., Zvantseva, O. D., Voloshyna, N. N., & Lashtabega, D. Y. (2016). Efektyvnist zastosuvannya fotodynamichnoi terapii z fotosensibilizatorom pry zakhvoriuvanni na bazalno-klitynni rak shkiry holovy [Effectiveness of the photodynamic therapy with photosensitizer for treatment of basal cell skin cancer located on the head]. *Zaporozhye Medical Journal*, (5), 84-88. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2016.5.82692>
- Jansen, M., Mosterd, K., Arits, A., Roozeboom, M. H., Sommer, A., Essers, B., van Pelt, H., Quaedvlieg, P., Steijnen, P. M., Nelemans, P. J., & Kelleners-Smeets, N. (2018). Five-Year Results of a Randomized Controlled Trial Comparing Effectiveness of Photodynamic Therapy, Topical Imiquimod, and Topical 5-Fluorouracil in Patients with Superficial Basal Cell Carcinoma. *The Journal of investigative dermatology*, 138(3), 527-533. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.09.033>



## Clinical cases of measles in pregnant women

O. V. Riabokon<sup>\*A,E,F</sup>, N. H. Izbytska<sup>B,C</sup>, S. O. Bilokobyla<sup>B,C,D</sup>, T. Ye. Onishchenko<sup>B,C</sup>,  
Yu. Yu. Riabokon<sup>C,E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

**The aim** of the work is to analyze the clinical course of measles in hospitalized pregnant women for the period of 2017–2019 years.

**Materials and methods.** The clinical course of measles was analyzed in 4 pregnant patients with this disease aged from 19 to 30 years, who were hospitalized in the Regional Infectious Clinical Hospital during 2017–2019 years. The diagnosis of measles was established according to the WHO criteria (2013). All pregnant women with measles had epidemiological history of contact with measles patients and in all cases diagnosis of measles was confirmed by detection measles IgM in the Zaporizhzhia Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine.

**Results.** It was found that in all pregnant women who were included in the study, measles developed in the third trimester of pregnancy, one patient was pregnant with twins. The development of measles was accompanied by the appearance of typical clinical symptoms with formation of moderate (n = 2) and severe (n = 2) course. One pregnant woman had never been vaccinated against measles during her lifetime; other three patients had no documented evidence of previous measles vaccination.

Most of the pregnant women (3 out of 4) had complications of measles from respiratory system: acute bronchitis (n = 1), acute bronchitis with pulmonary edema and respiratory failure of I–II degree (n = 1), community-acquired lower lobe right-sided pneumonia, left lung atelectasis, respiratory failure of III degree (n = 1).

Only in one 26-year-old pregnant measles had moderate course without complications. In two pregnant women development of complications needed treatment in the intensive care unit. In 30-year-old pregnant woman with twins with gestational age of 27–28 weeks from the first day of the rash, complications like measles enteritis appeared, and from the second day of the rash there were signs of acute respiratory failure due to development of pulmonary edema. On the background of complex medical treatment with use of oxygen therapy, patient recovered, pregnancy progressed without complications.

However, in one unvaccinated 25-year-old woman, who had not been vaccinated with measles, severe course of the disease was accompanied not only by the development of complications, but also had adverse effects on pregnancy. In this patient, measles was complicated by community-acquired right-sided pneumonia of group IV, left lung atelectasis, acute respiratory failure degree III, toxic-hypoxic encephalopathy and brain edema, which required mechanical ventilation. In addition, chronic hepatitis C was first diagnosed. Against this background, there was premature birth within 30 weeks.

**Conclusions.** According to analysis of four observations we can determine that measles in pregnancy has both moderate and severe course, but development of complications from respiratory system was recorded in the majority of patients (3 out of 4 patients). In severe cases of measles in pregnant women treatment in the intensive care unit was required due to development of pulmonary edema on the background of acute bronchitis in combination with measles enteritis (n = 1), community-acquired right-sided pneumonia in combination with left lung atelectasis (n = 1). The above clinical observation demonstrates the development of a very severe complicated course of measles in previously unvaccinated 25-year-old pregnant, which led to premature birth in the gestation period of 30 weeks.

### Key words:

measles in pregnant women, clinic, complications.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 269-274

**\*E-mail:**  
ryabokonzsnu@ukr.net

## Клінічні випадки кору у вагітних

O. V. Рябокoнь, Н. Г. Ізбицька, С. О. Білокобила, Т. Є. Оніщенко, Ю. Ю. Рябокoнь

**Мета роботи** – проаналізувати клінічний перебіг кору у госпіталізованих вагітних за період 2017–2019 рр.

**Матеріали та методи.** Проаналізували клінічний перебіг кору у 4 вагітних віком від 19 до 30 років. Пацієнтки госпіталізовані в Обласну інфекційну клінічну лікарню протягом 2017–2019 рр. Діагноз кору встановили за критеріями ВООЗ (2013). Усі вагітні, які хворі на кір, мали дані епідеміологічного анамнезу щодо контакту з хворими на кір; у всіх випадках діагноз кору був підтверджений виявленням IgM до вірусу кору в «Запорізькому обласному лабораторному центрі МОЗ України».

**Результати.** Встановили, що в усіх вагітних, які були залучені в дослідження, кір розвинувся в третьому триместрі вагітності, одна пацієнтка була вагітна двійнею. Розвиток кору супроводжувався появою типової клінічної симптоматики кору з формуванням середньотяжкого (n = 2) і тяжкого (n = 2) перебігу. Одна вагітна протягом життя жодного разу не була щеплена проти кору, інші 3 пацієнтки не мали документального підтвердження попередньої вакцинації проти кору.

У більшості вагітних (3 із 4) виявили ускладнення кору з боку респіраторної системи: гострий бронхіт (n = 1), гострий бронхіт із набряком легень і дихальною недостатністю I–II ступеня (n = 1), позагоспітальна правобічна нижньодольова пневмонія, ателектаз лівої легені, дихальна недостатність III ступеня (n = 1). Тільки в одній вагітній віком 26 років кір

### Ключові слова:

кір у вагітних, клініка, ускладнення.

**Патологія.** 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 269-274

мав середньотяжкий перебіг без ускладнень. Двоє вагітних унаслідок розвитку ускладнень потребували лікування в реанімаційному відділенні. У вагітної двійнею віком 30 років із терміном гестації 27–28 тижнів із першого дня висипки з'явилися ознаки такого ускладнення, як ентерит, а з другого дня висипки – ознаки гострої дихальної недостатності внаслідок розвитку набряку легень. На тлі комплексного медикаментозного лікування із застосуванням оксигенотерапії пацієнтка одужала, вагітність перебігала без ускладнень. Але в однієї нещепленої раніше проти кору пацієнтки віком 25 років тяжкий перебіг кору не лише супроводжувався розвитком ускладнень, але й мав несприятливі наслідки на перебіг вагітності. У цієї пацієнтки кір ускладнився позагоспітальною правосторонньою пневмонією IV групи, ателектазом лівої легені, гострою дихальною недостатністю III ступеня, токсико-гіпоксичною енцефалопатією, набряком головного мозку, що потребувало проведення штучної вентиляції легень. До того ж у неї вперше діагностували хронічний гепатит С. На цьому тлі відбулися передчасні пологи в термін 30 тижнів.

