

Залежність фільтраційної здатності нирок від фенотипу хронічної серцевої недостатності, показників систолічної та діастолічної функції серця

В. В. Сиволап ^{A,C,F}, В. А. Лисенко ^{*B,D,E}

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:
ниркова дисфункція, хронічна серцева недостатність, систолічна функція серця, діастолічна функція серця.

Патологія. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 4-11

*E-mail:
Vladm.d22@gmail.com

Недостатньо вивчено питання змін фільтраційної здатності нирок залежно від структурно-геометричної та функціональної перебудови серця при різних фенотипах хронічної серцевої недостатності (ХСН), порушень систолічної та діастолічної функції лівого шлуночка (ЛШ).

Мета роботи – дослідити взаємозв'язок змін фільтраційної здатності нирок у хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного ґенезу залежно від фенотипу, показників систолічної та діастолічної функції серця.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 87 (45 чоловіків, 42 жінки) хворих на ХСН ішемічного ґенезу із синусовим ритмом, II А–Б стадії, II–IV ФК за NYHA, яких поділили на 2 групи. У 1 групу включили хворих зі зниженою (<45 %) фракцією викиду (ФВ) лівого шлуночка (n = 57; 59,6 % чоловіків), у 2 – хворих на ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка (n = 30; 36,6 % чоловіків). Групи хворих зіставні за віком, статтю, зростом, вагою, площею поверхні тіла. Доплер-ехокардіографічне дослідження виконали на апараті Esaote MyLab Eight (Італія). Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) оцінювали за допомогою формул СКД-EPI, MDRD і Cockcroft-Gault.

Результати. Ниркову дисфункцію за СКД-EPI зареєстрували у 72 % хворих на ХСН, за MDRD – у 66,7 %, за Cockcroft-Gault – у 52,6 %. Від типів ХСН залежали тільки показники рівня креатиніну крові (p = 0,011) та розрахунковий показник швидкості клубочкової фільтрації за Cockcroft-Gault (p = 0,047). ШКФ за всіма застосованими формулами (СКД-EPI, MDRD, Cockcroft-Gault) залежала від віку (r = -0,42; p = 0,001), зросту (r = 0,28; p = 0,08), ваги (r = 0,31; p = 0,004), площі поверхні тіла (r = 0,33; p = 0,002). Встановили прямий кореляційний зв'язок рівня креатиніну з індексом маси міокарда ЛШ, що розрахована за формулою Penn Convention, але не виявили залежність рівня креатиніну та ШКФ від типів геометрії ЛШ. Доведено наявність оберненої кореляційної залежності між ФВ ЛШ і рівнем креатиніну крові (r = -0,3172; p = 0,003), між вмістом креатиніну та S lat (r = -0,531; p = 0,006), прямий кореляційний зв'язок визначили між S lat і СКД-EPI (r = 0,5586; p = 0,004), MDRD (r = 0,6254; p = 0,001), Cockcroft-Gault (r = 0,4043; p = 0,045).

Висновки. При ХСН ішемічного ґенезу зі зниженою ФВ лівого шлуночка спостерігали вираженіше порушення фільтраційної здатності нирок, ніж у хворих на ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка. Між ФВ лівого шлуночка та вмістом креатиніну крові виявили зворотний кореляційний зв'язок (r = -0,3172; p = 0,003). Зниження показника систолічної швидкості руху латеральної частини фіброзного кільця мітрального клапана асоціюється зі зниженням фільтраційної здатності нирок за вмістом креатиніну (r = -0,531; p = 0,006), ШКФ за формулами СКД-EPI (r = 0,5586; p = 0,004), MDRD (r = 0,6254; p = 0,001), Cockcroft-Gault (r = 0,4043; p = 0,045) у хворих на ХСН ішемічного ґенезу обох фенотипів. У хворих на ХСН ішемічного ґенезу обох фенотипів індекс маси міокарда, що розрахована за формулою Penn Convention, корелює з концентрацією креатиніну крові (r = 0,95; p = 0,003). У хворих на ХСН ішемічного ґенезу рестриктивний тип діастолічного наповнення лівого шлуночка асоціюється з вірогідним підвищенням рівня креатиніну крові на 14 % (p = 0,03) порівняно з пацієнтами з діастолічною дисфункцією ЛШ за типом порушення релаксації.

Key words:
renal dysfunction, chronic heart failure, systolic heart function, diastolic heart function.

Pathologia 2021; 18 (1), 4-11

Dependence of renal filtration capacity on the phenotype of chronic heart failure, indicators of systolic and diastolic heart function

V. V. Syvolap, V. A. Lysenko

The issue of changes in the filtration capacity of the kidneys depending on the structural-geometric and functional remodeling of the heart in different phenotypes of chronic heart failure, disorders of systolic and diastolic function of the left ventricle remains insufficiently studied.

The aim of this work: to investigate the relationship between changes in the filtration capacity of the kidneys in patients with chronic heart failure of ischemic genesis depending on the phenotype, indicators of systolic and diastolic cardiac function.

Materials and methods. After an informed consent was signed, 87 patients (men – n = 45, women – n = 42) with CHF of ischemic genesis with sinus rhythm, stage II A–B, II–IV functional class NYHA, who were divided into 2 groups, were involved in the study. Group 1 included patients with reduced (<45 %) left ventricular ejection fraction (HFpEF) (n = 57; 59.6 % men), group 2 – patients with CHF with preserved left ventricular ejection fraction (HFrEF) (n = 30; 36.6 % men). Patient groups were comparable in terms of age, sex, height, weight, and body surface area. Doppler echocardiographic examination was performed using the Esaote MyLab Eight (Italy). Glomerular filtration rate (GFR) was assessed using the CKD-EPI, MDRD, and Cockcroft-Gault formulas.

Results. Renal dysfunction was registered in patients with CHF in 72 % of cases when calculated using the CKD-EPI formula, 66.7 % using the MDRD formula and 52.6 % using the Cockcroft-Gault formula. Only indicators of blood creatinine level ($P = 0.011$) and the calculated indicator of glomerular filtration rate according to Cockcroft-Gault ($p = 0.047$) depended on the types of CHF. GFR for all applied formulas (CKD-EPI, MDRD, Cockcroft-Gault) depended on age ($r = -0.42$; $P = 0.001$), height ($r = 0.28$; $P = 0.08$), weight ($r = 0.31$; $P = 0.004$), body surface area ($r = 0.33$; $P = 0.002$).

A direct correlation between the creatinine level and the LV myocardial mass index, calculated using the Penn Convention formula, was established, however, the dependence of the creatinine level and GFR on the types of LV geometry was not revealed. The presence of an inverse correlation between LVEF and blood creatinine level ($r = -0.3172$; $P = 0.003$), between creatinine content and S lat ($r = -0.531$; $P = 0.006$), a direct correlation between S lat and CKD-EPI ($r = 0.5586$; $P = 0.004$), MDRD ($r = 0.6254$; $P = 0.001$), Cockcroft-Gault ($r = 0.4043$; $P = 0.045$).

Conclusions. In chronic heart failure of ischemic genesis with reduced left ventricular ejection fraction, a more pronounced impairment of the filtration capacity of the kidneys than in chronic heart failure patients with preserved left ventricular ejection fraction is observed. An inverse correlation was established between the LV EF and the blood creatinine level ($r = -0.3172$; $P = 0.003$). A decrease in the systolic velocity of movement of the lateral annulus fibrosus of the mitral valve is associated with a decrease in the filtration capacity of the kidneys in terms of creatinine level ($r = -0.531$; $P = 0.006$), GFR according to the CKD-EPI ($r = 0.5586$; $P = 0.004$), MDRD ($r = 0.6254$; $P = 0.001$), Cockcroft-Gault ($r = 0.4043$; $P = 0.045$) in patients with CHF of ischemic genesis of both phenotypes.

In patients with CHF of ischemic genesis of both phenotypes, the myocardial mass index, calculated according to the Penn Convention, correlates with the blood creatinine content ($r = 0.95$; $P = 0.003$). In patients with CHF of ischemic genesis, the restrictive type of diastolic filling of the left ventricle is associated with a significant increase in blood creatinine levels by 14 % ($P = 0.03$) compared with patients with diastolic LV dysfunction by the type of relaxation disorder.

Зависимость фильтрационной способности почек от фенотипа хронической сердечной недостаточности, показателей систолической и диастолической функции сердца

В. В. Сыволап, В. А. Лысенко

Остается недостаточно изученным вопрос изменений фильтрационной способности почек в зависимости от структурно-геометрического и функционального ремоделирования сердца при различных фенотипах хронической сердечной недостаточности (ХСН), нарушений систолической и диастолической функции левого желудочка (ЛЖ).

Цель работы – исследовать взаимосвязь изменений фильтрационной способности почек у больных хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза в зависимости от фенотипа, показателей систолической и диастолической функции сердца.

Материалы и методы. В исследование включены 87 (45 мужчин, 42 женщины) больных ХСН ишемического генеза с синусовым ритмом, II А–Б стадии, II–IV ФК по NYHA, которых разделили на 2 группы. В 1 группу вошли больные со сниженной (<45 %) ФВ левого желудочка ($n = 57$; 59,6 % мужчин), во 2 группу – больные ХСН с сохраненной ФВ левого желудочка ($n = 30$; 36,6 % мужчин). Группы больных сопоставимы по возрасту, полу, росту, весу, площади поверхности тела. Допплер-эхокардиографическое исследование выполнено на аппарате Esaote MyLab Eight (Италия). Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) оценивали с помощью формул СКД-EPI, MDRD и Cockcroft-Gault.

Результаты. Почечная дисфункция зарегистрирована у 72 % больных ХСН при расчете по формуле СКД-EPI, 66,7 % – по формуле MDRD, 52,6 % – по формуле Cockcroft-Gault. От типов ХСН зависели только показатели уровня креатинина крови ($p = 0,011$) и расчетный показатель скорости клубочковой фильтрации по Cockcroft-Gault ($p = 0,047$). СКФ по всем примененным формулам (СКД-EPI, MDRD, Cockcroft-Gault) зависела от возраста ($r = -0,42$; $p = 0,001$), роста ($r = 0,28$; $p = 0,08$), веса ($r = 0,31$; $p = 0,004$), площади поверхности тела ($r = 0,33$; $p = 0,002$).

Установлена прямая корреляционная связь уровня креатинина с индексом массы миокарда ЛЖ, рассчитанной по формуле Penn Convention, но не установлена зависимость уровня креатинина и СКФ от типов геометрии ЛЖ. Доказано наличие обратной корреляционной зависимости между ФВ ЛЖ и уровнем креатинина крови ($r = -0,3172$; $p = 0,003$), между содержанием креатинина и S lat ($r = -0,531$; $p = 0,006$), прямая корреляционная связь отмечена между S lat и СКД-EPI ($r = 0,5586$; $p = 0,004$), MDRD ($r = 0,6254$; $p = 0,001$), Cockcroft-Gault ($r = 0,4043$; $p = 0,045$).

Выводы. При ХСН ишемического генеза со сниженной ФВ левого желудочка отмечено более выраженное нарушение фильтрационной способности почек, чем у больных ХСН с сохраненной ФВ левого желудочка. Между ФВ левого желудочка и уровнем креатинина крови установлена обратная корреляционная связь ($r = -0,3172$; $p = 0,003$). Снижение показателя систолической скорости движения латеральной части фиброзного кольца митрального клапана ассоциируется со снижением фильтрационной способности почек по уровню креатинина ($r = -0,531$; $p = 0,006$), СКФ по формуле СКД-EPI ($r = 0,5586$; $p = 0,004$), MDRD ($r = 0,6254$; $p = 0,001$), Cockcroft-Gault ($r = 0,4043$; $p = 0,045$) у больных ХСН ишемического генеза обоих фенотипов.

У больных ХСН ишемического генеза обоих фенотипов индекс массы миокарда, рассчитанной по формуле Penn Convention, коррелирует с содержанием креатинина крови ($r = 0,95$; $p = 0,003$). У больных ХСН ишемического генеза рестриктивный тип диастолического наполнения левого желудочка ассоциируется с достоверным повышением уровня креатинина крови на 14 % ($p = 0,03$) по сравнению с больными с диастолической дисфункцией ЛЖ по типу нарушения релаксации.

Ключевые слова:

почечная дисфункция, хроническая сердечная недостаточность, систолическая функция сердца, диастолическая функция сердца.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 4-11

Хронічна серцева недостатність (ХСН) – одна з глобальних проблем сучасної охорони здоров'я. Її поширеність становить майже 62 млн пацієнтів у світі [1]. Ниркова дисфункція – один із найзагрозливіших станів при хронічній серцевій недостатності, який, за даними різних досліджень, виявляють у 25–60 % випадків. Хронічна серцева недостатність і хронічна хвороба нирок (ХХН) часто співіснують, мають спільні фактори ризику (гіпертонія, діабет, гіперліпідемія) та пов'язані з різким збільшенням ризику смертності [2,3]. У пацієнтів із ХСН спостерігають швидше зниження функції нирок порівняно з загальною популяцією [4].

У 2008 р. запропонована концепція кардіоренальних взаємозв'язків, названа кардіоренальний синдром (КРС), що означає одночасне порушення функції серця та нирок [5]. Але недостатньо вивчено стан фільтраційної здатності нирок залежно від структурно-геометричної та функціональної перебудови серця при різних фенотипах хронічної серцевої недостатності, порушень систолічної та діастолічної функції лівого шлуночка (ЛШ).

Мета роботи

Дослідити взаємозв'язок змін фільтраційної здатності нирок у хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного ґенезу залежно від фенотипу, показників систолічної та діастолічної функції серця.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на клінічній базі кафедри пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії Запорізького державного медичного університету в кардіологічному відділенні КНП «Міська лікарня № 6» м. Запоріжжя відповідно до стандартів належної клінічної практики (Good Clinical Practice) і принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження схвалений етичним комітетом Запорізького державного медичного університету.

Після підписання інформованої згоди в дослідження залучили 87 (45 чоловіків, 42 жінки) хворих на ХСН ішемічного ґенезу з синусовим ритмом, II А–Б стадії, II–IV ФК за NYHA. Залежно від фенотипу хворих на ХСН поділили на дві групи: перша – хворі зі зниженою (<45 %) ФВ лівого шлуночка ($n = 57$; 59,6 % чоловіків), друга – хворі на ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка ($n = 30$; 36,6 % чоловіків). Групи хворих зіставні за віком ($69,30 \pm 9,67$ року проти $69,83 \pm 9,75$ року; $p = 0,819$), статтю ($p = 0,079$), зростом ($170,00 \pm 9,94$ см проти $165,96 \pm 10,49$ см; $p = 0,081$), вагою ($81,38 \pm 17,37$ кг проти $82,20 \pm 15,21$ кг; $p = 0,826$), площею поверхні тіла ($1,92 \pm 0,22$ м² проти $1,92 \pm 0,20$ м²; $p = 0,618$).