**Висновки.** За даними аналізу 4 спостережень можна стверджувати: кір у вагітних має і середньотяжкий, і тяжкий перебіг, але розвиток ускладнень з боку респіраторної системи зареєстрували в більшості хворих (3 із 4). При тяжкому перебігу кору вагітні потребували лікування в реанімаційному відділенні внаслідок розвитку набряку легень на тлі гострого бронхіту в комбінації з коровим ентеритом ( $n = 1$ ), позагоспітальної пневмонії справа в поєднанні з ателектазом лівої легені ( $n = 1$ ). Наведене клінічне спостереження демонструє розвиток крайній тяжкого ускладненого перебігу кору у нещепленої раніше вагітної віком 25 років, що призвело до передчасних пологів у термін гестації 30 тижнів.

**Ключевые слова:**  
корь у вагітних,  
клініка,  
осложнения.

**Патологія. 2020.**  
**Т. 17, № 2(49).**  
**С. 269-274**

## Клинические случаи кори у беременных

**Е. В. Рябоконт, Н. Г. Избицкая, С. А. Белокобыла, Т. Е. Онищенко, Ю. Ю. Рябоконт**

**Цель работы** – проанализировать клиническое течение кори у госпитализированных беременных за период 2017–2019 гг.

**Материалы и методы.** Проанализировали клиническое течение кори у 4 беременных в возрасте от 19 до 30 лет. Женщины госпитализированы в Областную инфекционную клиническую больницу в течение 2017–2019 гг. Диагноз кори устанавливали согласно критериям ВОЗ (2013). Все беременные, больные корью, имели данные эпидемиологического анамнеза контакта с больными корью. Во всех случаях диагноз кори подтвержден обнаружением IgM к вирусу кори в «Запорожском областном лабораторном центре Министерства здравоохранения Украины».

**Результаты.** Установлено, что у всех беременных, которые включены в исследование, корь развилась в III триместре беременности, одна пациентка была беременна двойней. Развитие кори сопровождалось появлением типичной клинической симптоматики с формированием среднетяжелого ( $n = 2$ ) и тяжелого ( $n = 2$ ) течения. Одна беременная за всю жизнь ни разу не была привита против кори, остальные 3 пациентки не имели документального подтверждения ранее проведенной вакцинации против кори.

У большинства беременных (3 из 4) отмечены осложнения кори со стороны дыхательной системы: острый бронхит ( $n = 1$ ), острый бронхит с отеком легких и дыхательной недостаточностью I–II степени ( $n = 1$ ), внегоспитальная правосторонняя нижнедолевая пневмония, ателектаз левого легкого, дыхательная недостаточность III степени ( $n = 1$ ). Только у одной беременной в возрасте 26 лет корь имела среднетяжелое течение без осложнений. Двое беременных вследствие развития осложнений нуждались в лечении в реанимационном отделении. У беременной двойней в возрасте 30 лет со сроком гестации 27–28 недель с первого дня сыпи появились признаки такого осложнения, как энтерит, а со второго дня сыпи – признаки острой дыхательной недостаточности в результате развития отека легких. На фоне комплексного медикаментозного лечения с применением оксигенотерапии пациентка выздоровела, беременность протекала без осложнений. У одной непривитой ранее против кори пациентки в возрасте 25 лет тяжелое течение кори не только сопровождалось развитием осложнений, но и имело неблагоприятные последствия на течение беременности. У этой пациентки корь осложнилась внегоспитальной правосторонней пневмонией IV группы, ателектазом левого легкого, острой дыхательной недостаточностью III степени, токсико-гипоксической энцефалопатией, отеком головного мозга, что требовало проведения искусственной вентиляции легких. К тому же у нее впервые диагностирован хронический гепатит С. На этом фоне произошли преждевременные роды в сроке 30 недель.

**Выводы.** По данным четырех наблюдений можно отметить, что корь у беременных имеет и среднетяжелое, и тяжелое течение, однако развитие осложнений со стороны дыхательной системы зарегистрировано у большинства больных (3 из 4). При тяжелом течении кори беременные нуждались в лечении в реанимационном отделении вследствие развития отека легких на фоне острого бронхита в сочетании с коревым энтеритом ( $n = 1$ ), внегоспитальной пневмонией справа в сочетании с ателектазом левого легкого ( $n = 1$ ). Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует развитие крайне тяжелого осложненного течения кори у непривитой ранее беременной в возрасте 25 лет, что привело к преждевременным родам в сроке гестации 30 недель.

Measles is one of the most contagious potentially fatal infectious diseases that can be completely prevented by timely vaccination. According to WHO, in 2017 year a significant increase in the incidence of measles in Europe was seen. In particular, in the first six months of 2019 year, almost 90 000 cases of measles were detected, which is higher than in whole of 2018 year, in which 84 000 cases of this infection were recorded. Ukraine

is in the top ten countries with the highest number of measles cases in 2018 year [1]. However, these years have seen a rise in measles rates in many countries, including the United States, Africa. The critical situation with measles has developed in the Philippines, in this country rate of population vaccination in different areas varies only within 30–60 % [1]. The current epidemic situation is characterized by a change in circulating viruses

genotypes with predominance of genotypes B3, D8, D9, in contrast to predominance of the D6 genotype fifteen years ago [2,3] and indicates a loss of control of infection due to disadvantages of immunoprophylaxis [1].

A significant feature of the current epidemic situation is prevalence of adult measles in the European region [4–6]. According to serological studies in Ukraine, the most vulnerable age group of adults were persons aged 16–30 years, of whom only 78.1 % had immunity against measles, which coincides with the high specific gravity of this age category among measles patients [7]. A population-based study of anti-measles immunity in pregnant women in Zaporizhzhya region showed that in the last 10 years only 60 % of pregnant women had antibodies against measles virus [8]. It is believed that the loss of post-vaccine anti-measles antibodies occurs in most adults for ten years after vaccination, which in modern epidemic conditions necessitates consideration of additional vaccination against measles exactly by adults [9]. An increase in the incidence of measles among adults leads to a higher incidence of the disease in pregnant women. Publications in recent years demonstrate risk of severe measles complications in pregnant women, which can lead to preterm birth or even stillbirth [10–12]. The above proves need to study the course of measles in pregnant women.

## Aim

To analyze the clinical course of measles in hospitalized pregnant women for the period of 2017–2019 years.

## Materials and methods

The study included 4 pregnant patients with measles, aged between 19 and 30 years old, who were hospitalized to inpatient unit of municipal institution “Regional Infectious Clinical Hospital” of Zaporizhzhia Regional Council during 2017–2019 years. The diagnosis of measles was established according to WHO criteria (2013) [13]. All pregnant with measles in epidemiological history had contact with measles patients and in all cases diagnosis was confirmed by the detection of measles virus in serological laboratory of the State Institution “Zaporizhzhia Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine”. All patients underwent traditional clinical laboratory studies, X-ray examination, blood testing for antibodies to human immunodeficiency virus and markers of viral hepatitis, all pregnant patients with measles were consulted by an obstetrician-gynecologist.

## Results

The results of the analysis showed that in all pregnant women who were included in the study, measles developed in the third trimester of pregnancy with a gestation period ranging from 27 to 32 weeks, one patient was pregnant with twins. The development of measles was accompanied by appearance of typical symptoms with the presence of a prodromal period from 1 to 5 days with catarrhal manifestations, appearance of scleroconjunctivitis, characteristic pathognomonic

enanthema in the form of Filatov–Koplik spots, a rash period with stages of profuse exanthema appearance of maculopapular nature, which had a confluent character and was accompanied by febrile fever. The course of the disease had both moderate ( $n = 2$ ) and severe ( $n = 2$ ) course. It should be noted that one pregnant woman was never vaccinated against measles during her lifetime, the other three patients could not provide any documentary evidence of measles vaccination previously performed.

Most of the pregnant women (3 out of 4) had complications of measles from the respiratory system: acute bronchitis ( $n = 1$ ), acute bronchitis with pulmonary edema and respiratory failure of I–II degree ( $n = 1$ ), community-acquired lower lobe right-sided pneumonia, left lung atelectasis, respiratory failure of III degree ( $n = 1$ ). Only in one pregnant woman L., 26 years old (inpatient card number 7820), measles had moderate course without complications with development of leukopenia –  $3.7 \times 10^9/l$ .

In one patient, 19 years old (inpatient card number 1055), moderate course of measles was complicated by acute bronchitis, which was accompanied by a leukemoid reaction with pronounced shift of leukocyte formula to the left with appearance of myelocytes – 1 %, metamyelocytes – 1 %, increase in stab forms up to 18 %, moderate thrombocytopenia –  $146 \times 10^9/l$ .

Two pregnant women with development of complications needed treatment in the intensive care unit. In pregnant C. with twins, 30 years old, with gestation period of 27–28 weeks (inpatient card number 2809), from the first day of the rash there was diarrhea up to 4 times a day, which testified development of complication such as enteritis, and from the second day of the rash, maculopapular exanthema was very abundant, shortness of breath appeared up to 42 in 1 minute at rest, auscultatory there was hard breathing with weakening in the lower lobes, decreasing of  $SaO_2$  saturation up to 93 %, pulmonary pattern intensification was revealed radiographically, vascular deformity, shallow drain shadows, the plethora of lung roots, which indicating development of pulmonary edema. In the hemogram of this patient development of leukemoid reaction was also noted with leukocytosis –  $11.7 \times 10^9/l$ , neutrophilosis – 97 % with toxic granularity of neutrophils, shift of leukoformula to the left with appearance of myelocytes – 1 %, metamyelocytes – 1 %, increase in stab forms up to 20 %, with development of severe lymphopenia – 2 %. In addition, a mononuclear reaction with a transient onset of 1 % of atypical mononuclear cells was recorded within three days. Oxygen therapy, combination of antibacterial therapy with intravenous cefepime and azithromycin, intravenous bioven and L-arginine were performed, followed by positive dynamics. The patient was discharged with recovery, pregnancy progressed without complications.

However, in one patient, severe course of measles was accompanied not only by the development of complications, but also adverse effects on the course of pregnancy. Thus, patient K., 25 years old (inpatient card number 7554), was admitted to infectious department on 12/21/2018 with complaints of fever up to  $39.2^\circ C$ ,

cough, shortness of breath, chest discomfort, pain in the eyeballs, skin rash.

From anamnesis of the disease it was known that she became ill on 12/16/2018 with fever within 39.0–39.5 °C, dry cough, pain in the eyeballs. These symptoms persisted for four days, due to which on 12/19/2018 patient sought medical attention and was hospitalized with diagnosis of “acute respiratory viral infection” at the Regional Perinatal Center, since patient was pregnant with a gestation period of 30 weeks. Radiologically, it was diagnosed community-acquired lower lobe right-sided pneumonia, which was regarded as a complication of influenza. Antiviral treatment with oseltamivir 150 mg 2 times a day, oxygen therapy in the mask mode were prescribed, antibacterial therapy was carried out intravenously with azithromycin, meropenem, symptomatic therapy. In the evening of 12/20/2018, large maculopapular rash appeared on the face skin, patient’s condition worsened significantly due to increase signs of endotoxemia, appearance of toxic encephalopathy, respiratory failure of II degree, which was characterized by rapid increase of breathlessness to 40 per 1 minute, decrease of SaO<sub>2</sub> from 98 to 93 %, despite constant masked oxygen therapy. Given the appearance of characteristic rash, the presence of positive symptom of Filatov–Koplik in pregnant woman “Measles, period of rash, severe course, complicated by community-acquired lower lobe right-sided pneumonia with respiratory failure II degree” was diagnosed.

The patient was immediately transferred to the intensive care unit of the Regional Infectious Clinical Hospital at night of 12/21/2018. On examination, condition of pregnant patient was extremely severe: body temperature – 38.5 °C, expressed phenomena of toxic-hypoxic encephalopathy (episodes of inhibition were replaced by aggressive behavior), profuse maculopapular lesions on the skin of face, breast, shoulders, swelling of the face, severe scleroconjunctivitis, held hemodynamics independently (blood pressure – 110/70 mmHg, heart rate 115 per minute). The condition of the patient rapidly deteriorated due to progression of respiratory failure signs: respiratory rate increased up to 48 per minute, SaO<sub>2</sub> decreased to 90 %, cyanosis of the lips appeared, auscultatory breathing was weakening in the lower sections on both sides. Given the increase in respiratory failure to grade II–III, patient was transferred to mechanical ventilation (MV), against which SaO<sub>2</sub> increased up to 99 %. History data were clarified by relatives: contact with measles patient about two weeks ago, pregnant with measles was not vaccinated at all. As a result of laboratory data at hospitalization: anemia (Er –  $3.89 \times 10^{12}/l$ , Hb – 105 g/l), leukocytosis –  $10.8 \times 10^9/l$ , neutrophilia – 89 %, stab shift – 18 %, lymphopenia – 8 %, ESR acceleration – 57 mm/h, platelets – within the norm  $363 \times 10^9/l$ ; liver tests indicators in analysis were within reference values, despite the first diagnosed hepatitis C “anti-HCV+”, diagnosis of influenza was excluded laboratory in blood test by polymerase chain reaction, the study on anti-HIV gave a negative result.

In the intensive care unit on 12/21/2018, X-ray examination was repeated: in the projection of the lower lobe of right lung infiltration of lung tissue was present. The use of oseltamivir was stopped, antibacterial

therapy was prolonged, lasolvan, intravenous biovenes, glucocorticosteroids in dose 2 mg/kg were administered.

On 12/22/2018 SaO<sub>2</sub> was suddenly reduced to 93 %, auscultatory left breathing was practically absent, in connection with that X-ray examination was carried out: total left lung atelectasis, right-side lower lobe pneumonia, Th5 level of intubation tube. Bronchoscopy was performed for the purpose of sanitation. When conducting bronchoscopy, mucous membrane of trachea is hyperemic with fibrinous coating in the lower part of trachea, mucous membrane of the right and left bronchi is hyperemic, edematous, injected with fibrinous coating, mucous membrane of the lobar and segmental bronchi is diffusely edematous, mucopurulent secretion without blood impurities was determined, sanitized with saline carried out, in conclusion: bilateral endobronchitis of I–II degree. After rehab bronchoscopy, respiration in the left lung was restored, SaO<sub>2</sub> increased up to 98 %. The pregnant patient was examined by an obstetrician-gynecologist, fetal heartbeat – rhythmic, 136–142 per 1 min, with a cardiographic monitoring Fischer score of 8 points.