Діагноз ХСН ішемічного ґенезу встановлювали згідно з Рекомендаціями з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності (2017) Асоціації кардіологів України та Української асоціації фахівців із серцевої недостатності [6]. Доплер-ехокардіографічне дослідження виконано на апараті Esaote MyLab Eight (Італія) за стандартною методикою з визначенням базових показників [7]: кінцево-діастолічного, кінцево-си-

столічного розмірів лівого шлуночка (КДР, см; КСР, см), кінцево-діастолічного, кінцево-систолічного об'ємів лівого шлуночка (КДО, см³; КСО, см³), фракції викиду (ФВ, %), індексу маси міокарда лівого шлуночка (ІММЛШ) за ASE та Penn Convention, швидкості раннього діастолічного наповнення лівого шлуночка E (см/с), пізнього діастолічного наповнення лівого шлуночка A, співвідношення E/A. Використали класифікацію типів геометрії ЛШ за A. Ganau et al. [8].

За даними тканинної доплерографії додатково визначали співвідношення максимальної швидкості раннього діастолічного наповнення до максимальної швидкості ранньої діастолічної хвилі руху фіброзного кільця мітрального клапана (E/E'), швидкісні характеристики ранньої діастолічної хвилі руху фіброзного кільця трикуспідального клапана (E' тк), систолічну швидкість руху медіальної (S) та латеральної частини фіброзного кільця мітрального клапана (МК) (S lat), індекси (index TEI) [9] для лівого та правого шлуночків. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) оцінювали з використання формул СКД-EPI [10], MDRD [11] та Cockcroft-Gault [12].

Статистичне опрацювання матеріалу виконали за допомогою пакета програм Statistica 13.0 (StatSoft, USA), номер ліцензії JPZ8041382130ARCN10-J. Нормальність розподілу кількісних ознак аналізували за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Параметри, що мали нормальний розподіл, наведені як середнє арифметичне та стандартне відхилення ($M \pm SD$). Для показників, які мали розподіл, що відрізнявся від нормального, дані описової статистики наведено як медіана, нижній і верхній квартилі – $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Кількісні показники у групах порівнювали, застосовуючи критерій Стюдента (для нормального розподілу ознак), Манна-Вітні, Колмогорова-Смирнова, Wald-Wolfowitz runs test (для розподілу ознак, що відрізнявся від нормального). Статистично значущою вважали різницю на рівні $p < 0,05$. Усі тести двобічні.

Результати

Залежно від застосованих формул розрахунку ШКФ отримали такі показники частоти ниркової дисфункції (НД) у хворих на ХСН: 72 % – за СКД-EPI, 66,7 % – за MDRD, 52,6 % – за Cockcroft-Gault (табл. 1).

Поділ за статтю хворих на ХСН зі зниженою ФВ ЛШ (ХСНзн ФВ) і нирковою дисфункцією (ШКФ менше ніж 60 мл/хв/1,73 м²) ($n = 41$): 51,2 % ($n = 21$) чоловіків, 48,8 % ($n = 20$) жінок. Серед хворих на ХСН зі збереженою ФВ ЛШ (ХСНзб ФВ) і нирковою дисфункцією (ШКФ менше ніж 60 мл/хв/1,73 м²) ($n = 18$) переважали жінки – 72,2 % ($n = 13$), чоловіків – 27,8 % ($n = 5$). Не визначили вірогідну різницю питомої ваги пацієнтів жіночої статі у групах хворих на ХСН і нирковою дисфункцією зі зниженою та збереженою ФВ ЛШ (48,8 % проти 72,2 %; $p = 0,107$).

Досліджені фенотипи хронічної серцевої недостатності мали різний вплив на фільтраційну здатність нирок. Від типів ХСН залежали тільки показники рівня креатиніну крові ($p = 0,011$) та розрахунковий показник швидкості клубочкової фільтрації за Cockcroft-Gault ($p = 0,047$). Так, у першій групі хворих

Таблиця 1. Розподіл хворих на ХСН залежно від фенотипу та наявної ниркової недостатності

CRD EPI, мл/хв/1,73 м ²	ХСН зі зниженою ФВ ЛШ, n = 57	%	ХСН зі збереженою ФВ ЛШ, n = 30	%	p
ШКФ <60	41	72	18	60	0,0002
ШКФ >60	16	28	12	40	0,0002
MDRD, мл/хв/1,73м ²	ХСН зі зниженою ФВ ЛШ, n = 57	%	ХСН зі збереженою ФВ ЛШ, n = 30	%	
ШКФ <60	38	66,7	17	56,7	0,3596
ШКФ >60	19	33,4	13	43,4	0,3596
Соскcroft-Gault (CG), мл/хв	ХСН зі зниженою ФВ ЛШ, n = 57	%	ХСН зі збереженою ФВ ЛШ, n = 30	%	
ШКФ <60	30	52,6	13	43,4	0,3777
ШКФ >60	27	47,4	17	56,7	0,3777

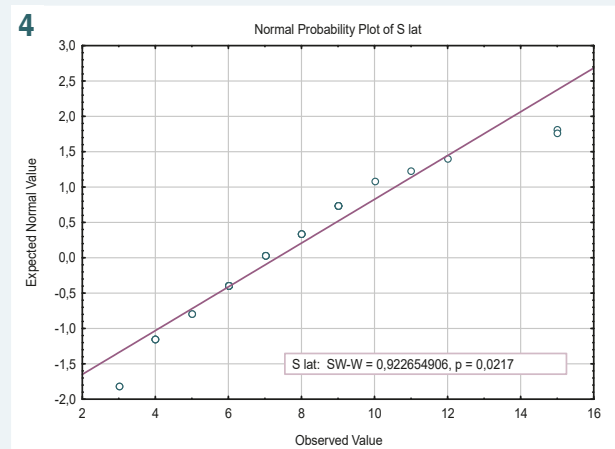
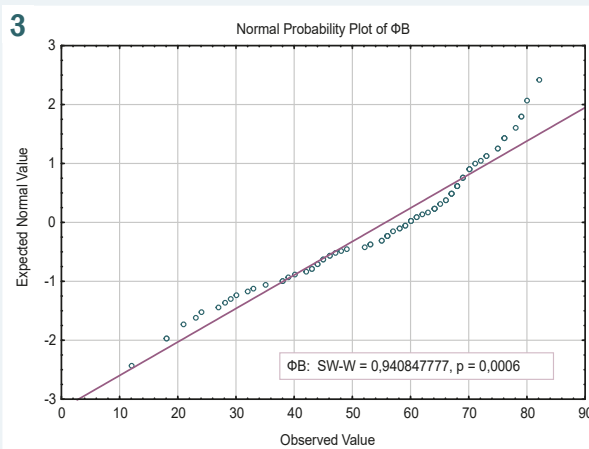
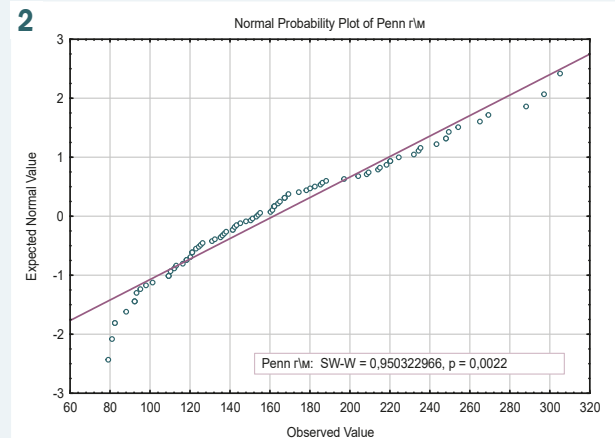
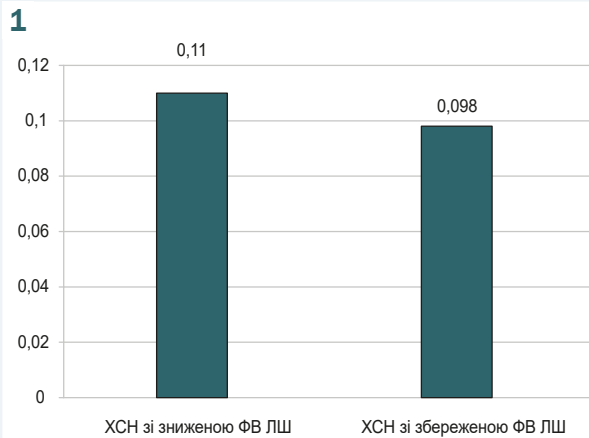
Рис. 1. Рівень креатиніну плазми крові залежно від фенотипу ХСН, $p = 0,011$.

Рис. 2. Кореляційний зв'язок рівня креатиніну та ІММЛШ, розрахованої за формулою Penn Convention, у хворих на ХСН ішемічного генезу.

Рис. 3. Залежність рівня креатиніну плазми крові від ФВ ЛШ у хворих на ХСН ішемічного генезу.

Рис. 4. Кореляційний зв'язок умісту креатиніну та систолічної швидкості руху латеральної частини фіброзного кільця МК.

на ХСН зі зниженою ФВ ЛШ виявили найвищий рівень креатиніну у плазмі крові ($0,11 \pm 0,02$ ммоль/л) порівняно з хворими на ХСН зі збереженою ФВ ЛШ ($0,098 \pm 0,020$ ммоль/л) (рис. 1). Показники швидкості клубочкової фільтрації за формулою Соскcroft-Gault у групі ХСН зі зниженою ФВ лівого шлуночка були нижчими ($62,32 \pm 27,12$ мл/хв), ніж у групі ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка ($67,97 \pm 27,80$ мл/хв).

Розрахувавши показники фільтраційної здатності нирок у хворих на хронічну серцеву недостатність

обох фенотипів, встановили: ШКФ за всіма формулами (СКД-EPI, MDRD, Соскcroft-Gault) залежала від віку ($r = -0,42$; $p = 0,001$), зросту ($r = 0,28$; $p = 0,08$), ваги ($r = 0,31$; $p = 0,004$), площі поверхні тіла ($r = 0,33$; $p = 0,002$), а рівень креатиніну крові не залежав від цих антропометричних параметрів ($p = 0,293$).

Під час з'ясування залежності клубочкової фільтрації нирок у хворих на ХСН від ступеня гіпертрофії ЛШ встановили прямий кореляційний зв'язок рівня

креатиніну з індексом маси міокарда ЛШ, але розрахованої тільки за формулою Penn Convention (рис. 2), а між ШКФ (за СКД-EPI, MDRD, Cockcroft-Gault) та ІМЛШ статистично вірогідні кореляційні зв'язки не виявлені.

Дослідивши зміни фільтраційної здатності нирок у хворих на ХСН залежно від типів геометрії лівого шлуночка (нормальної геометрії, концентричного ремоделювання, концентричної та ексцентричної гіпертрофії), не встановили залежність рівня креатиніну та ШКФ від типів геометрії ЛШ.

Під час оцінювання залежності ШКФ від показників систолічної функції лівого шлуночка у хворих на ХСН ішемічного ґенезу визначили зворотну кореляційну залежність між ФВ ЛШ і рівнем креатиніну крові ($r = -0,3172$; $p = 0,003$) (рис. 3).

Попри наявність кореляційного зв'язку між ФВ ЛШ і рівнем креатиніну швидкість клубочкової фільтрації, що розрахована за формулами СКД-EPI, MDRD та Cockcroft-Gault, не залежала від фракції викиду лівого шлуночка у хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного ґенезу.

Аналіз взаємозв'язків ШКФ і показників систолічної функції лівого шлуночка за даними тканинного доплера (систолічної швидкості руху медіальної (S) і латеральної (S lat) частини фіброзного кільця МК, індексу (index TEI) обох шлуночків) показав такі залежності: зворотний кореляційний зв'язок між вмістом креатиніну та S lat ($r = -0,531$; $p = 0,006$), прямий кореляційний зв'язок між S lat і СКД-EPI ($r = 0,5586$; $p = 0,004$), MDRD ($r = 0,6254$; $p = 0,001$), Cockcroft-Gault ($r = 0,4043$; $p = 0,045$). Отже, зниження показника систолічної швидкості руху латеральної частини фіброзного кільця МК асоціюється зі зниженням фільтраційної здатності нирок у хворих на ХСН ішемічного ґенезу обох фенотипів (рис. 4).

Аналіз поділу хворих за типом порушення діастолічної функції лівого шлуночка (ДД ЛШ) у хворих на ХСН ішемічного ґенезу показав відсутність дисфункції в 1,2 % хворих, порушення релаксації у 54,8 %, псевдонормальний тип у 26,4 %, рестриктивний тип у 18,4 % обстежених; різниця статистично вірогідна між усіма типами, крім 2 і 3 типів ДД ЛШ ($p = 0,205$). За вмістом креатиніну залежно від типу ДД ЛШ хворі на ХСН не відрізнялись, крім рестриктивного наповнення, коли виявили найвищий рівень креатиніну ($0,115 \pm 0,022$ ммоль/л), що на 14 % ($p = 0,03$) перевищувало рівень креатиніну у хворих на ХСН із порушенням релаксації ($0,101 \pm 0,021$ ммоль/л).

Обговорення

За даними реєстру ADHERE, 30 % хворих на ХСН мали концентрацію креатиніну плазми крові понад 2 мг/дл ($0,176$ ммоль/л) [13]. У нашому дослідженні у жодного хворого на ХСН не виявили підвищення рівня креатиніну понад $0,176$ ммоль/л. Вважали, що хронічна ниркова недостатність наявна в разі зниження показника ШКФ менше за 60 мл/хв/ $1,73$ м².

Залежно від застосованих формул розрахунку ШКФ отримали такі показники частоти НД у хворих

на ХСН: 67,8 % – за СКД-EPI, 63,2 % – за MDRD, 49,4 % – за Cockcroft-Gault. Аналіз частоти НД залежно від фенотипу ХСН показав, що у хворих зі зниженою (<45 %) ФВ ЛШ частіше виявляють ШКФ менше ніж 60 мл/хв/ $1,73$ м², проте тільки при розрахунку ШКФ за формулою СКД-EPI ця різниця досягла статистичної вірогідності (72 % при ХСНзн ФВ проти 60 % при ХСНзб ФВ; $p = 0,0002$). Використання формул MDRD і Cockcroft-Gault для розрахунку ШКФ підтвердило загальну тенденцію переважання частоти випадків НД у хворих на ХСН зі зниженою ФВ ЛШ: 66,7 % при ХСНзн ФВ проти 56,7 % при ХСНзб ФВ, $p = 0,359$; 52,7 % при ХСНзн ФВ проти 43,3 % при ХСНзб ФВ, $p = 0,377$ відповідно.

У дослідженні Т. А. Mavrakanas et al. обстежили 8183 хворих на ХСН зі збереженою ФВ ЛШ. Виявили: 21 % ($n = 1733$) хворих мали ШКФ (за СКД-EPI) понад 90 мл/хв/ $1,73$ м², 41 % ($n = 3369$) – в межах 60 – 89 мл/хв/ $1,73$ м², 38 % ($n = 3081$) менше ніж 60 мл/хв/ $1,73$ м² [14].

Найбільшою була база даних ADHERE хворих на гостру декомпенсовану серцеву недостатність. На час залучення $118\ 465$ хворих 9,0 % із них мали ШКФ понад 90 мл/хв/ $1,73$ м², 27,4 % – у межах 60 – 89 мл/хв/ $1,73$ м², 43,5 % – 30 – 59 мл/хв/ $1,73$ м², у 13,1 % пацієнтів встановлена виражена ниркова недостатність (ШКФ 15 – 29 мл/хв/ $1,73$ м²), у 7,0 % – термінальна ниркова недостатність (ШКФ < 15 мл/хв/ $1,73$ м²). Але тільки у 33,4 % чоловіків і 27,3 % жінок попередньо діагностовано ниркову недостатність [13].

За даними Д. А. Лашкула, поширеність помірної та легкої НД у хворих на ХСН зі зниженою ФВ лівого шлуночка становила 26,4 % і 65,0 % відповідно, а у хворих на ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка – 16,9 % і 61,3 % відповідно [15]. Результати, які отримали в нашому дослідженні, збігаються з відомостями фахової літератури.

Дані, що отримали С. S. Park et al., свідчать: поширеність ниркової дисфункції не відрізнялася у хворих на ХСНзб ФВ і пацієнтів з ХСНзн ФВ (49 % проти 52 %, $p = 0,210$) [16]. Розрахунок ШКФ дослідники виконали за формулою MDRD. Ми також не визначили статистично вірогідну різницю за поширеністю НД у хворих на ХСН зі зниженою та збереженою ФВ ЛШ за величинами ШКФ, що розрахована за формулами MDRD та Cockcroft-Gault. Але аналіз частоти НД у хворих на ХСН за ШКФ, що розрахована за формулою СКД-EPI, показав вірогідне переважання питомої ваги пацієнтів із нирковою дисфункцією серед хворих на ХСН зі зниженою ФВ ЛШ (72 % при ХСНзн ФВ проти 60 % при ХСНзб ФВ, $p = 0,0002$).

У дослідженні О. О. Ханюкова та співавт. показано, що у хворих на ХСН при збільшенні шкали за ШОКС і ФК зменшується ШКФ ($r = -0,46$, $p < 0,001$), підвищується стадія ХНН ($r = 0,50$, $p < 0,001$). Під час кореляційного аналізу ШКФ і ФВ ЛШ автори отримали прямий зв'язок між цими показниками ($r = 0,27$, $p < 0,05$) [17].

У нашому дослідженні швидкість клубочкової фільтрації, що розрахована за формулами СКД-EPI, MDRD та Cockcroft-Gault, не залежала від фракції викиду лівого шлуночка у хворих на хронічну серцеву

недостатність ішемічного ґенезу, але встановили кореляційний зв'язок між ФВ ЛШ і рівнем креатиніну.

У дослідженні С. S. Park et al. також не визначено зв'язок між ФВ і ШКФ ($r = 0,017$, $p = 0,458$), хоча була зворотна кореляція між ШКФ і \log NT-proBNP ($r = -0,298$, $p < 0,001$), а також між ФВ і \log NT-proBNP ($r = -0,238$, $p < 0,001$) [16].

У роботі Л. І. Загородньої доведено, що зниження ШКФ пов'язане зі ступенем порушення систолічної функції ЛШ. Про це свідчив прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,60$; $p < 0,05$) між ШКФ і ФВ ЛШ у хворих на ХСН із ФВ ЛШ $41,3 \pm 0,9$ %, середній вік пацієнтів – $51,3 \pm 1,1$ року. Середня концентрація креатиніну у хворих на ХСН становила $85,2 \pm 0,4$ мкмоль/л, що відповідало ШКФ на рівні $67,1 \pm 2,2$ мл/хв [18].

У дослідженні [19] у хворих на ХСНзв ФВ із помірною НД порівняно з легкою НД і збереженою функцією виявили більший індекс маси міокарда ЛШ (на 6,4 %, $p < 0,05$ і на 15,1 %, $p < 0,05$) внаслідок збільшення кінцево-діастолічного об'єму (на 8,7 %, $p < 0,05$ і на 5,8 %, $p > 0,05$). Гіпертрофію міокарда діагностували у 100 % хворих. Виявили істотне збільшення псевдонормального (30,8 % і 32,5 %) і рестриктивного типів (13,2 % і 29,7 % відповідно $p < 0,05$) трансмітрального кровотоку. Ремодельовання ЛШ відбувалося при легкій і помірній НД здебільшого за прогностично несприятливими типами – виявлена ексцентрична (71,4 % і 78,4 %) та концентрична (27,5 % і 21,6 % відповідно) гіпертрофія [19].

У хворих на ХСНзб ФВ із помірною НД порівняно з пацієнтами з легкою НД і збереженою функцією встановили більший КДО (на 6,2 %, $p > 0,05$ і на 7,4 %, $p < 0,05$) та ІММЛШ (на 2,1 %, $p > 0,05$ і на 6,5 %, $p < 0,05$). Аналіз показників ФВ показав її невірогідне зниження з прогресуванням НД: від $60,2 \pm 8,4$ % при ШКФ понад 90 мл/хв/1,73 м² до $58,5 \pm 9,1$ % при ШКФ менше ніж 60 мл/хв/1,73 м². Гіпертрофію міокарда ЛШ зареєстрували у 84,6 % хворих з легкою нирковою дисфункцією та у 95,1 % із помірною НД. При легкому зниженні ШКФ концентричну гіпертрофію фіксували у 64,4 % випадків, ексцентричну гіпертрофію – у 19,4 %; при помірній НД концентрична гіпертрофія виявлена у 60,9 % пацієнтів, ексцентрична гіпертрофія – у 34,1 %. Питома вага порушень діастолічної функції ЛШ у хворих на ХСНзб ФВ із легким і помірним зниженням ШКФ становила: псевдонормального – 34,2 % і 51,2 %, типу порушення релаксації – 40,3 % і 48,8 % відповідно [19].

Показано, що у хворих на ХСН зі зниженою ФВ ЛШ з помірною та легкою дисфункцією нирок відбувається ремодельовання шляхом ексцентричної гіпертрофії з формуванням псевдонормального і рестриктивного типів діастолічної дисфункції серця, а у хворих на ХСН зі збереженою ФВ ЛШ переважає концентрична гіпертрофія з розвитком псевдонормального типу діастолічної дисфункції та типу порушення релаксації [15].

За результатами нашого дослідження, у хворих на ХСН ішемічного ґенезу частіше виявляли діастолічну дисфункцію за типом порушення релаксації (54,8 %), майже еквівалентні частки псевдонормального (26,4 %) та рестриктивного типів (18,4 %) наповнення лівого шлуночка, а у 1,2 % хворих на ХСН діастолічна

дисфункція не виявлена. Найвищий рівень креатиніну визначили при рестриктивному наповненні ЛШ, що на 14 % ($p = 0,03$) перевищувало цей показник у хворих на ХСН із порушенням релаксації. Отже, одним із чинників розвитку ниркової дисфункції у хворих на ХСН може бути підвищення кінцевого діастолічного тиску, з яким асоціюється рестриктивне наповнення ЛШ.

Висновки

1. При ХСН ішемічного ґенезу зі зниженою ФВ лівого шлуночка виявили більш виражене порушення фільтраційної здатності нирок, ніж у хворих на ХСН зі збереженою ФВ лівого шлуночка. Між ФВ лівого шлуночка та вмістом креатиніну крові встановили зворотний кореляційний зв'язок ($r = -0,3172$; $p = 0,003$).

2. Зниження показника систолічної швидкості руху латеральної частини фіброзного кільця МК асоціюється зі зниженням фільтраційної здатності нирок за вмістом креатиніну ($r = -0,531$; $p = 0,006$), ШКФ за формулами СКД-ЕПІ ($r = 0,5586$; $p = 0,004$), MDRD ($r = 0,6254$; $p = 0,001$), Cockcroft-Gault ($r = 0,4043$; $p = 0,045$) у хворих на ХСН ішемічного ґенезу обох фенотипів.

3. У хворих на ХСН ішемічного ґенезу обох фенотипів індекс маси міокарда, що розрахована за формулою Penn Convention, корелює з вмістом креатиніну крові ($r = 0,95$; $p = 0,003$).

4. У хворих на ХСН ішемічного ґенезу рестриктивний тип діастолічного наповнення лівого шлуночка асоціюється з вірогідним підвищенням рівня креатиніну крові на 14 % ($p = 0,03$) порівняно з хворими з діастолічною дисфункцією ЛШ за типом порушення релаксації.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні структурно-функціональних особливостей серця у хворих на ХСН ішемічного ґенезу залежно від фенотипу та ураження тубулоінтерстицію.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.11.2020

Після доопрацювання / Revised: 14.12.2020

Прийнято до друку / Accepted: 21.12.2020

Відомості про авторів:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: [0000-0001-9865-4325](https://orcid.org/0000-0001-9865-4325)

Лисенко В. А., PhD-аспірант каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: [0000-0001-7502-0127](https://orcid.org/0000-0001-7502-0127)

Information about authors:

Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Lysenko V. A., PhD-student of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Сыволоп В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренней медицины, лучевой диагностики и лучевой терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Лысенко В. А., PhD-аспирант каф. пропедевтики внутренней медицины, лучевой диагностики и лучевой терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. *Lancet*. 2015. Vol. 386, Iss. 9995. P. 743-800. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4)
- [2] Renal impairment, worsening renal function, and outcome in patients with heart failure: an updated meta-analysis / K. Damman, M. A. Valente, A. A. Voors et al. *European heart journal*. 2014. Vol. 35, Iss. 7. P. 455-469. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz386>
- [3] Is echocardiography mandatory for patients with chronic kidney disease? / E. Nardi, G. Mule, C. Nardi et al. *Internal and emergency medicine*. 2019. Vol. 14, Iss. 6. P. 923-929. <https://doi.org/10.1007/s11739-019-02028-0>
- [4] Gender differences in predictors of the decline of renal function in the general population / N. Halbesma, A. H. Brantsma, S. J. Bakker et al. *Kidney international*. 2008. Vol. 74, Iss. 4. P. 505-512. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.200>
- [5] Cardio-renal syndromes: report from consensus conference of acute dialysis quality initiative / C. Ronco, P. McCullough, S. D. Anker et al. *European heart journal*. 2010. Vol. 31, Iss. 6. P. 703-711. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehp507>
- [6] Рекомендації Асоціації кардіологів України з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності (2017) / Л. Г. Воронков, К. М. Амосова, Г. В. Дзяк та ін. Київ, 2017. 68 с.
- [7] 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. *European heart journal cardiovascular imaging*. 2015. Vol. 16, Iss. 3. P. 233-270. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jev014>
- [8] Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension / A. Ganau, R. B. Devereux, M. J. Roman et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 1992. Vol. 19, Iss. 1. P. 1550-1558. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90617-v](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90617-v)
- [9] Миокардіальний індекс общей дисфункции сердца (Теi-индекс), возможности и ограничения / М. Н. Алехин, Б. Я. Барт, В. Н. Ларина, Ю. В. Барт. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2007. № 1. С. 119-124.
- [10] A new equation to estimate glomerular filtration rate / A. S. Levey, L. A. Stevens, C. H. Schmid et al. *Annals of internal medicine*. 2009. Vol. 150, Iss. 9. P. 604-612. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>
- [11] Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate / A. S. Levey, J. Coresh, T. Greene et al. *Annals of internal medicine*. 2006. Vol. 145, Iss. 4. P. 247-254. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-4-200608150-00004>
- [12] Stevens L. A., Levey A. S. Measurement of kidney function. *The Medical clinics of North America*. 2005. Vol. 89, Iss. 3. P. 457-473. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2004.11.009>
- [13] ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators. High prevalence of renal dysfunction and its impact on outcome in 118,465 patients hospitalized with acute decompensated heart failure: a report from the ADHERE database / J. T. Heywood, G. C. Fonarow, M. R. Costanzo et al. *Journal of cardiac failure*. 2007. Vol. 13, Iss. 6. P. 422-430. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2007.03.011>
- [14] Echocardiographic parameters and renal outcomes in patients with preserved renal function, and mild- moderate CKD / T. A. Mavranakas, A. Khattak, K. Singh, D. M. Charytan et al. *BMC nephrology*. 2018. Vol. 19, Iss. 1. P. 176-185. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0975-5>
- [15] Лашкул Д. А. Клініко-патогенетичні аспекти діагностики, лікування та прогнозування хронічної серцевої недостатності ішемічного генезу у хворих з дисфункцією нирок: дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.11 / Запоріж. держ. мед. ун-т. Запоріжжя, 2017. 321 с.
- [16] Relation of Renal Function with Left Ventricular Systolic Function and NT-proBNP Level and Its Prognostic Implication in Heart Failure with Preserved versus Reduced Ejection Fraction: an analysis from the Korean Heart Failure (KorHF) Registry / C. S. Park, J. J. Park, I. Y.

Oh et al. *Korean circulation journal*. 2017. Vol. 47, Iss. 5. P. 727-741. <https://doi.org/10.4070/kcj.2017.0050>

- [17] Ураження нирок у хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного генезу та стеатоз печінки / О. О. Ханюков, Л. В. Сапожниченко, О. В. Смольянова та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 2. С. 174-178. <http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2020-2-156-174-178>
- [18] Загородня Л. І. Особливості патогенезу порушень водно-сольового обміну у хворих на хронічну серцеву недостатність та обрuntuвання шляхів їх корекції: дис. ... канд. мед. наук : 14.03.04 / ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України». Одеса, 2015. 138 с.
- [19] Лашкул Д. А. Структурно-функціональні зміни серця у хворих на хронічну серцеву недостатність ішемічного генезу, асоційовану з нирковою дисфункцією. *Запорожский медицинский журнал*. 2014. № 2. С. 18-21. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.2.25233>