12/23/2018 at 14.00 genital mucous-bloody discharge appeared. When examined by an obstetrician-gynecologist: uterus comes into tone, fetal position is longitudinal, heartbeat of the fetus is 150 per 1 minute, light amniotic fluid is flowing, opening of the cervix is 5 cm, there is no fetal bladder, head is present. The decision was made to give birth conservatively, actively to give birth in the third period with using of oxytocin. At 19.45, a live premature baby girl weighing 1560 g was born, with Apgar score of 4–5 points. When examined by a neonatologist, condition of the child is severe due to cardio-respiratory and neurological disorders, during auscultation crepitation was found in the lungs, prematurity of 30 weeks, the child is transferred to MV.

After childbirth correction of antibacterial therapy was performed: metronidazole was administered intravenously at 500 mg 3 times a day, vancomycin 1.0 g 2 times a day, continued with meropenem. During laboratory control on 12/24/2018 intensification of anemia (Er –  $3.1 \times 10^{12}/l$ , Hb – 97 g/l), reduction of leukocytosis –  $9.4 \times 10^9/l$ , recovery of leukopoietic indices were determined: stab neutrophils – 4 %, lymphocytes – 29 %, remaining accelerated ESR – 57 mm/h; indicators of liver and functional kidney tests were within reference values.

Before 12/27/2018 patient was on the MV, SaO<sub>2</sub> was 96 %, radiologically with repeated control there was occurrence of certain positive dynamics: left lung normal size without pathology, right-side in projection of the lower lobe infiltration of lung tissue was determined, intubation tube at the Th3 level. However, in hemogram from 12/27/2018 transient increase of anemia (Er –  $2.8 \times 10^{12}/l$ , Hb – 82 g/l), development of leukemoid reaction with increase of leukocytosis up to  $11.7 \times 10^9/l$ , appearance of myelocytes – 1 %, metamyelocytes – 1 %, increased stab neutrophils up to 8 %, the appearance of toxic granularity of neutrophils were determined. In addition, there was occurrence of atypical mononuclear cells within two days in the amount of 1–2 %. The liver and functional kidney tests remained within normal range.

On 12/27/2018 MV was stopped. The patient’s condition was severe, respiratory rate 22 per 1 minute,

SaO<sub>2</sub> within 94–95 % with masked oxygen therapy, hemodynamics stable (blood pressure 110/70 mmHg, heart rate 68 per 1 min), patient was in the mind, executing commands, Glasgow score 12 points, auscultatory breathing was hard on both sides.

From 12/28/2018 to 12/31/2018, the patient's condition is stably severe, respiratory rate – 16 per 1 minute, SaO<sub>2</sub> – within 95–96 % with masked oxygen therapy, without oxygen therapy – 94 %. Auscultation in the lower lungs indicates scattered wheezing. Hemodynamics are stable. The X-ray examination on 12/28/2018 showed the infiltration of lung tissue persisting in the projection of right lower lobe. The diagnosis of measles was confirmed by the release of IgM to measles virus (№ 203 dated 12/28/2018).

Final diagnosis: "Measles (IgM to measles virus positive), typical form, severe course. Community-acquired right-sided pneumonia, group IV. Left lung atelectasis. Acute respiratory failure III degree. Toxic-hypoxic encephalopathy. Brain edema. Pregnancy I, 30 weeks, childbirth I. Chronic hepatitis C (anti-HCV +) is first established". The patient was transferred to the pulmonology department of the Regional Clinical Hospital for further treatment on 12/31/2018.

Thus, the above clinical observation demonstrates the development of very severe complicated course of measles in previously unvaccinated 25-year-old pregnant, which led to premature birth at the gestation period of 30 weeks.

## Discussion

Many authors, considering and analyzing the complications of measles, highlight a special subgroup of adults – pregnant women. In pregnancy there is a potentiation of two conditions that lead to immunosuppression, in which on the one hand there is measles anergy, on the other – physiological gestational immunosuppression [14, 15]. An important component of keeping pregnant women and women planning pregnancy is to determine the intensity of anti-measles immunity. In study [16], 21.5 % (120 of 559) pregnant women were seronegative. In addition, it has been observed that with increasing gestational age, the number of seronegative results in infections such as measles and rubella increases [1].

Over the past few years in the modern literature, a number of publications have been published on the analysis of measles in pregnant women as a result of the recent epidemic rise of measles. Thus, according to the results of French researchers [17], during the epidemic rise of measles in Lyon, 13 cases of measles were registered in pregnant women, and every third patient had the disease complicated by pneumonia (4 – 30.8 %), but all of them gave birth to healthy newborns.

The most comprehensive analysis of clinical data on the course of measles in pregnant women is reported in the publications of Sudanese [18] and Namibian [19] researchers. These studies deserve special attention because they demonstrate a high incidence of measles complications and birth outcomes in pregnant measles patients, the vast majority of whom have not been vaccinated. In the study by A. A. Ali et al. [18] the course

of measles and childbirth in 53 pregnant women, of whom only 19.7 % had previously received vaccinations against this infection, are analyzed. The maternal mortality rate among pregnant women with measles reached 18.0 % (11 out of 53), most often due to the development of pneumonia (n = 9), as well as encephalitis (n = 1), intracranial hemorrhage (n = 1). At the same time, in every fourth pregnant woman measles had a negative impact on pregnancy and led to abortions (6 – 11.3 %), premature births (4 – 7.5 %), stillbirths (3 – 5.7 %).

In the study of I. U. Ogbuanu et al. [19] the course of laboratory confirmed measles cases in 55 pregnant women, who were treated in 6 Namibian clinical institutions, was analyzed. Most pregnant women (67 %) who had measles did not have data on previous vaccinations. This study demonstrated a high incidence of complications in pregnant patients with measles, namely diarrhea (60 %), pneumonia (40 %), encephalitis (5 %). A comparison of the course of pregnancy in women with measles and pregnant women without measles made by researchers [19] showed that measles probably increases the risk of having a child with a low body weight, involuntary abortion, fetal death, and maternal mortality. The mortality rate among pregnant women with measles was 9.3 %, due to complications of both measles and pregnancy. Authors reported signs of congenital measles in 1 (3.0 %) newborn who was born prematurely at 32 weeks and died on the 15<sup>th</sup> day due to lung damage. It is believed that measles virus has no teratogenic effect, but it does not rule out the possibility of damage to central nervous system and development of cardiovascular complications of inflammatory nature [10].

## Conclusions

According to analysis of four observations we can determine that measles in pregnant women has both moderate and severe course, but development of complications from the respiratory system was recorded in the majority of patients (3 out of 4). In the presence of measles complications by the respiratory system, changes in the hemogram of pregnant patients were characterized by leukocytosis, expressed neutrophilosis with a shift of the leukocyte formula to the left, development of leukemoid reaction (n = 3), mononuclear reaction (n = 2), transient thrombocytopenia. The above clinical observation demonstrates the development of very severe complicated course of measles in an unvaccinated 25-year-old pregnant woman, which led to preterm birth at 30 weeks of gestation.