References

- [1] Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators (2015). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 386(9995), 743-800. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4)
- [2] Damman, K., Valente, M. A., Voors, A. A., O'Connor, C. M., van Veldhuisen, D. J., & Hillege, H. L. (2014). Renal impairment, worsening renal function, and outcome in patients with heart failure: an updated meta-analysis. *European heart journal*, 35(7), 455-469. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz386>
- [3] Nardi, E., Mulè, G., Nardi, C., Geraci, G., Giammanco, A., Bentivegna, R., & Aversa, M. (2019). Is echocardiography mandatory for patients with chronic kidney disease?. *Internal and emergency medicine*, 14(6), 923-929. <https://doi.org/10.1007/s11739-019-02028-0>
- [4] Halbesma, N., Brantsma, A. H., Bakker, S. J., Jansen, D. F., Stolk, R. P., De Zeeuw, D., De Jong, P. E., Gansevoort, R. T., & PREVENT study group (2008). Gender differences in predictors of the decline of renal function in the general population. *Kidney international*, 74(4), 505-512. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.200>
- [5] Ronco, C., McCullough, P., Anker, S. D., Anand, I., Aspromonte, N., Bagshaw, S. M., Bellomo, R., Berl, T., Bobek, I., Cruz, D. N., Daliento, L., Davenport, A., Haapio, M., Hillege, H., House, A. A., Katz, N., Maisel, A., Mankad, S., Zanco, P., Mebazaa, A., ... Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) consensus group (2010). Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the acute dialysis quality initiative. *European heart journal*, 31(6), 703-711. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehp507>
- [6] Voronkov, L. H., Amosova, K. M., Dziak, H. V., Zharinov, O. Y., Kovalenko, V. M., Korkushko, O. V., Nesukai, O. H., Parkhomenko, O. M., Rudyk, Yu. S., & Sychoy, O. S. (2017). *Rekomendatsii Asotsiatsii kardiologiv Ukrainy z diahnostyky ta likuvannia khronichnoi seritsevoi nedostatnosti (2017)* [Recommendation of Association of Cardiologists of Ukraine for the treatment of chronic heart failure in adults (2017)]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [7] 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. *European heart journal cardiovascular imaging*, 16(3), 233-270. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jev014>
- [8] Ganau, A., Devereux, R. B., Roman, M. J., de Simone, G., Pickering, T. G., Saba, P. S., Vargiu, P., Simongini, I., & Laragh, J. H. (1992). Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 19(7), 1550-1558. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90617-v](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90617-v)
- [9] Alyokhin, M. N., Bart, B. Ya., Larina, V. N., & Bart, Yu. V. (2007). Mio-kardialnyi indeks obshchei disfunktsii serdtsa (Tei-indeks), vozmozhnosti i ogranicheniya [Myocardial Performance Index of Global Cardiac Dysfunction (Tei-index), Potentialities and Limitations]. *Ultrazvukovaya i funktsionalnaya diagnostika*, (1), 119-124. [in Russian].
- [10] Levey, A. S., Stevens, L. A., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Castro, A. F., 3rd, Feldman, H. I., Kusek, J. W., Eggers, P., Van Lente, F., Greene, T., Coresh, J., & CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (2009). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*, 150(9), 604-612. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>
- [11] Levey, A. S., Coresh, J., Greene, T., Stevens, L. A., Zhang, Y. L., Hendriksen, S., Kusek, J. W., Van Lente, F., & Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (2006). Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for

- estimating glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*, 145(4), 247-254. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-4-200608150-00004>
- [12] Stevens, L. A., & Levey, A. S. (2005). Measurement of kidney function. *The Medical clinics of North America*, 89(3), 457-473. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2004.11.009>
- [13] Heywood, J. T., Fonarow, G. C., Costanzo, M. R., Mathur, V. S., Wigneswaran, J. R., Wynne, J., & ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators (2007). High prevalence of renal dysfunction and its impact on outcome in 118,465 patients hospitalized with acute decompensated heart failure: a report from the ADHERE database. *Journal of cardiac failure*, 13(6), 422-430. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2007.03.011>
- [14] Mavrakanas, T. A., Khattak, A., Singh, K., & Charytan, D. M. (2018). Echocardiographic parameters and renal outcomes in patients with preserved renal function, and mild- moderate CKD. *BMC nephrology*, 19(1), 176. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0975-5>
- [15] Lashkul, D. A. (2017). *Kliniko-patohenychni aspekty diahnozyky, likuvannia ta prohnozuvannia khronichnoi sertsevoi nedostatnosti ishemichnogo henezu u khvorykh z dysfunktsiieiu nyrok* (Dis. dokt. med. nauk) [Clinical and pathogenetic aspects of diagnosis, treatment and prognosis of chronic heart failure of ischemic origin in patients with renal dysfunction (Doctoral dissertation)]. Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
- [16] Park, C. S., Park, J. J., Oh, I. Y., Yoon, C. H., Choi, D. J., Park, H. A., ... Oh, B. H. (2017). Relation of Renal Function with Left Ventricular Systolic Function and NT-proBNP Level and Its Prognostic Implication in Heart Failure with Preserved versus Reduced Ejection Fraction: an analysis from the Korean Heart Failure (KorHF) Registry. *Korean circulation journal*, 47(5), 727-741. <https://doi.org/10.4070/kcj.2017.0050>
- [17] Khaniukov, O. O., Sapozhnychenko, L. V., Smolyanova, O. V., Kovtun, O. V., & Doroshenko, A. M. (2020). Urazhennia nyrok u khvorykh na khronichnu sertsevu nedostatnist ishemichnogo henezu ta steatoz pechinky [The involvement of kidneys in patients with chronic heart failure ischemic etiology and liver steatosis]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*, (2), 174-178. [in Ukrainian]. <http://dx.doi.org/10.29254/2077-4214-2020-2-156-174-178>
- [18] Zahorodnia, L. I. (2015). *Osoblyvosti patohenezu porushen vodno-solovoho obminu u khvorykh na khronichnu sertsevu nedostatnist ta obhruntuvannia shliakhiv yikh korektsii* (Dys. kand. med. nauk) [Peculiarities of pathogenesis of water-salt metabolism disorders in patients with chronic heart failure and substantiation of ways of their correction (PhD Dissertation)]. Ukrainian Research Institute of Transport Medicine of the Ministry of Health of Ukraine. [in Ukrainian].
- [19] Lashkul, D. A. (2014). Strukturno-funktsionalni zminy sertsia u khvorykh na khronichnu sertsevu nedostatnist ishemichnogo henezu, asotsiiovanu z nyrkovoiu dysfunktsiieiu [Structural and functional changes of the heart in patients with chronic ischemic heart failure, associated with renal dysfunction]. *Zaporozhye medical journal*, (2), 18-21. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.2.25233>

Age-based immunomorphological analysis of rat testis in streptozotocin-induced diabetes mellitus

I.-A. V. Kondrat¹, I. S. Shponka², T. V. Shynkarenko²

¹Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine, ²Dnipro 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:

diabetes mellitus, testis, immunohistochemistry, rat, age factor.

Pathologia
2021; 18 (1), 12-18

*E-mail:
timash3061990@gmail.com

Diabetes mellitus (DM) has emerged as a public healthcare problem. Sustained hyperglycemia has been linked with many complications including impaired male fertility.

The aim of the study: to evaluate the effect of STZ-induced diabetes mellitus on testicular immunomorphology both in the peripubertal period and adulthood of rats.

Material and methods. Peripubertal male rats were injected with STZ (70 mg/kg), adult rats received 60 mg/kg. Immunohistochemical staining was performed to assess cell proliferation (Ki-67), apoptosis (caspase-3), expression of androgen receptors (AR), Wilms Tumor (WT1) protein. Also, the morphology of blood vessels was analyzed on the basis of CD34-immunoreactivity. Taking into consideration the small groups of animals, statistical analysis was made with the Mann-Whitney U test.

Results. Fewer rows of proliferating spermatogonia were observed in the experimental animals ($P < 0.05$) of both age groups. Surprisingly, diabetes resulted in decreased caspase-3 expression ($P < 0.05$) except for the early period (2 weeks) in the peripubertal group, in which this trend was not observed. The same principles are true in terms of AR expression in seminiferous tubules. Hyperglycemia prevented immature testes from the complete development but thickens the walls of microvessels ($P < 0.05$). Also, the atrophy of spermatogenic epithelium and Sertoli cells was registered in most tubules of all the experimental groups ($P < 0.05$).

Conclusion. the diabetic injury of testicular tissue is a long time process possessing characteristic feature in the peripubertal period, for example, the later development of AR deficiency. In addition, the high level of apoptosis is characteristic of an immature testis and so is the tendency of caspase-immunoreactivity to persist.

Ключові слова:

цукровий діабет, яєчка, імуногістохімія, шур, віковий фактор.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 12-18

Імуноморфологічний аналіз яєчок щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом: віковий аспект

I.-A. V. Kondrat, I. S. Shponka, T. V. Shynkarenko

Цукровий діабет (ЦД) – суттєва проблема системи охорони здоров'я. Тривала гіперглікемія пов'язана з багатьма ускладненнями, включаючи порушення фертильності чоловіків.

Мета роботи – оцінити вплив індукованого стрептозотоцином (STZ) цукрового діабету на імуноморфологію яєчок щурів у перипубертатному періоді та дорослому віці.

Матеріали та методи. Перипубертатним самцям щурів вводили STZ у дозі 70 мг/кг, дорослі щури отримували 60 мг/кг. Імуногістохімічні реакції проводили для оцінювання проліферації клітин (Ki-67), апоптозу (caspase-3), експресії рецепторів андрогенів (AR), білка пухлини Вільмса (WT1). Також аналізували морфологію судин на основі CD34-імунореактивності. Враховуючи невеликі групи тварин, статистичний аналіз здійснили за допомогою тесту Манна-Вітні.

Результати. В експериментальних тварин ($p < 0,05$) обох вікових груп спостерігали менше рядків сперматогоній, що мітотично діляться. Дивно, але діабет призвів до зниження експресії каспази-3 ($p < 0,05$), за винятком раннього періоду (2 тижні) у групі перипубертату, в якій цей тренд не зафіксований. Подібні закономірності виявлені для експресії рецепторів андрогенів. Гіперглікемія запобігла повноцінному розвитку незрілих яєчок, але потовщила стінки мікросудин ($p < 0,05$). Також зареєстровано атрофію сперматогенного епітелію та клітин Сертолі в більшості каналців у всіх експериментальних групах.

Висновки. Діабетичне пошкодження тканин яєчок – тривалий процес, що має характерні особливості в перипубертатному періоді, наприклад пізніший дефіцит AR. Крім того, високий рівень апоптозу характерний для незрілого яєчка, як і тенденція до збереження caspase3-імунореактивності.

Ключевые слова:

сахарный диабет, яички, иммуногистохимия, крыса, возрастной фактор.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51). С. 12-18

Имуноморфологический анализ яичек крыс со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом: возрастной аспект

I.-A. V. Kondrat, I. S. Shponka, T. V. Shynkarenko

Сахарный диабет (СД) стал значительной проблемой здравоохранения. Длительная гипергликемия связана со многими осложнениями, включая нарушения фертильности мужчин.

Цель работы – оценить влияние индуцированного стрептозотоцином (STZ) сахарного диабета на иммуноморфологию яичек крыс в перипубертатном периоде и взрослом возрасте.

Материалы и методы. Перипубертатным самцам крыс вводили STZ в дозе 70 мг/кг, взрослые крысы получали 60 мг/кг. Иммуногистохимические реакции проводили для оценки пролиферации клеток (Ki-67), апоптоза (caspase-3), экспрессии рецепторов андрогенов (AR), белка опухоли Вильямса (WT1). Также анализировали морфологию сосудов на основе CD34-иммунореактивности. Учитывая небольшие группы животных, статистический анализ провели с помощью теста Манна–Уитни.

Результаты. У экспериментальных животных обеих возрастных групп отмечено меньше рядов митотически делящихся сперматогоний ($p < 0,05$). Удивительно, но диабет привел к снижению экспрессии каспазы-3 ($p < 0,05$) за исключением раннего периода (2 недели) в группе перипубертата, в которой этот тренд не зафиксирован. Подобные закономерности обнаружены для экспрессии рецепторов андрогенов. Гипергликемия предотвратила полноценное развитие незрелых яичек, но стенки микрососудов стали толще ($p < 0,05$). Также зарегистрировали атрофию сперматогенного эпителия и клеток Сертоли в большинстве канальцев во всех экспериментальных группах.

Выводы. Диабетическое повреждение тканей яичек – длительный процесс, имеющий характерные особенности в перипубертатном периоде, например дефицит AR развивается впоследствии. Кроме того, высокий уровень апоптоза характерен для незрелого яичка, как и тенденция к сохранению caspase3-иммунореактивности.

Diabetes mellitus is considered to be a quite common cause of infertility worldwide. Unfortunately, this complication is observed in both diabetes mellitus type 1 and type 2. In the latter case, however, the increased aromatization and circulating estrogens resulting in LH inhibition as well as obstructive sleep apnea syndrome (with direct hypoxemic effect and indirect via the hypothalamic–pituitary–gonadal axis) are main contributors to the secondary (hypogonadotropic) hypogonadism [1]. Nevertheless, the hyperglycemic state promotes behavioral, structural, and molecular changes by itself as shown in numerous previous publications on alloxan- and streptozotocin-induced diabetes in rodents [2,3].

Both reactive oxygen and nitrogen species are known to be responsible for the modification of intracellular biomolecules, such as lipids, proteins, nucleic acids, and carbohydrates, in induced hyperglycemia.

Kanter et al. reported a reduction in the diameters of seminiferous tubules and spermatogenic cells and damage to the morphology of the epithelium in diabetic rats [4,5].

However, there are no scientific papers on the influence of diabetes on testicular immunomorphology in the peripubertal period. Indeed, little is known about the expression of essential genes in testicular tissue.

Although big effort has been made for controlling blood glucose, the complication of diabetes is still the major reason to cause organ dysfunction and death.

Aim

The aim of the study was to evaluate the effect of STZ-induced diabetes mellitus on testicular immunomorphology both in the peripubertal period and adulthood of rats.

Materials and methods

Animals. The study was carried out on 48 white outbred peripubertal (2-month-old) and 48 sexually mature (12-month-old) male rats (Table 1) that were acclimatized to the experimental conditions for at least 1 week prior to the start of the experiment in Ivano-Frankivsk National Medical University. They consumed a standard laboratory diet and water according to the policy of free access.

Ethical issues. The study was approved by the Ethical Committee of Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine (conclusion № 109/19).

All the procedures were carried out in accordance with the guidelines of the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments.

Induction of DM. The rats were divided into 2 groups: control and experimental. In the experimental group, diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (SIGMA, USA) 7 mg/100 g body weight in immature animals and 6 mg/100 g body weight in adult animals (dissolved in 0.1 M citrate buffer solution with pH = 4.5). In order to avoid hypoglycemia (because of the destruction of β -cells), they received additional glucose for one day. In the control group of animals, the equal volume of 0.1 M citrate buffer was injected intraperitoneally.

Four days later, a blood sample was collected from the tail vein, and hyperglycemia was confirmed by a blood glucose level (≥ 13 mmol/L). Glucose was determined using a commercial glucometer (ACCU-CHEK® Active, Roche Diagnostics, Germany).

Microscopic analysis. All the rats were sacrificed by means of decapitation two weeks (for the evaluation of short-term effects) or ten weeks (long-term effects) after the injections. For light microscopic observation, the testes samples were fixed in 10 % buffered formaldehyde, dehydrated in ethanol, and embedded in paraffin. Then, the blocks were sent to the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine (Dnipro State Medical University), where the following steps were done.

The testes tissues were cut into 4- μ m-thick sections. The sections were then deparaffinized with xylene and rehydrated with alcohol and water. The rehydrated sections were stained with hematoxylin and eosin

Immunohistochemistry. Besides the routine histological examination (hematoxylin-eosin staining), the immunohistochemical analysis was performed according to the TermoScientific (TS) protocols with primary antibodies: rabbit anti-Ki-67 (1:400; Abcam, Cambridge, MA, USA), mouse anti-caspase3 (1:100; TS, CA, USA), mouse anti-WT1 (1:100; Diagnostic BioSystems, CA, USA), rabbit anti-AR (1:200; TS, USA), rabbit anti-CD34 (1:100; TS, CA, USA). Visualization system Lab Vision Quanto (TS, USA) was used with the detection of the protein chain using DAB Quanto Chromogen (TS, USA) for 4 μ m-thick cut-offs. A negative control slide was prepared from one specimen using a non-immune solution instead of the primary antibodies.

Table 1. Groups of rats according to the age and the duration of hyperglycemia (time after the injection)

Time after the injection, days	2-month-old peripubertal rats (weighing 65–95 g), n		12-month-old mature rats (weighing 160–180 g), n	
	Peripubertal I (control)	Peripubertal II (experiment)	Adult I (control)	Adult II (experiment)
14 (short-term effects)	9	15	9	15
70 (long-term effects)	9	15	9	15

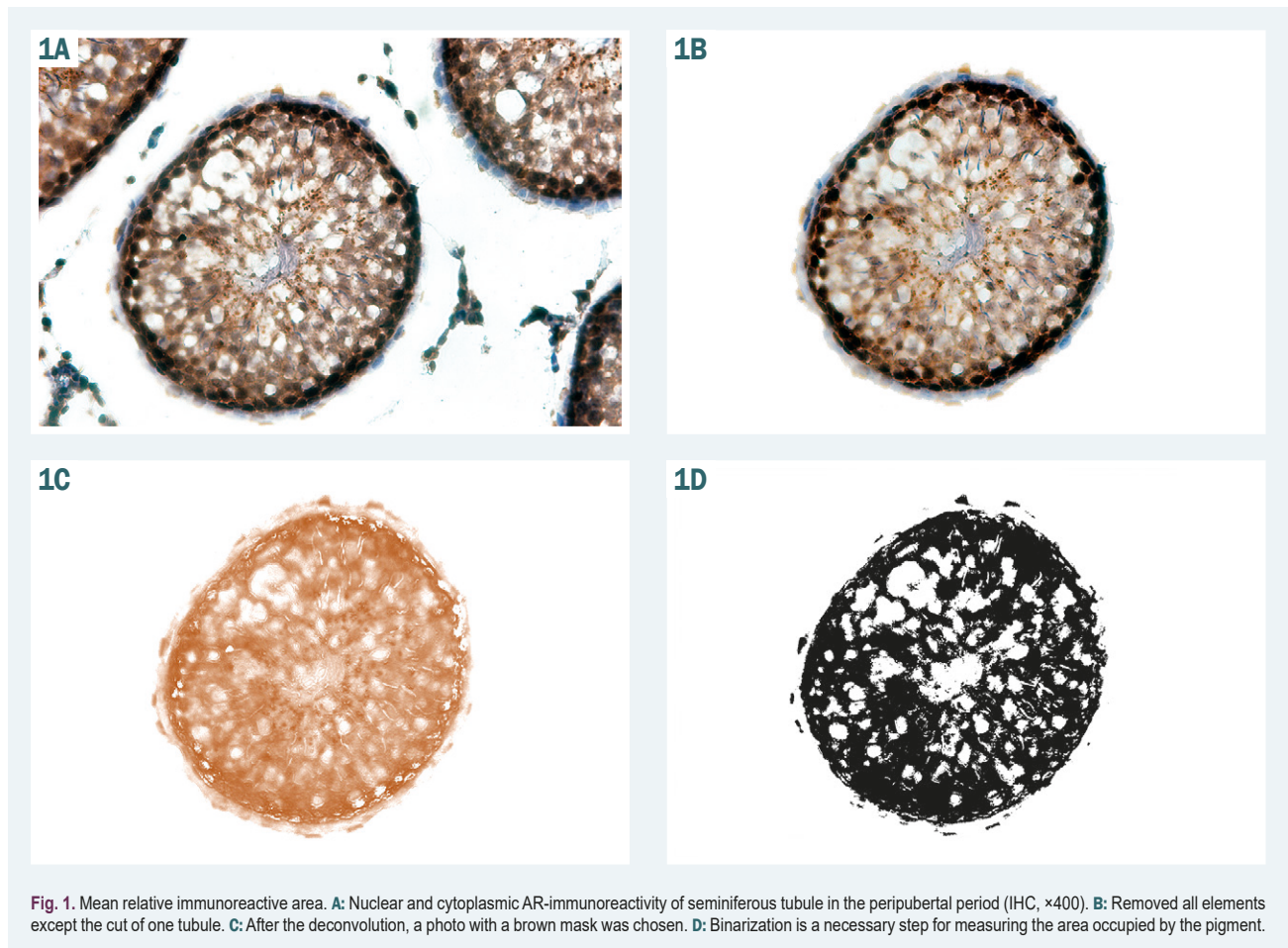


Fig. 1. Mean relative immunoreactive area. A: Nuclear and cytoplasmic AR-immunoreactivity of seminiferous tubule in the peripubertal period (IHC, $\times 400$). B: Removed all elements except the cut of one tubule. C: After the deconvolution, a photo with a brown mask was chosen. D: Binarization is a necessary step for measuring the area occupied by the pigment.

Morphometric study. Digital photos were obtained from the regions of studied tumors using ZEISS AxioCam 512 color camera under Axio Imager.A2 microscope (magnification $\times 100/200/400$, depending on the marker). Each sample was illustrated with 3 photos. The area and linear dimensions were measured using the tools of ImageJ 1.49v package [6].

Proliferative activity was easily assessed by counting the rows of Ki-67 expressing spermatogonia. Caspase-3 and AR showed such wide distribution in seminiferous tubules that required the analysis of the immunopositive area share (Fig. 1). WT1 expression enables calculating the mean number of Sertoli cells per tubule. In order to measure the width of the walls in the microvasculature, three indicative cross-cut vessels were chosen in any single case.

Statistical analysis was conducted using Statistica software (version 6.1; serial number AGAR 909 E415822FA). Shapiro–Wilk test was used for checking whether the distribution of the values is normal.

Since the distribution in most parameters was estimated abnormal, Mann–Whitney U test was employed to

assess the differences amongst the experimental groups, while Spearman's rank test was suitable for correlative analysis. For the effective presentation of such data, the box and whisker plots were constructed and formatted using the tools of MS Word 2010. $P < 0.05$ value was accepted to be statistically significant [7].

Results

This study examined the short and long term effects of STZ-induced diabetes mellitus on proliferation, apoptosis, microvasculature, expression of androgen receptors in Leydig cells, and the number of Sertoli cells in late puberty and adulthood.

Proliferative activity. Typically, Ki-67 demonstrates diffuse or diffusely focal nuclear staining (Fig. 2A). However, the Ki-67 label was completely focal in weakly stained cells. PI of endothelial cells was very high (81.9 (44.3; 90.1) %) in the peripubertal group, indicating ongoing vasculogenesis. The analogous parameter is lower in the adult group but insignificantly (Mann–Whitney test, $P > 0.05$). Although

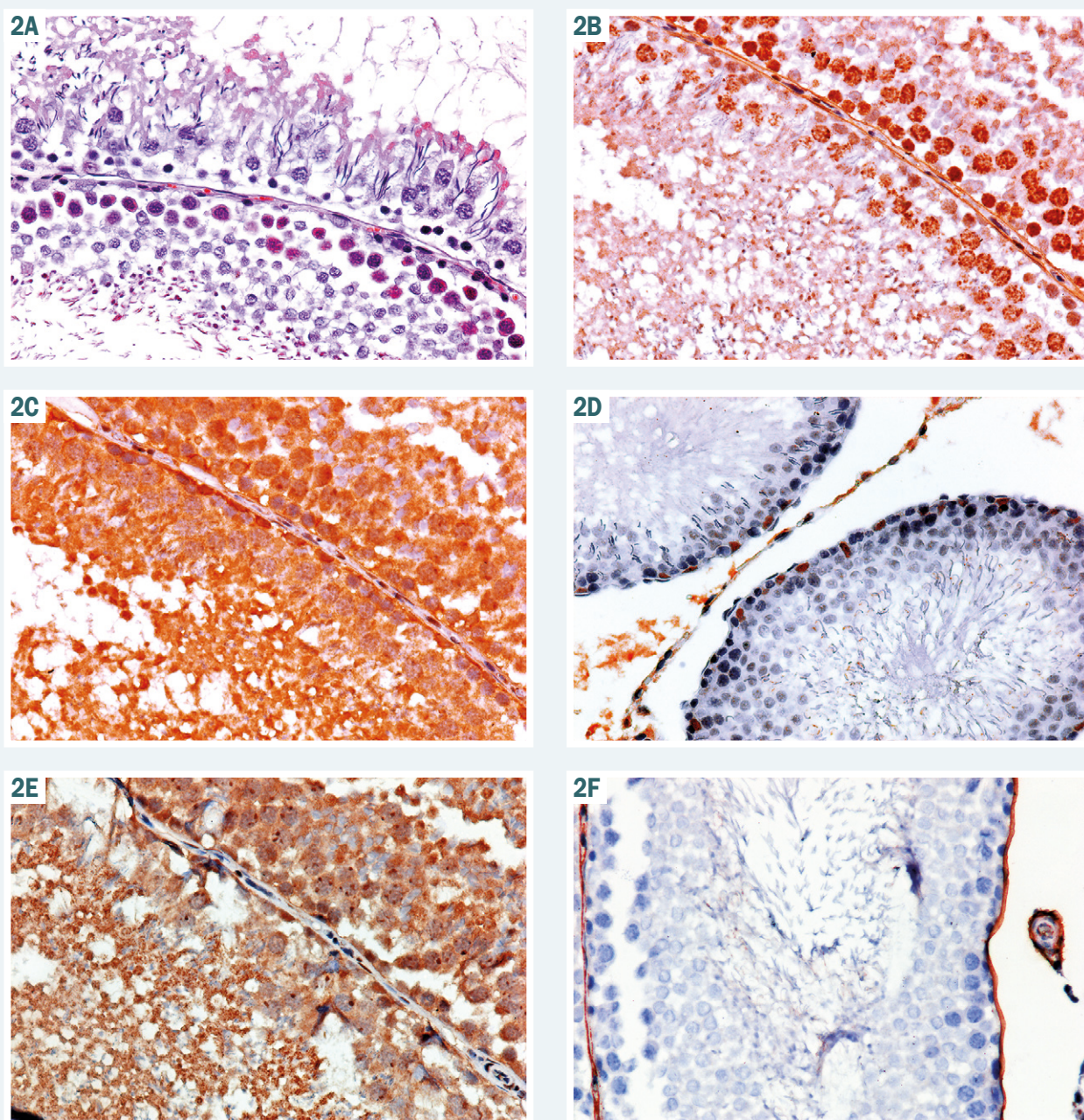


Fig. 2. Seminiferous tubules in adult rats with STZ-induced hyperglycemia (8 weeks). **A:** Subtle degeneration of spermatogenic tissue (H&E, $\times 400$). **B:** Intensive proliferation (Ki-67) in 2 basal layers of spermatogonia. **C:** Cytoplasmic caspase-3-immunoreactivity in most cells. **D:** Relatively rare WT1+ Sertoli cells, weak background reaction in spermatogonia. **E:** Mostly cytoplasmic IHC reaction (AR) in both sustentocytic and spermatogenic lineages. **F:** Highlighted by CD34 accumulation, thick vascular walls were measured in areas with artificially incoherent testicular tissue. B–F. IHC, $\times 400$.

the interstitial hormone-producing cells demonstrated a relatively low level of PI (6.2 (3.5; 19.7) %) with significantly (Mann–Whitney test, $P < 0.05$) higher values in control groups (16.3 (10.6; 54.2) %), it can be at least partly explained by the more cellular clusters of interstitial cells in the latter group. In terms of seminiferous tubules, we found the distinction between control and experimental groups so vivid, that it was not necessary to calculate PI. Instead, we compared the number of Ki-67-positive rows and proved the differences in both adult and peripubertal rats (Mann–Whitney test, $P < 0.05$). The farther details are presented in Fig. 3A, 4A.

Apoptosis. Caspase-3 labels were intracytoplasmic with the tendency for the perinuclear zone, especially in spermatogonia (Fig. 2C). We registered caspase-3 expression in interstitial cells (index of expression 23.7 (14.7; 60.0) %) and in endothelial cells (45.5 (12.1; 83.2) %).

Long-term hyperglycemia (Fig. 4B) induced the lower levels of caspase-3 reactivity of seminiferous tubules at both ages (Mann–Whitney test, $P < 0.05$). In short-term groups (Fig. 3B), the drop of the immunoreactive tubular area was found in adult rats (Mann–Whitney test, $P < 0.05$), whereas peripubertal ones retain relatively high levels of labeling (40–50 %).

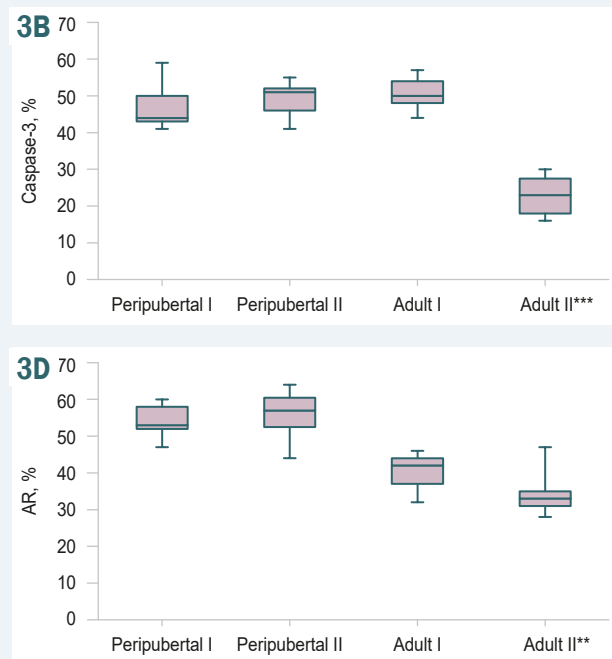
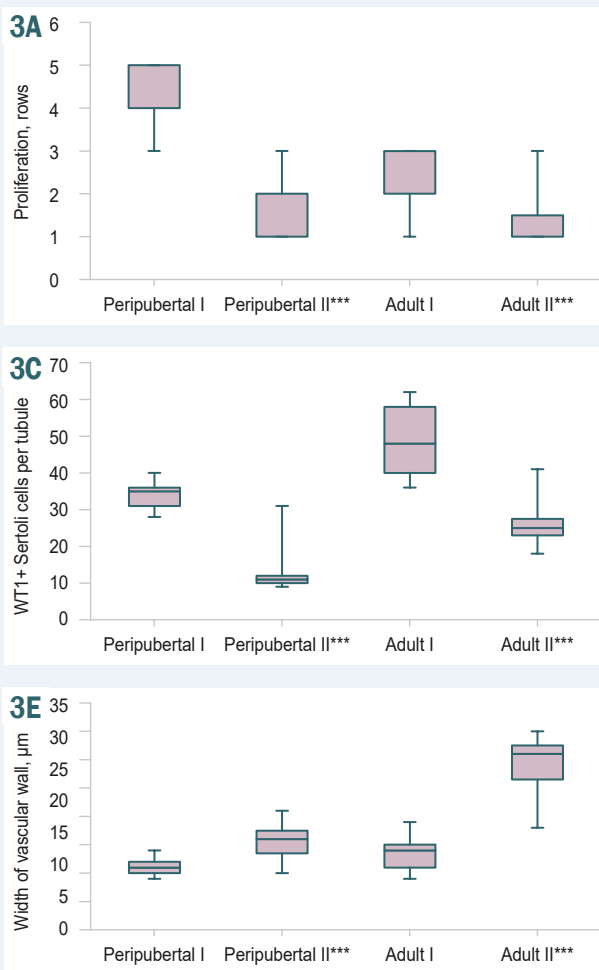


Fig. 3. Short-term effects of diabetes mellitus in peripubertal and adult rats (control (I) vs diabetic (II) rats).