**Prospects for further research.** In our opinion, the promising direction of this research is the in-depth study of measles immunopathogenesis characteristics in pregnant women.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.02.2020  
Після доопрацювання / Revised: 25.02.2020  
Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2020

**Information about authors:**

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

Izbytska N. H., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Bilokobyla S. O., MD, Assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Onishchenko T. Ye., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

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

**Відомості про авторів:**

Рябоконе О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Ізбицька Н. Г., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Білокобила С. О., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Оніщенко Т. Є., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Рябоконе Ю. Ю., д-р мед. наук, професор каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Сведения об авторах:**

Рябоконе Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Избицкая Н. Г., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Белокобыла С. А., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Онищенко Т. Е., канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Рябоконе Ю. Ю., д-р мед. наук, профессор каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**References**

- Zadorozhna, V. I., Marychev, I. L., Protsap, O. I. & Bryzhata, S. I. (2019). Epidemichna sytuatsiia po zakhvorivuvani na kir v Ukraini u 2017-2018 r.r. [Epidemic situation of measles incidence in Ukraine in 2017-2018 r.r.]. *Infectious diseases of modern times: etiology, epidemiology, diagnosis, treatment, prevention, biological safety*. Materials of Scientific and Practical Conference (pp. 76-79). Kyiv. [in Ukrainian].
- Kramarov, S. O., Yevtushenko, V. V., Kovalyukh, I. Yu., Kaminska, T. M., & Golovach, O. V. (2018). Klinichna kartyna koru v ditei, hospitalizovanykh pid chas spalakhu 2017-2018 rr. [Clinical features of measles in children hospitalized during 2017-2018 outbreak]. *Aktualna infektologia – Actual infectology*, 6(5), 55-60. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.5.2018.146773>
- Rota, P. A., Brown, K., Mankertz, A., Santibanez, S., Shulga, S., Muller, C. P., ... Featherstone, D. (2011). Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology. *Journal of Infectious Diseases*, 204(Suppl. 1). <https://doi.org/10.1093/infdis/jir118>
- Werber, D., Hoffmann, A., Santibanez, S., Mankertz, A., & Sagebiel, D. (2017). Large measles outbreak introduced by asylum seekers and spread among the insufficiently vaccinated resident population, Berlin, October 2014 to August 2015. *Eurosurveillance*, 22(34), 6-13, Article 30599. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2017.22.34.30599>
- Grammens, T., Schirvel, C., Leenen, S., Shodu, N., Hutse, V., da Costa, E. M., & Sabbe, M. (2017). Ongoing measles outbreak in Wallonia, Belgium, December 2016 to March 2017: characteristics and challenges. *Eurosurveillance*, 22(17), 5-9, Article 30524. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2017.22.17.30524>
- Pavlenova, O. Yu., Ushenina, L. A., Ryabokon, E. V., Mashko, O. P., Furik, E. A., Ushenina, N. S., Savelyev, V. G., Onishchenko, T. E., & Firyulina, O. M. (2013). Osoblyvosti zmin pokaznykiv funkcionalnoho stanu vehetatyvnoi nervovoi systemy u khvorykh na kir [Peculiarities of changes of autonomic nervous system functional state in patients with measles]. *Zaporozhye Medical Journal*, (2), 39-41. [in Ukrainian].
- Moyseyeva, A. V., Zadorozhna, V. I., Demchyshyna, I. V., & Novyk, L. V. (2010). Monitoryng populatsiinoho imunitetu proty koru naselennia Ukrainy [Monitoring of population's immunity is against measles of population in Ukraine]. *Infektsiini khvoroby*, (3), 5-13. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2010.3.671>
- Usachova, O. V., Silina, Ye. A., Pakholchuk, T. N., Konakova, O. V., Dralova, O. A., Puhir, V. P., Firyulina, O. M., & Zelenukhina, E. V. (2019). Kir – kerovana infektsiia! Deaki epidemiolohichni paradyhmy koru u Zaporizkii oblasti [Measles – controlled infection! Some epidemiological paradigm of measles in Zaporizhzhia region]. *Sovremennaya Pediatriya*, (1), 13-18. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/SP.2019.97.13>
- Timchenko, V. N., Kaplina, T. A., Bulina, O. V., Leonicheva, O. A., Khakizimana, Zh. K., & Timofeeva, E. V. (2017). Aktual'nye problemy korevoi infektsii [Actual problems of measles infection]. *Pediatriya*, 8(3), 120-129. [in Russian]. <https://doi.org/10.17816/PED83120-129>
- Demenina, N. K., & Ishchenko, H. I. (2018). Vplyv infektsii koru na vaitnist ta metody profilaktyky (ohliad literatury) [Influence of measles on pregnancy and prevention methods (a literature review)]. *Perinatologiya i pediatriya*, (1), 80-83. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/PP.2018.73.83>
- Trykhlub, V. I., Shchur, A. B., Hrushkevych, V. V., Hryshyn, O. S., Pavlovska, M. O., Musienko, T. I., Muzyka, H. A., Ralets, N. V., Dudar, D. M., & Kozachenko, L. V. (2018). Osoblyvosti klinichnykh proiaviv ta perebihu koru [Features of clinical manifestations and course of measles]. *Aktualna infektologia*, 6(3), 36-47. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.3.2018.136647>
- Yasunaga, H., Shi, Y. J., Takeuchi, M., Horiguchi, H., Hashimoto, H., Matsuda, S., & Ohe, K. (2010). Measles-related Hospitalizations and Complications in Japan, 2007-2008. *Internal Medicine*, 49(18), 1965-1970. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.49.3843>
- World Health Organization. (2012). Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region. Geneva: WHO.
- Hnatyuk V. V., & Pokrovska T. V. (2015). Uskladnennia koru v ditei i doroslykh [Complications of measles in children and adults]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk*, 19(2), 48-51. [in Ukrainian].
- Shostakovych-Koretsraya, L. R., Mavrutenkov, V. V., Cherhinet, A. V., Budayeva, I. V., Yakunina, O. M., & Chykarenko, Z. A. (2013). Kir (lektsiia, prodovzheniia) [Measles (lecture, continued)]. *Medychni perspektvy*, 18(3), 4-15. [in Ukrainian].
- Nozdracheva, A. V., Semenenko, T. A., Mardany, S. G., & Rotanov, S. V. (2017). Otsenka napryazhennosti gumoral'nogo imuniteta k kori i krasukhe u beremennykh zhenshchin v Moskve [Evaluation of intensity of humoral immunity to measles and rubella in pregnant women in Moscow]. *Zhurnal mikrobiologii*, (3), 91-98. [in Russian].
- Casalegno, J. S., Huissoud, C., Rudigoz, R., Massardier, J., Gauchetrand, P., & Mekki, Y. (2014). Measles in pregnancy in Lyon France, 2011. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 126(3), 248-251. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2014.03.021>
- Ali, A. A., Abdelhameed, O., & Abdallah, T. M. (2014). Case-fatality rate associated with measles during pregnancy in Kassala, eastern Sudan. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 124(3), 261-262. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.09.015>
- Ogbuanu, I. U., Zeko, S., Chu, S. Y., Muroa, C., Gerber, S., De Wee, R., Kretsinger, K., Wannemuehler, K., Gerndt, K., Allies, M., Sandhu, H. S., & Goodson, J. L. (2014). Maternal, Fetal, and Neonatal Outcomes Associated With Measles During Pregnancy: Namibia, 2009-2010. *Clinical Infectious Diseases*, 58(8), 1086-1092. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu037>