3A: Ki-67-reactive spermatogonia, rows.
3B: Mean Caspase3-expressing area, % (tubule = 100 %).
3C: Mean WT1-positive Sertoli cells per tubule.
3D: Mean AR-expressing area, % (tubule = 100 %).
3E: Mean width of the vascular wall, µm.

The asterisks indicate significant difference (Mann–Whitney test, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$) between untreated control and STZ-induced diabetic rats.

WT1+ Sertoli cells. WT1-immunoreactivity varied in the samples. Sertoli cells demonstrated intensive and moderate nuclear staining, whereas in diabetic groups the Sertoli cells are less numerous (Mann–Whitney test, $P < 0.05$) and the intensity of the reaction is significantly lower (Fig. 2D, 3C and 4C). The results in adult and prepubertal testes were statistically equal (Mann–Whitney test, $P > 0.05$) in control, but the number of WT1-positive Sertoli cells was lower among younger groups with DM (Mann–Whitney test, $P < 0.05$).

In addition, in control groups, a few WT1-positive nuclei were detected in the higher layers among maturing germ cells, mostly in the seminiferous tubules in late spermatogenesis. Meanwhile, such sections are not recognized in diabetic groups.

AR. Immunohistochemical study revealed that the nuclei of spermatogenic lineage (+), Leydig cells (+++), Sertoli cells (+++), and peritubular myoid cells (+++) exhibited positive reactivity to anti-AR (Fig. 2E). The expression of AR in germ cells has been controversial. Area of AR-reactivity correlates with the values of caspase-3-immunoreactivity (Spearman's rank test, $r = 0.682$, $P < 0.05$). Consequently, the differences between groups were similar (Fig. 3D, 4D).

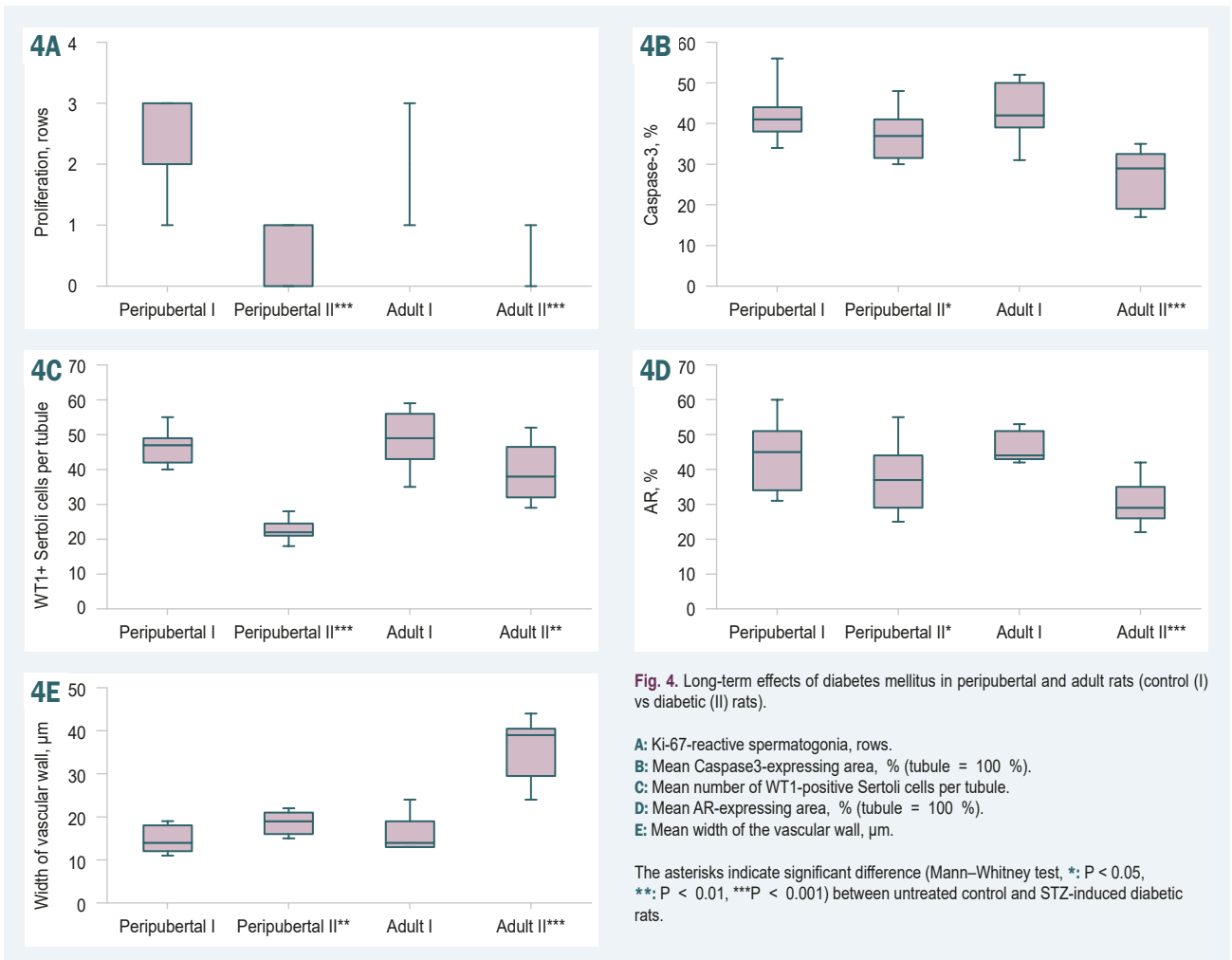
Microvascular morphology (CD34-based). CD34-immunolabels enable a precise analysis of the mi-

crovasculature (Fig. 2F). The diameter of microvessels (with walls) varied between 0.06 and 0.15 mm. The vascular walls were as thin as 10–40 µm (Fig. 3E, 4E). In experimental groups, they were significantly thicker (Mann–Whitney test, $P < 0.05$).

Discussion

During mitosis, Ki-67 is essential for the formation of the perichromosomal layer, a ribonucleoprotein sheath coating the condensed chromosomes. In this structure, Ki-67 acts to prevent the aggregation of mitotic chromosomes [8]. In general, the tendency of spermatogenesis arrest corresponds to data published by T. Karaca et al. in their report [9]. However, they did not note the PI for non-spermatogenic cells.

Caspases are a family of proteins essential in the apoptotic mechanism. Upon an apoptotic stimulus, initiator caspases are activated starting the biochemical apoptotic cascade. The initiator caspases-8 and -9 are responsible for the extrinsic and intrinsic apoptotic pathway activation, respectively, leading to the most important effector caspase activation: caspase-3. Caspase-3 activation marks the point of no return in the apoptotic process and is responsible for key proteins cleavage leading to final cell disassembly [10]. Although we encountered



some works describing nuclear immunostaining [9], they seem to be implausible. In all the publications we have read, the authors report the increased caspase expression in the spermatogenic tissue of diabetic rats. However, they applied other methods of registration, what can partly explain the controversy [9,11]. The fact that some cells produce both Ki-67 and caspase-3 appears controversial and requires further investigations.

WT1 is not just known as an immunohistochemical marker of Sertoli cells but also dictates the development and hormonal activity of testicular interstitium [12]. Wang X.N. et al. showed the morphology of WT1-positive Sertoli cells [13]. However, we did not find any papers assessing WT1-immunostaining in STZ-induced diabetes, not to mention the prepubertal rats with this condition. Therefore, the involution and/or pure development of Sertoli cells shown in this work suggest the additional pathway involved in male sexual dysfunction and infertility.

Androgens exert their action through AR and its signaling in the testis is essential for spermatogenesis. AR is not expressed in the developing germ cell lineage so is thought to exert its effects through testicular Sertoli and peri-tubular myoid cells [14]. Some studies claim the presence of AR, while other studies deny its appearance. However, both teams agreed that AR has been implicated in the process of gametogenesis [3,15].

Strong evidence demonstrates CD34 is expressed not only by MSC but by a multitude of other nonhematopoietic cell types including muscle satellite cells, corneal keratocytes, interstitial cells, epithelial progenitors, and vascular endothelial progenitors. In many cases, the CD34(+) cells represent a small proportion of the total cell population and also indicate a distinct subset of cells with enhanced progenitor activity [16].

Conclusions

In conclusion, the diabetic injury of testicular tissue is a long time process requiring long-term experimental observations. Therefore, the complete complex of structural modifications is to be expected in months and, probably, years after the onset of DM, although the functional changes along with the hemodynamic disorders might be obvious even in several days of hyperglycemia. In addition, rats in the peripubertal period are proved to possess characteristic features, for example, the later developing deficiency of AR (P < 0.05 just in the 10 weeks' group). Also, the high level of apoptosis is characteristic of an immature testis and so is the tendency of caspase-immunoreactivity to persist. Caspase-3 expression, however, drops later (P < 0.05) even in the group of reproductively immature rats.

Funding

The research was performed within the framework of the research work of Ivano-Frankivsk National Medical University "Morpho-functional characteristics of some organs of the nervous, endocrine, digestive and genital systems in diabetes mellitus in conditions of chronic stress" (state registration number 0119U003551).

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

Надійшла до редакції / Received: 21.12.2020
Після доопрацювання / Revised: 26.02.2021
Прийнято до друку / Accepted: 09.03.2020

Information about authors:

Kondrat I.-A. V., PhD student of the Department of Pathological Anatomy, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0003-3284-7057](https://orcid.org/0000-0003-3284-7057)

Shponka I. S., MD, PhD, DSc, First Vice-Rector, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0002-7561-6489](https://orcid.org/0000-0002-7561-6489)

Shynkarenko T. V., MD, PhD, Assistant Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0002-3428-7949](https://orcid.org/0000-0002-3428-7949)

Відомості про авторів:

Кондрат І.-А. В., аспірант каф. патологічної анатомії, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.
Шпонька І. С., д-р мед. наук, перший проректор, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, Україна.
Шинкаренко Т. В., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Кондрат И.-А. В., аспирант каф. патологической анатомии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.
Шпонька И. С., д-р мед. наук, первый проректор, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.
Шинкаренко Т. В., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Jangir, R. N., & Jain, G. C. (2014). Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Current diabetes reviews*, 10(3), 147-157. <https://doi.org/10.2174/1573399810666140606111745>
- [2] Donmez, Y. B., Kizilay, G., & Topcu-Tarladacalisir, Y. (2014). MAPK immunoreactivity in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Acta cirurgica brasileira*, 29(10), 644-650. <https://doi.org/10.1590/s0102-8650201400160004>
- [3] Trindade, A. A., Simões, A. C., Silva, R. J., Macedo, C. S., & Spadella, C. T. (2013). Long term evaluation of morphometric and ultrastructural changes of testes of alloxan-induced diabetic rats. *Acta cirurgica brasileira*, 28(4), 256-265. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502013000400005>
- [4] Kanter, M., Aktas, C., & Erboga, M. (2013). Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular nutrition & food research*, 57(9), 1578-1585. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200170>
- [5] Nna, V. U., Abu Bakar, A. B., Ahmad, A., Eleazu, C. O., & Mohamed, M. (2019). Oxidative Stress, NF-κB-Mediated Inflammation and Apoptosis in the Testes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: Combined Protective Effects of Malaysian Propolis and Metformin. *Antioxidants*, 8(10), 465. <https://doi.org/10.3390/antiox8100465>

- [6] Poslavska, O. V. (2015). Metodolohiia vykorystannia prohramnoho zabezpechennia dia analizu tsyfrovyykh mikrofotohrafii na bazi kursu patomorfologii z metoiu pidvyshchennia profesiinoho rinvnia studentiv i naukovtsiv [Methodology for the use of software for the analysis of digital micrographs on the base of pathomorphology course in order to increase the professional level of students and scientists]. *Morphologia*, 9(3), 122-126. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2015.3.122-126>
- [7] Antononov, M. Yu. (2006). *Matematicheskaya obrobotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh* [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. Kiev: Firma Maliy Druk. [in Russian].
- [8] Sun, X., & Kaufman, P. D. (2018). Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*, 127(2), 175-186. <https://doi.org/10.1007/s00412-018-0659-8>
- [9] Karaca, T., Demirtaş, S., Karaboğa, İ., & Ayvazz, S. (2015). Protective effects of royal jelly against testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish journal of medical sciences*, 45(1), 27-32.
- [10] Chowdhury, I., Tharakan, B., & Bhat, G. K. (2008). Caspases – an update. *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology*, 151(1), 10-27. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.05.010>
- [11] Khosravi, Z., Sedaghat, R., Baluchnejadmojarad, T., & Roghani, M. (2019). Diosgenin ameliorates testicular damage in streptozotocin-diabetic rats through attenuation of apoptosis, oxidative stress, and inflammation. *International immunopharmacology*, 70, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.047>
- [12] Wen, Q., Zheng, Q. S., Li, X. X., Hu, Z. Y., Gao, F., Cheng, C. Y., & Liu, Y. X. (2014). Wt1 dictates the fate of fetal and adult Leydig cells during development in the mouse testis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 307(12), E1131-E1143. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00425.2014>
- [13] Wang, X. N., Li, Z. S., Ren, Y., Jiang, T., Wang, Y. Q., Chen, M., Zhang, J., Hao, J. X., Wang, Y. B., Sha, R. N., Huang, Y., Liu, X., Hu, J. C., Sun, G. Q., Li, H. G., Xiong, C. L., Xie, J., Jiang, Z. M., Cai, Z. M., Wang, J., ... Gao, F. (2013). The Wilms tumor gene, Wt1, is critical for mouse spermatogenesis via regulation of sertoli cell polarity and is associated with non-obstructive azoospermia in humans. *PLoS genetics*, 9(8), e1003645. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003645>
- [14] O'Hara, L., & Smith, L. B. (2015). Androgen receptor roles in spermatogenesis and infertility. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 29(4), 595-605. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.006>
- [15] Abd El-Meseeh, N. A., El-Shaarawy, E. A., AlDomairy, A. F., & Sehly, R. A. (2016). Changes in rat testis morphology and androgen receptor expression around the age of puberty. *Annals of anatomy*, 205, 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.01.003>
- [16] Sidney, L. E., Branch, M. J., Dunphy, S. E., Dua, H. S., & Hopkinson, A. (2014). Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem cells*, 32(6), 1380-1389. <https://doi.org/10.1002/stem.1661>

Прогностична цінність сироваткової концентрації білка S100B у пацієнтів у гострому періоді спонтанного супратенторіального внутрішньомозкового крововиливу

О. А. Козьолкін ^{A,F}, А. А. Кузнєцов ^{*A-E}

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Мета роботи – оцінити інформативність сироваткової концентрації білка S100B у визначенні короткострокового прогнозу в пацієнтів у гострому періоді спонтанного супратенторіального внутрішньомозкового крововиливу (ССВМК) на тлі консервативної терапії.