## Етапна хірургічна тактика в лікуванні аспергіломи легень

Я. В. Телушко<sup>A,D</sup>, В. І. Перцов<sup>E,F</sup>, С. І. Савченко<sup>B,C</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

**Мета роботи** – описати клінічний випадок аспергіломи легень з етапною хірургічною тактикою лікування.

Хірургічне лікування аспергіломи доцільне у випадку неефективної медикаментозної терапії та небезпечних для життя ускладнень. Високий ризик розвитку хірургічних ускладнень на тлі імунodefіцитного стану різного походження може стати перешкодою для радикального втручання. Перебіг аспергілози може істотно обмежити здатність компенсувати фонові захворювання, як-от цукровий діабет. Наведено випадок етапного підходу в передопераційній підготовці пацієнта з важким цукровим діабетом та аспергіломою. На першому етапі виконали відеоасистовану торакоскопію аспергіломи з гістологічним дослідженням, евакуацією детриту та міцелію трансторакальним дренажем та місцевим лікуванням, що сприяло компенсації діабету. На другому етапі виконана стандартна нижня лобектомія та післяопераційна медикаментозна терапія протигрибковими препаратами. Проаналізували результати спостереження до 2 років після лікування зі сприятливим перебігом.

**Висновки.** Аспергілома – одна із форм аспергілози, що потребує хірургічного лікування. Відсутність ефективної корекції супутніх захворювань може бути перешкодою одномоментному втручання з огляду на високий ризик розвитку хірургічних ускладнень. Застосування відеоторакокопії в діагностиці та етапному лікуванні цієї патології доцільне завдяки мінімальній травматичності втручання, що можна використати для передопераційної підготовки та отримання позитивних результатів радикального лікування в цих хворих.

**Ключові слова:**  
аспергілома  
легень, хірургічне  
лікування,  
відеоасистована  
торакоскопія.

**Патологія.** 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 275-278

\*E-mail:  
[yv\\_telushko@ukr.net](mailto:yv_telushko@ukr.net)

## Stage surgical tactics in the treatment of pulmonary aspergilloma

Ya. V. Tielushko, V. I. Pertsov, S. I. Savchenko

**Purpose.** To describe the clinical case of pulmonary aspergilloma with step-by-step surgical treatment.

Surgical treatment of aspergilloma is justified in the case of ineffective drug therapy and life-threatening complications. The high risk of developing surgical complications on the background of immunodeficiency of different origins may be an obstacle to radical intervention. The course of aspergillosis can significantly limit the ability to compensate for background diseases such as diabetes. The case of a stage approach in preoperative preparation of a patient with severe diabetes mellitus and aspergilloma is presented. In the first stage, a video-assisted thoracoscopy of aspergilloma was performed with histological examination; evacuation of detritus and mycelium by transthoracic drainage and topical diabetes treatment. In the second stage: standard lower lobectomy and postoperative drug therapy with antifungal drugs. Observations up to 2 years after treatment with favorable course are analyzed.

**Conclusions.** Aspergilloma is one form of aspergillosis that requires surgical treatment. Lack of effective correction of comorbidities may be an obstacle to one-step intervention because of the high risk of surgical complications. The use of video thoracoscopy in the diagnosis and stage treatment of this pathology is appropriate due to the minimal trauma of the intervention, which can be used for preoperative preparation and to obtain good results of radical treatment in this category of patients.

**Key words:**  
pulmonary  
aspergillosis,  
surgery treatment,  
video-assisted  
thoracoscopy.

**Pathologia**  
2020; 17 (2), 275-278

## Этапная хирургическая тактика в лечении аспергилломы легких

Я. В. Телушко, В. И. Перцов, С. И. Савченко

**Цель работы** – описать клинический случай аспергилломы легких с этапной хирургической тактикой лечения.

Хирургическое лечение аспергилломы оправдано в случае неэффективной медикаментозной терапии и опасных для жизни осложнений. Высокий риск развития осложнений операции на фоне иммунодефицита различного происхождения может быть препятствием для радикального вмешательства. Течение аспергиллеза ограничивает возможности компенсировать фоновые заболевания, такие как сахарный диабет. Описан случай этапного подхода в предоперационной подготовке пациента с тяжелым сахарным диабетом и аспергилломой. На первом этапе выполнили видео-ассистированную торакоскопию аспергилломы с гистологическим исследованием, эвакуацию детрита и мицелия трансторакальным дренажом, местное лечение, что способствовало компенсации диабета. На втором этапе проведена стандартная нижняя лобэктомия и послеоперационная медикаментозная терапия противогрибковыми препаратами. Проанализированы результаты наблюдения до 2 лет после лечения с благоприятным течением.

**Выводы.** Аспергиллома – одна из форм аспергиллеза, которая требует хирургического лечения. Отсутствие эффективной коррекции сопутствующих заболеваний может быть препятствием одномоментному вмешательству, учитывая высокий риск развития хирургических осложнений. Применение видеоторакокопии в диагностике и этапном лечении данной патологии целесообразно благодаря минимальной травматичности вмешательства, что можно использовать для предоперационной подготовки и получения хороших результатов радикального лечения у таких больных.

**Ключевые слова:**  
аспергиллома  
легких,  
хирургическое  
лечение, видео-  
ассистированная  
торакоскопия.

**Патология.** 2020.  
Т. 17, № 2(49).  
С. 275-278

Інфікування грибами роду *Aspergillus* особливо небезпечне для хворих з імунодефіцитними станами різного походження [1]. На відміну від інвазивного аспергілозу, де пріоритетом у лікуванні є тривала протигрибкова терапія, так званий сапрофітний, або колонізаційний синдром аспергіломи легень має показання до хірургічного лікування [2].

Діагностика захворювання базується на характерній клінічній картині, променевих і серологічних методах [3]. Ризик помилкового диференційного діагнозу з нетуберкульозною мікобактеріальною інфекцією зумовлений схожою рентгенологічною картиною («дерево з бруньками», «вуса» і порожнини) [4]. Морфологічне підтвердження діагнозу необхідне, враховуючи високу токсичність і необхідність тривалої протигрибкової терапії [5].

### Мета роботи

Описати клінічний випадок аспергіломи легень з етапною хірургічною тактикою лікування.

### Клінічний випадок

Хворий Б., 38 років, який з дитинства був на диспансерному обліку в ендокринолога з приводу цукрового діабету, звернув увагу на відсутність ефекту від звичайних доз інсуліну (14–16 ОД на добу) зі збільшенням глікемії до 24–26 ммоль/л. Під час огляду звернув увагу на наявність кров'яних прожилок у харкотинні впродовж тижня, підвищення температури тіла до 38,5 °С. Стаж паління – 14 пачко-років. Працює слюсарем на металургійному підприємстві.

Рентгенографія органів грудної порожнини показала наявність округлої форми тіні у проєкції С6 лівої легень діаметром до 6 см із фокусом деструкції легеневої тканини та дрібними (3–5 мм) вогнищевими тінями в С1 та С3 лівої легень.