Матеріали та методи. Здійснили проспективне, когортне дослідження з залученням 90 пацієнтів у гострому періоді ССВМК на тлі консервативної терапії. Рівень неврологічного дефіциту оцінювали за шкалою коми Full Outline of Unresponsiveness, шкалою коми Глазо та шкалою інсульту Національного інституту здоров'я США. За даними комп'ютерної томографії головного мозку визначали об'єм внутрішньомозкового крововиливу (ОВМК), об'єм вторинного внутрішньошлуночкового крововиливу (ОВВШК) і загальний об'єм інтракраніальної геморагії (ЗОІКГ). Лабораторні зразки крові брали протягом 24 годин від часу госпіталізації. Вміст білка S100B у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу. Комбінованими клінічними кінцевими точками вважали несприятливі варіанти перебігу (клініко-неврологічне погіршення протягом 48 годин після госпіталізації) та наслідку гострого періоду ССВМК (значення 4–6 балів за модифікованою шкалою Ренкіна на 21 добу захворювання). Статистичне опрацювання результатів передбачало кореляційний аналіз, логістичний регресійний аналіз і ROC-аналіз.

Результати. Клініко-неврологічне погіршення протягом 48 годин після госпіталізації зафіксували у 18 (20,0 %) пацієнтів, несприятливий наслідок гострого періоду ССВМК – у 49 (54,4 %). Встановили, що сироваткова концентрація білка S100B корелює з ОВМК ($R = 0,34, p < 0,01$), ОВВШК ($R = 0,39, p < 0,01$) та ЗОІКГ ($R = 0,45, p < 0,01$), пацієнти з несприятливими варіантами перебігу та наслідку гострого періоду ССВМК уже в першу добу після госпіталізації вірогідно відрізнялися більшим вмістом білка S100B у сироватці крові ($p < 0,0001$). Розробили високочутливу мульти-предикторну логістичну регресійну модель, що інтегрує прогностичну цінність сироваткової концентрації білка S100B з інформативністю клініко-нейровізуалізаційних показників (сумарний бал за шкалою інсульту Національного інституту здоров'я США, ОВВШК) і дає змогу визначати індивідуальний ризик несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії з точністю 90,0 % ($AUC \pm SE$ (95 % ДІ) = $0,95 \pm 0,02$ (0,89–0,99), $p < 0,0001$).

Висновки. Концентрація білка S100B у сироватці крові пацієнтів із ССВМК у першу добу після госпіталізації – інформативний додатковий показник для верифікації короткострокового прогнозу на тлі консервативної терапії.

Ключові слова:
внутрішньо-мозковий крововилив, білок S100B, прогноз.

Патологія. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 19-25

*E-mail: titus3.05@gmail.com

Prognostic value of serum S100B concentration in patients with acute spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage

O. A. Koziolkin, A. A. Kuznietsov

Aim of the work – to evaluate the informativeness of serum protein S100B levels in detection of short-term prognosis in patients with acute period of spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage (SSICH) on the background of conservative therapy.

Materials and methods. Prospective cohort study of 90 patients with acute SSICH on the background of conservative therapy was done. Level of neurological deficit was evaluated using Full Outline of Unresponsiveness Scale, Glasgow Coma Scale and National Institute of Health Stroke Scale. Computed tomography was done to detect the intracerebral hemorrhage volume (ICHV), secondary intraventricular hemorrhage volume (SIVHV) and total volume of intracranial hemorrhage (TVICH). Laboratory blood samples were taken within 24 hours of hospitalization. Levels of S100B protein in serum were measured using immunoassay analysis. Unfavorable variants of course (early neurological deterioration (END) during 48 hours from hospitalization) and disease acute period outcome of ICH (modified Rankin score 4–6 on the 21st day of the disease) were considered as endpoints. Statistical processing of the obtained results included correlation analysis, logistic regression analysis and ROC-analysis.

Results. Neurological deterioration during 48 hours after hospitalization was detected in 18 (20.0 %) patients, unfavorable SSICH acute period outcome was revealed in 49 (54.4 %) patients. It was detected that serum S100B protein correlates with ICHV ($R = 0.34, P < 0.01$), SIVHV ($R = 0.39, P < 0.01$) and TVICH ($R = 0.45, P < 0.01$). Thus, the patients with unfavorable SSICH acute period course and outcome are characterized with the higher S100B protein levels ($P < 0.0001$). High sensitive multipredictive logistic regression model that integrates prognostic value of serum of S100B protein concentration with informativeness of clinical, neurological parameters (National Institute of Health Stroke Scale score, SIVHV) was elaborated. It helps to detect the individual risk of unfavorable acute SSICH period outcome on the ground of conservative therapy with the accuracy 90.0 % ($AUC \pm SE$ (95 % CI) = 0.95 ± 0.02 (0.89–0.99), $P < 0.0001$).

Conclusions. Serum S100B protein levels in patients with SSICH on the 1st day after hospitalization is the informative additional parameter in verification of short-term prognosis on the background of conservative therapy.

Key words:
cerebral hemorrhage, S100B protein, prognosis.

Pathologia 2021; 18 (1), 19-25

Ключевые слова:
внутричерепное
кровоизлияние,
белок S100B,
прогноз.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 19-25

Прогностическое значение сывороточной концентрации белка S100B у пациентов в остром периоде спонтанного супратенториального внутримозгового кровоизлияния

А. А. Козёлкин, А. А. Кузнецов

Цель работы – оценить информативность сывороточной концентрации белка S100B в определении краткосрочного прогноза у пациентов в остром периоде спонтанного супратенториального внутримозгового кровоизлияния (ССВМК) на фоне консервативной терапии.

Материалы и методы. Проведено проспективное, когортное исследование с включением 90 пациентов в остром периоде ССВМК на фоне консервативной терапии. Уровень неврологического дефицита оценивали по шкале комы Full Outline of Unresponsiveness, шкале комы Глазго и шкале инсульта Национального института здоровья США. По данным компьютерной томографии головного мозга определяли объем внутримозгового кровоизлияния (ОВМК), объем вторичного внутримозгового кровоизлияния (ОВВЖК) и общий объем интракраниальной геморрагии (ООИКГ). Забор лабораторных образцов крови осуществляли в течение 24 часов после госпитализации. Содержание белка S100B в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. В качестве комбинированных клинических конечных точек рассматривали неблагоприятные варианты течения (клинико-неврологическое ухудшение в течение 48 часов после госпитализации) и исхода острого периода ССВМК (значение 4–6 баллов по модифицированной шкале Рэнкина на 21 сутки заболевания). Статистическая обработка полученных результатов включала корреляционный анализ, логистический регрессионный анализ и ROC-анализ.

Результаты. Клинико-неврологическое ухудшение в течение 48 часов после госпитализации зафиксировано у 18 (20,0 %) пациентов, неблагоприятный исход острого периода ССВМК – у 49 (54,4 %). Установлено, что концентрация белка S100B в сыворотке крови коррелирует с ОВМК ($R = 0,34, p < 0,01$), ОВВЖК ($R = 0,39, p < 0,01$) и ООИКГ ($R = 0,45, p < 0,01$), пациенты с неблагоприятными вариантами течения и исхода острого периода ССВМК уже в первые сутки после госпитализации достоверно отличаются более высоким содержанием белка S100B в сыворотке крови ($p < 0,0001$). Разработана высокочувствительная мультипредикторная логистическая регрессионная модель, которая интегрирует прогностическую ценность сывороточной концентрации белка S100B с информативностью клинико-нейровизуализационных показателей (суммарный балл по шкале инсульта Национального института здоровья США, ОВВЖК) и позволяет определять индивидуальный риск неблагоприятного исхода острого периода ССВМК на фоне консервативной терапии с точностью 90,0 % ($AUC \pm SE (95 \% ДИ) = 0,95 \pm 0,02 (0,89–0,99), p < 0,0001$).

Выводы. Концентрация белка S100B в сыворотке крови пациентов с ССВМК в первые сутки после госпитализации – информативный дополнительный показатель для верификации краткосрочного прогноза на фоне консервативной терапии.

Мозговой инсульт (МИ) – одна з провідних причин смертності й інвалідизації населення в більшості країн світу, і найбільш руйнівним у медико-соціальному аспекті підтипом МИ є спонтанний внутрішньомозговий крововилив (СВМК), який, хоч і є менш поширеним, ніж інфаркт мозку, вирізняється істотно вищим показником DALY (disability-adjusted life year), тобто суттєво більшою лінійною сумою потенційних років життя, що втрачені внаслідок зумовленої цим захворюванням непрацездатності та передчасної смерті [1]. Протягом першого місяця помирають до 40 % хворих, упродовж першого року – до 54 %, а серед тих пацієнтів, хто вижив, тільки 10 % осіб повертаються до повноцінного життя [2].

Перспективним у напрямі вдосконалення надання допомоги цьому контингенту хворих є розроблення інформативних критеріїв верифікації короткострокового прогнозу для якомога ранньої ідентифікації пацієнтів із підвищеними ризиками несприятливих варіантів перебігу та наслідку гострого періоду СВМК на тлі консервативної терапії як складової підґрунтя для своєчасного ухвалення оптимальних лікувально-тактичних рішень [3]. Усе викладене детермінує посилений інтерес науковців до досліджень, що спрямовані на пошук сироваткових маркерів, які дають змогу підвищити точність об'єктивізації ініціальної тяжкості ураження церебральних структур, а отже надати інформацію, корисну в прогностичному аспекті, вже в дебюті ССВМК [4].

Інформативність сироваткового маркера ураження головного мозку та доцільність його застосування у клінічній практиці визначаються відповідністю таким критеріям: висока специфічність щодо церебральних структур, висока чутливість до ушкодження головного мозку, відсутність значущого впливу статі та віку на варіабельність показника, технічна можливість швидкого визначення в сироватці крові, прогнозований (лінійний) взаємозв'язок між сироватковою концентрацією та тяжкістю деструкції нервової тканини. Усім цим критеріям відповідає білок S100B, який є одним із найбільш інформативних маркерів ураження головного мозку. Білок S100B належить до сімейства багатофункціональних білків S100, які реалізують численні плейотропні ефекти: здійснюють внутрішньоклітинну та екстрацелюлярну регуляцію багатьох процесів, забезпечують ріст клітин, беруть участь у регуляції клітинного циклу тощо.

Білок S100B специфічний для головного мозку (понад 95 % пулу цього протеїну в організмі має гліальне походження та синтезується переважно астроцитами), через фосфорилування інших білків бере участь у трансдукції нервового імпульсу, а отже забезпечує процеси пластичності. Мінімальна молекулярна маса зумовлює легку дифузію білка S100B у сироватку крові за умов ушкодження гемато-енцефалічного бар'єра будь-якого ґенезу [5].

У багатьох клінічних досліджень, що стосуються цього показника, вивчали передусім аспекти його ді-

агностичної інформативності як критерію кількісного оцінювання тяжкості відповідних деструктивних процесів [6–9]. Але відсутні роботи, що присвячені вивченню можливості визначення вмісту білка S100B у сироватці крові пацієнтів із ССВМК для підвищення точності рутинної клініко-нейровізуалізаційної верифікації короткострокового прогнозу на тлі консервативної терапії.

Мета роботи

Оцінити інформативність сироваткової концентрації білка S100B у визначенні короткострокового прогнозу в пацієнтів у гострому періоді спонтанного супратенторіального внутрішньомозкового крововиливу (ССВМК) на тлі консервативної терапії.

Матеріали і методи дослідження

На базі відділення гострих порушень мозкового кровообігу КНП «Міська лікарня № 6» Запорізької міської ради виконали проспективне, когортне, порівняльне дослідження з залученням 90 (48 чоловіків і 42 жінки, вік – 66 (59; 74) років) хворих на мозковий геморагічний інсульт. Критерії залучення в дослідження: спонтанний (гіпертензивний) супратенторіальний внутрішньомозковий крововилив; госпіталізація в термін ≤ 24 години від дебюту захворювання; підписана інформована згода на участь у дослідженні.

Клініко-неврологічне обстеження здійснювали під час надходження у стаціонар і в динаміці перебігу гострого періоду захворювання, воно передбачало оцінювання за шкалами: 1) шкала коми Full Outline of UnResponsiveness (FOUR); 2) шкала коми Глазго (Glasgow Coma Scale – GCS); 3) шкала інсульту Національного інституту здоров'я США (National Institute of Stroke Health Scale – NIHSS). Візуалізацію церебральних структур виконали методом комп'ютерної томографії за допомогою апаратів Siemens Somatom Spirit (Федеративна Республіка Німеччина) або Toshiba Asteion (Японія). Об'єм внутрішньомозкового крововиливу (ОВМК) розраховували за формулою еліпсоїда; вираженість латеральної дислокації серединних структур мозку – як середнє від зсуву прозорої перетинки та епіфіза; об'єм вторинного внутрішньошлуночкового крововиливу (ОВВШК) – за формулою: $ОВВШК = e^4(IVHS/5)$, де IVHS – значення сумарного бала за шкалою Intraventricular Hemorrhage Scale [10]. Загальний об'єм інтракраніальної геморагії (ЗОІКГ) визначали, сумуючи ОВМК та ОВВШК. Усі пацієнти отримали консультацію нейрохірурга.

Критерії невключення в дослідження: гострі порушення мозкового кровообігу в анамнезі; внутрішньомозковий крововилив, що зумовлений церебральним інфарктом, пухлиною головного мозку або прийманням антикоагулянтної терапії; гостре фокальне ураження церебральних структур іншого ґенезу та локалізації; наявність показань до оперативного лікування за результатами консультації нейрохірурга; захворювання запального (зокрема інфекційного) ґенезу на час госпіталізації; злоякісні новоутворення; декомпенсована соматична патологія.

Протягом 24 годин після госпіталізації в усіх пацієнтів здійснювали забір лабораторних зразків

крові натще. Сироваткові концентрації білка S100B визначали методом імуноферментного аналізу з використанням набору реактивів CanAg® S100 EIA (catalog No: 708-10, Fujirebio Diagnostics AB, Швеція) на імуноферментному комплексі ImmunoChem-2100 (США) у клініко-діагностичній лабораторії Університетської клініки Запорізького державного медичного університету.

Як оптимальну лікувальну тактику за результатами консультації нейрохірурга обрали консервативну терапію, яку призначали за Уніфікованим протоколом надання медичної допомоги пацієнтам із мозковим геморагічним інсультом, що затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я України № 275 від 17.04.2014 р. На тлі консервативної терапії реєстрували такі комбіновані кінцеві клінічні точки: 1) раннє клініко-неврологічне погіршення (настання протягом 48 годин після госпіталізації однієї або декількох із подій: збільшення вираженості загальнономозкового синдрому (зниження сумарного бала за шкалою коми FOUR ≥ 2), поглиблення неврологічного дефіциту (збільшення сумарного бала за NIHSS ≥ 4), летальний кінець); 2) несприятливий наслідок гострого періоду ССВМК (значення 4–6 балів за модифікованою шкалою Ренкіна (modified Rankin Scale – mRS) на 21 добу захворювання) інтегрує випадки летального кінця протягом гострого періоду захворювання, а також глибоку інвалідизацію (значення 4–5 балів за mRS на 21 добу ССВМК). Із дослідження виключали пацієнтів із підтвердженою аневризмою чи артеріовенозною мальформацією церебральних судин та/або екстрацеребральною причиною летального наслідку за результатами патологоанатомічного дослідження.