Для обстеження та лікування хворого направили у протитуберкульозний диспансер. Виконали поліосьову рентгенографію, рентгенівську томографію, спіральну КТ грудної клітки, фібробронхоскопію з цитологічним дослідженням браш-біоптату, полімеразну ланцюгову реакцію, мікроскопію та засів харкотиння для виявлення мікобактерій туберкульозу, пробу Манту. У загальному аналізі крові виявили лейкоцитоз зі зміщенням формули ліворуч, гіпохромну анемію.

За даними променевих методів діагностики (рис. 1, 2), у С6 лівої легень наявна порожнина деструкції легеневої тканини до 6 см овальної форми з секвестром всередині та інфільтративними змінами навколо до 1 см завтовшки, дрібні інфільтративні тіні до 8 мм в С1 та С3 лівої легень; помірна лімфаденопатія середостіння (до 12–14 мм).

Після виключення туберкульозної інфекції хворий звернувся до торакального хірурга. З огляду на клінічну картину: кашель із кровохарканням, кулястоподібне утворення з тканинним вмістом на дні, що змінює своє положення, ознаки інтоксикації та фонове захворювання (цукровий діабет), – попередній діагноз встановлено як аспергілома лівої легень. Цілі передопераційної підготовки: корекція анемії, антибактеріальна терапія,

компенсація глікемії, дезінтоксикація. Незважаючи на інтенсивне лікування, консервативна терапія не зменшувала прояви інтоксикації та не сприяла компенсації глікемії.

Радикальне оперативне втручання в обсязі нижньої лобектомії мало високий ризик післяопераційних ускладнень через наявний активний запальний процес, що не піддавався корекції, та лабільний перебіг цукрового діабету. Передусім йшлося про гнійно-запальні процеси (емпієма плеври, неспроможність кукси бронха, бронхплевральна норичя, ускладнення з боку післяопераційної рани). Невирішеним залишалося питання щодо морфологічного підтвердження діагнозу. Враховуючи такі обставини, необхідним було виконання відеоабсцесоскопії з біопсією легень та дренажуванням порожнини, наступне місцеве лікування і системне протизапальне лікування, інсулінотерапія.

**Методика оперативного втручання.** Відеоабсцесоскопія виконана за 2-портовою схемою з введенням 5 мм оптики та 5 мм інструментального порту в порожнину утворення. Підтримання анестезії забезпечувалося паравертебральною блокадою міжреберних нервів до розтину шкіри, внутрішньовенною седацією зі спонтанною вентиляцією легень з правого боку. Фрагменти внутрішньої стінки порожнини передані для гістологічного дослідження. Порожнина звільнена від дрібних фрагментів міцелію, детриту та залишені дренажі для місцевого лікування. Періопераційне знеболення виконали за схемою мультимодальної анестезії.

Морфологічний висновок щодо біоптату легень: у препаратах нативних і забарвлених тканин наявний клітинний детрит та елементи пліснявого гриба *Aspergillus* (рис. 3).

Післяопераційне лікування протягом 10 діб мало позитивну тенденцію: нормалізувалися показники інтоксикації, щоденна потреба в інсуліні істотно зменшилася, а глікемія скоротилася до 10–12 ммоль/л і була стабільнішою впродовж доби. Місцеве лікування через дренаж із застосуванням антисептиків дало змогу видалити з порожнини міцелій і гнійні виділення від вторинного інфікування. Критерії переходу до наступного етапу: позитивна динаміка показників запальної відповіді (температурна реакція, лейкоцитоз, ШОЕ, СРБ), субкомпенсація глікемії, відсутність ексудації по дренажу з порожнини аспергіломи.

Сприятлива динаміка лікування діабету створила передумови до радикального оперативного втручання: торакотомії зліва, нижньої лобектомії, атипової резекції С1 лівої легень. Післяопераційний період минув без ускладнень, хворий виписаний для амбулаторного відновлення на 16 добу після операції. Згодом повернувся до попереднього місяця роботи. Приймання протигрибкових препаратів (інтраконазол) тривав до 3 місяців після оперативного втручання. Контрольна рентгенографія в цей час не показала прогресування захворювання, а інфільтративні тіні малих розмірів у верхній долі лівої легень зникли під впливом лікування.

Через 8 та 14 місяців після операції пацієнт звертався з клінічною картиною обмеженого плевриту: вперше отримував консервативне лікування з плевральними пункціями, вдруге була виконана віде-



оторакоскопія з біопсією плеври, видаленням стінок залишкової порожнини та її дрениванням. У матеріалі біоптату плеври встановили хронічний неспецифічний плеврит без мікотичного ураження. Неспецифічна протизапальна, антибактеріальна терапія та місцеве лікування протягом 18 днів ліквідували ексудацію та залишкову порожнину.

Загальний строк спостереження за хворим становить 2 роки. Визначили, що хворий не потребував повторних курсів протигрибкового лікування, в нього не було ознак системного аспергілозу; працює за фахом.

## Обговорення

Системний аспергілоз – важка грибкова інфекція, що найчастіше виникає на тлі імунodefіцитних станів різного походження (у хворих на ВІЛ, туберкульоз); у пацієнтів, які отримують імуносупресивну терапію, глюкокортикоїди; у реципієнтів внутрішніх органів тощо [1,3,5]. Лікування в таких випадках стає складною проблемою, враховуючи невелику кількість зареєстрованих в Україні системних протигрибкових препаратів та часті побічні ефекти. Сприятливіший перебіг мають так звані сапрофітні та колонізувальні синдроми (аспергілома, хронічний легеневий порожнинний аспергілоз, алергічний риніт або алергічний бронхопультмональний аспергілоз). Але таке життєво небезпечне ускладнення, як кровотеча диктує необхідність своєчасного хірургічного лікування.

Хірургічне лікування, необхідне у випадку розвитку аспергіломи, призводить до одужання хворого. Втім і при хронічному легеневому порожнинному, і при бронхопультмональному аспергілозі хірургічне лікування може мати численні ускладнення післяопераційного періоду [5,6]. Отже, підготовка до оперативного втручання та профілактика хірургічних ускладнень мають важливе значення у прогнозі лікування хворого.

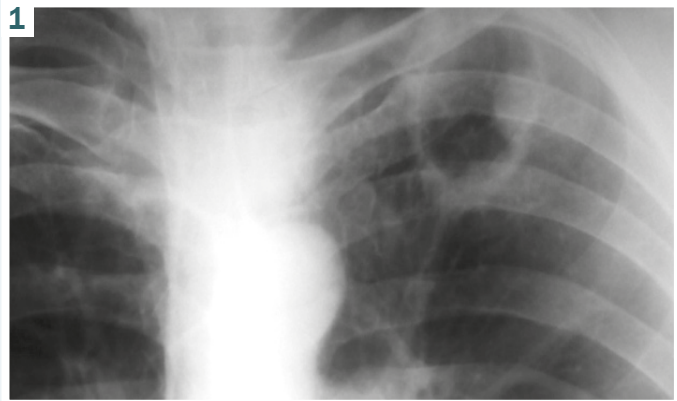
Виконання етапних, передусім малоінвазивних втручань дало змогу здійснити діагностику захворювання, підготувати хворого до радикальної операції з передопераційною компенсацією фонові патології (цукрового діабету), ліквідувати ускладнення, що виникли через тривалий час, і виключити рецидив захворювання, який потребував би повторного курсу системної протигрибкової терапії.

## Висновки

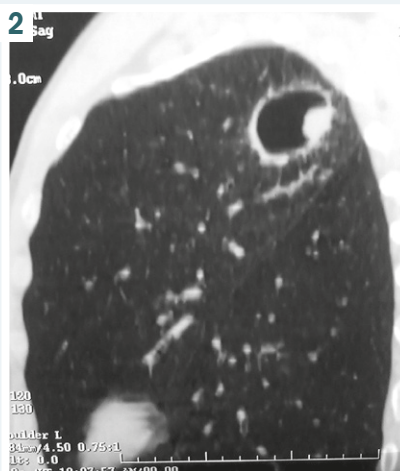
Аспергілома – одна з форм аспергілозу, що потребує хірургічного лікування. Відсутність ефективної корекції супутніх захворювань може бути перешкодою одномоментному втручання, зважаючи на високий ризик розвитку хірургічних ускладнень. Застосування відеоторакоскопії в діагностиці та етапному лікуванні цієї патології доцільне завдяки мінімальній травматичності втручання, що можна використати для передопераційної підготовки та отримання гарних результатів радикального лікування у цих хворих.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

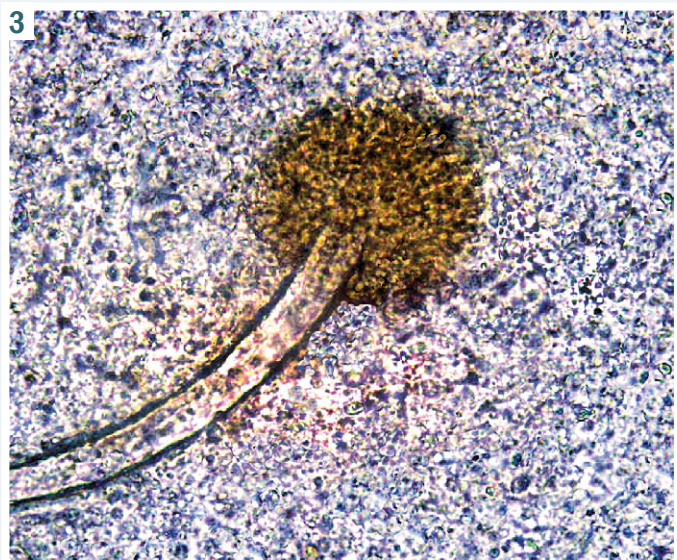


**Рис. 1.** Рентгенограма через 1 місяць від початку лікування: звільнення порожнини від легеневого детриту у процесі лікування з формуванням типової рентген-картини.



**Рис. 2.** КТ-картина аспергіломи: симптом повітряного півмісяця.

**Рис. 3.** В мазку – детрит тканин із міцелієм гриба роду *Aspergillus*. Забарвлення Diff-Quik, 36. x90.



Надійшла до редакції / Received: 12.12.2019

Після доопрацювання / Revised: 09.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 27.02.2020

## Відомості про авторів:

Телушко Я. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицини катастроф, військової медицини та нейрохірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-0745-6698](https://orcid.org/0000-0002-0745-6698)

Перцов В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. медицини катастроф, військової медицини та нейрохірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Савченко С. І., канд. мед. наук, асистент каф. медицини катастроф, військової медицини та нейрохірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

### Information about authors:

Tielushko Ya. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Disaster Medicine, Military Medicine and Neurosurgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Pertsov V. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Disaster Medicine, Military Medicine and Neurosurgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Savchenko S. I., MD, PhD, Assistant of the Department of Disaster Medicine, Military Medicine and Neurosurgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

### Сведения об авторах:

Телушко Я. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицини катастроф, военной медицины и нейрохирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Перцов В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. медицины катастроф, военной медицины и нейрохирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Савченко С. И., канд. мед. наук, ассистент каф. медицины катастроф, военной медицины и нейрохирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

- [6] Correia, S. D., Pinto, C., & Bernardo, J. (2014). Pulmonary Aspergilloma Surgery: a Mono-Institutional Experience. *Acta Medica Portuguesa*, 27(4), 417-421. [in Portuguese]. <https://doi.org/10.20344/amp.4875>

### Список літератури

- [1] Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline / A. Ullmann, J. M. Aguado, S. Arkan-Akdagli et al. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018. Vol. 24, Suppl. 1. P. E1-E38. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002>
- [2] Smith N. L., Denning D. W. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. *European Respiratory Journal*. 2011. Vol. 37, Iss. 4. P. 865-872. <https://doi.org/10.1183/09031936.00054810>
- [3] Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management / D. W. Denning, J. Cadranet, C. Beigelman-Aubry et al. *European Respiratory Journal*. 2015. Vol. 47, Iss. 1. P. 45-68. <https://doi.org/10.1183/13993003.00583-2015>
- [4] Лискина И. В., Кузовкова С. Д. Аспергиллома легкого. *Международный медицинский журнал*. 2011. № 4. С. 41-48.
- [5] Інвазивна діагностика та хірургічне лікування аспергілозу легень та плеври / М. С. Опанасенко, О. Є. Кшановський, Б. М. Конік та ін. *Український пульмонологічний журнал*. 2018. № 3. С. 13-16. <https://doi.org/10.31215/2306-4927-2018-101-3-13-16>
- [6] Correia S. D., Pinto C., Bernardo J. Pulmonary Aspergilloma Surgery: a Mono-Institutional Experience. *Acta Medica Portuguesa*. 2014. Vol. 27, Iss 4. P. 417-421. <https://doi.org/10.20344/amp.4875>

### References

- [1] Ullmann, A. J., Aguado, J. M., Arkan-Akdagli, S., Denning, D. W., Groll, A. H., Lagrou, K., . . . Cornely, O. A. (2018). Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical Microbiology and Infection*, 24, E1-E38. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.002>
- [2] Smith, N. L., & Denning, D. W. (2011). Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. *European Respiratory Journal*, 37(4), 865-872. <https://doi.org/10.1183/09031936.00054810>
- [3] Denning, D. W., Cadranet, J., Beigelman-Aubry, C., Ader, F., Chakrabarti, A., Blot, S., . . . European Resp, S. (2016). Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *European Respiratory Journal*, 47(1), 45-68. <https://doi.org/10.1183/13993003.00583-2015>
- [4] Liskina, I. V., & Kuzovkova, S. D. (2011). Aspergilloma legkogo [Lung asprgilloma]. *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal*, (4), 41-48. [in Russian].
- [5] Опанасенко, М. С., Кшановський, О. Є., Конік, Б. М., Терешкович, О. В., Каленіченко, М. І., Шалахай, С. М., Леванда, Л. І., Лисенко, В. І., & Шамрай, М. Ю. (2018). Інвазивна діагностика та хірургічне лікування аспергілозу легень та плеври [Invasive diagnostics and surgical treatment of pulmonary aspergillosis]. *Український пульмонологічний журнал*, (3), 13-16. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.31215/2306-4927-2018-101-3-13-16>