Статистичне опрацювання результатів виконали, використовуючи програми Statistica 13.0 (StatSoft Inc., USA, серійний номер JPZ8041382130ARCN10-J) і MedCalc (version 18.2.1). За результатами оцінювання розподілу показників (за допомогою критерію Шапіро–Вілкі) обрали вигляд описової статистики (медіана та міжквартильний інтервал), інструмент верифікації відмінностей кількісних показників між двома незалежними вибірками (критерій Манна–Вітні). Використали також кореляційний аналіз із розрахунком коефіцієнта рангової кореляції Спірмена, логістичний регресійний аналіз, ROC-аналіз із визначенням показників чутливості (sensitivity – Se) та специфічності (specificity – Sp) прогностичних критеріїв, порівняльний ROC-аналіз. Критичним вважали рівень статистичної значущості $p < 0,05$.

Результати

Клініко-нейровізуалізаційна характеристика загальної когорти пацієнтів у першу добу захворювання: значення сумарного бала за шкалою коми FOUR – 16 (14; 16), значення сумарного бала за GCS – 13 (12; 15), значення сумарного бала за NIHSS – 14 (10; 17), ОВМК – 12,3 (5,7; 24,4) мл, вираженість ЛД серединних структур мозку – 2,0 (0,0; 4,0) мм, ОВВШК – 6,0 (0,0; 15,7) мл, ЗОІКГ – 21,6 (10,6; 45,3) мл. Концентрація білка S100B у сироватці крові – 130,3 (124,7; 135,5) нг/л.

Таблиця 1. Оцінювання інформативності клініко-нейровізуалізаційних показників і сироваткової концентрації білка S100B у визначенні індивідуального ризику клініко-неврологічного погіршення в пацієнтів із ССВМК протягом 48 годин після госпіталізації (результати логістичного регресійного аналізу)

Показники	Уніваріантна логістична регресійна модель		Модель множинної логістичної регресії	
	ВШ (95 % ДІ)	p	ВШ (95 % ДІ)	p
Шкала коми FOUR	0,54 (0,40–0,74)	0,0001		
GCS	0,63 (0,49–0,81)	0,0003		
NIHSS	1,19 (1,07–1,33)	0,0019		
ОВМК	1,05 (1,03–1,08)	<0,0001		
ЛД	1,83 (1,39–2,40)	<0,0001	1,73 (1,24–2,39)	0,0011
ОВВШК	1,09 (1,05–1,14)	<0,0001	1,07 (1,03–1,12)	0,0004
ЗОІКГ	1,05 (1,03–1,08)	<0,0001		
Вміст білка S100B у сироватці крові	1,06 (1,00–1,14)	0,0400		

Таблиця 2. Аналіз клініко-нейровізуалізаційних показників і сироваткової концентрації білка S100B щодо наслідку гострого періоду ССВМК, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Показники, одиниці вимірювання	Наслідок гострого періоду ССВМК		p
	Несприятливий (n = 49)	Сприятливий (n = 41)	
Шкала коми FOUR, бал	14 (14; 16)	16 (15; 16)	0,0046
GCS, бал	12 (11; 13)	15 (13; 15)	<0,0001
NIHSS, бал	17 (14; 19)	10 (8; 13)	<0,0001
ОВМК, мл	22,0 (10,9; 43,5)	7,7 (4,4; 13,0)	0,0003
ЛД, мм	3,0 (1,5; 4,5)	0,0 (0,0; 2,0)	<0,0001
ОВВШК, мл	13,5 (6,0; 30,0)	0,0 (0,0; 3,3)	<0,0001
ЗОІКГ, мл	39,2 (25,2; 66,7)	10,5 (4,6; 16,0)	<0,0001
Сироваткова концентрація білка S100B, нг/л	133,4 (130,3; 140,2)	124,7 (112,8; 128,4)	<0,0001

Таблиця 3. Оцінювання інформативності клініко-нейровізуалізаційних показників і сироваткової концентрації білка S100B у визначенні індивідуального ризику несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК (результати логістичного регресійного аналізу)

Показники	Уніваріантна логістична регресійна модель		Модель множинної логістичної регресії	
	ВШ (95 % ДІ)	p	ВШ (95 % ДІ)	p
Шкала коми FOUR	0,51 (0,34–0,77)	0,0013		
GCS	0,52 (0,39–0,70)	0,0003		
NIHSS	1,53 (1,31–1,79)	0,0019	1,46 (1,18–1,82)	0,0005
ОВМК	1,10 (1,05–1,16)	0,0001		
ЛД	1,91 (1,45–2,52)	<0,0001		
ОВВШК	1,16 (1,08–1,25)	0,0001	1,14 (1,04–1,25)	0,0068
ЗОІКГ	1,11 (1,06–1,16)	<0,0001		
Вміст білка S100B у сироватці крові	1,13 (1,06–1,22)	0,0006	1,95 (1,01–1,19)	0,0354

На підставі кореляційного аналізу встановили: сироваткова концентрація білка S100B у пацієнтів із ССВМК асоційована з ОВМК ($R=0,34$, $p<0,01$), ОВВШК ($R = 0,39$, $p < 0,01$) та ЗОІКГ ($R = 0,45$, $p < 0,01$). Зафіксували міжгрупові відмінності цього показника: 135,6 (133,6; 142,5) нг/л проти 129,0 (121,1; 133,1) нг/л у субкогортах пацієнтів з ОВМК >30 мл ($n = 20$) та ОВМК ≤30 мл ($n = 70$) відповідно ($p < 0,0001$), 134,0 (131,1; 136,3) нг/л проти 129,3 (120,6; 133,9) нг/л у субкогортах пацієнтів з ОВВШК >30 мл ($n = 23$) і ОВВШК ≤30 мл ($n = 67$) відповідно ($p = 0,0071$), 134,0 (132,8; 136,2) нг/л проти 129,0 (120,6; 133,4) нг/л у субкогортах

пацієнтів із ЗОІКГ >40 мл ($n = 25$) та ЗОІКГ ≤40 мл ($n = 65$) відповідно ($p = 0,0004$).

Клініко-неврологічне погіршення протягом 48 годин після госпіталізації визначили у 18 (20,0 %) осіб, ця субкогорта пацієнтів у першу добу відрізнялася тяжчим ушкодженням церебральних структур за даними нейровізуалізаційного дослідження, що підтверджувалося вищими значеннями ОВМК (45,7 (13,6; 70,8) мл проти 11,2 (5,6; 18,5) мл, $p = 0,0006$), ЛД (4,5 (2,5; 6,5) мм проти 1,5 (0,0; 3,0) мм, $p = 0,0002$), ОВВШК (30,0 (11,8; 41,0) мл проти 3,3 (0,0; 11,0) мл, $p = 0,0002$), ЗОІКГ (73,3 (51,5; 101,2) мл проти 16,1 (9,8; 29,8) мл, $p < 0,0001$) і зумовлювало загалом глибший неврологічний дефіцит за NIHSS (17 (14; 19) проти 14 (10; 17), $p = 0,0492$), GCS (12 (11; 13) проти 14 (12; 15), $p = 0,0274$), шкалою коми FOUR (14 (14; 15) проти 16 (14; 16), $p = 0,0040$), а також більший вміст білка S100B у сироватці крові (134,9 (133,2; 139,5) нг/л проти 129,5 (122,0; 133,8) нг/л, $p = 0,0112$). Виявлені міжгрупові відмінності пояснюють результати уніваріантного логістичного регресійного аналізу, що показали: клініко-нейровізуалізаційні показники та вміст білка S100B у сироватці крові асоційовані з ризиком раннього клініко-неврологічного погіршення (РКНП). За даними множинного логістичного регресійного аналізу, незалежний зв'язок із кумулятивною кінцевою точкою підтверджено тільки для ЛД та ОВВШК, а вміст білка S100B у сироватці крові не включений у мультипредикторну логістичну регресійну модель (табл. 1).

Несприятливий наслідок, а саме значення 4–6 балів за mRS на 21 добу ССВМК зареєстрували у 49 (54,4 %) пацієнтів. Структура цієї комбінованої клінічної кінцевої точки: летальний кінець протягом гострого періоду ССВМК – 13 (26,5 %) випадків (14,4 % від загальної кількості пацієнтів); глибока інвалідизація, значення 4–5 балів на 21 добу захворювання (несприятливий функціональний наслідок гострого періоду ССВМК) – 36 (73,5 %) осіб (40,0 % від загальної когорти хворих). Результати порівняльного аналізу клініко-нейровізуалізаційних показників і вмісту білка S100B у сироватці крові щодо наслідку гострого періоду ССВМК наведені в таблиці 2.

За даними, що наведені в таблиці 2, група пацієнтів, у яких гострий період ССВМК мав несприятливий наслідок, у першу добу захворювання вірогідно відрізнялася тяжчим ураженням церебральних структур (за результатами клініко-нейровізуалізаційного дослідження), а також вищою сироватковою концентрацією білка S100B ($p < 0,0001$).

Результати множинного логістичного регресійного аналізу показали, що незалежну асоціацію з ризиком несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК мають показники: значення сумарного бала за NIHSS, ОВВШК і вміст білка S100B у сироватці крові (табл. 3).

Для верифікації короткострокового прогнозу наведені показники інтегрували в мультипредикторну математичну модель – рівняння бінарної логістичної регресії:

$$\beta = -17,80 + 0,38 \times \text{Pred1} + 0,13 \times \text{Pred2} + 0,09 \times \text{Pred3},$$

де $-17,80$ – вільний член рівняння (β_0);

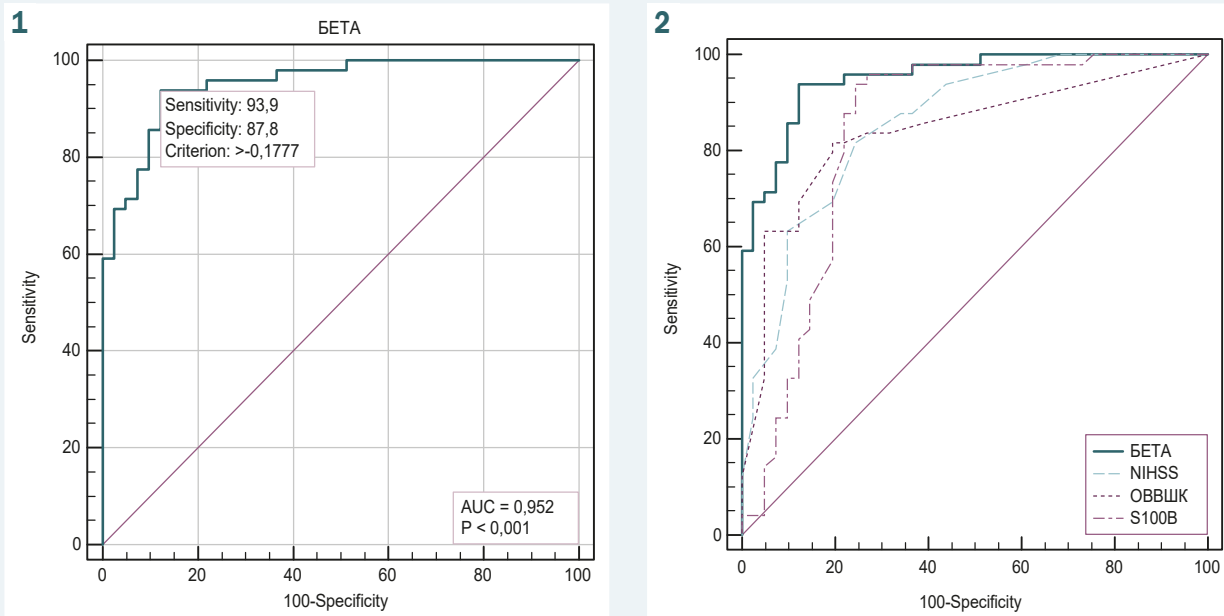


Рис. 1. ROC-крива поєднаного застосування сумарного бала за NIHSS, об'єму вторинного внутрішньозлощункового крововиливу та сироваткової концентрації білка S100B протягом 24 годин після госпіталізації у структурі розробленої мультипредикторної математичної моделі для прогнозування несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії.

Рис. 2. Порівняльний аналіз інформативності розробленої моделі множинної логістичної регресії та окремих предикторів, які входять до її складу, у визначенні індивідуального ризику несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії.

Pred1 – значення сумарного бала за NIHSS;

Pred2 – об'єм вторинного внутрішньозлощункового крововиливу (мл);

Pred3 – сироваткова концентрація білка S100B (нг/л).

На підставі ROC-аналізу визначили порогове значення β ($>-0,18$), яке є інтегральним предиктором несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК, а саме значення 4–6 балів за mRS на 21 добу захворювання на тлі консервативної терапії ($Se = 93,9\%$, $Sp = 87,8\%$). Аналіз інформативності та якості розробленої математичної моделі виконали за такими показниками: $AUC \pm SE$ (95% ДІ) = $0,95 \pm 0,02$ ($0,89-0,99$) ($p < 0,0001$), рівень значущості тесту Хосмера-Лемешова – $p = 0,9872$, точність прогнозування (питома вага істинно позитивних та істинно негативних результатів) – 90,0% (рис. 1).

Виконали порівняльний аналіз інформативності розробленої моделі множинної логістичної регресії та окремих предикторів, що входять до її складу, у визначенні індивідуального ризику несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії (рис. 2).

Встановили, що розроблена модель множинної логістичної регресії відрізняється вищою точністю верифікації короткострокового прогнозу в пацієнтів із ССВМК на тлі консервативної терапії порівняно з окремими предикторами, що входять до її складу ($AUC_{\beta} = 0,95 \pm 0,02$ проти $AUC_{NIHSS} = 0,86 \pm 0,04$, $p = 0,0047$; $AUC_{\beta} = 0,95 \pm 0,02$ проти $AUC_{OBBШК} = 0,84 \pm 0,04$, $p = 0,0053$; $AUC_{\beta} = 0,95 \pm 0,02$ проти $AUC_{S100B} = 0,84 \pm 0,05$, $p = 0,0091$).

Обговорення

Пацієнти, в яких у гострому періоді захворювання зареєстрували несприятливі варіанти перебігу (ПКНП) і наслідку гострого періоду ССВМК (4–6 балів за mRS на 21 добу захворювання), вже в першу добу після госпіталізації вірогідно відрізнялися вищою сироватковою концентрацією білка S100B. Результати дослідження збігаються з даними інших авторів, які показали, що вища ініціальна концентрація білка S100B у сироватці крові пацієнтів із внутрішньомозковим крововиливом асоційована з гіршим наслідком гострого періоду захворювання [11–14]. Підтверджено положення щодо впливу тяжкості ушкодження церебральних структур на рівень сироваткової концентрації білка S100B, що також узгоджується з даними інших дослідників [11,12,14,15]. З'ясовано, що вміст білка S100B у сироватці крові пацієнтів із внутрішньомозковим крововиливом корелює не тільки з ОБМК, але і ЗОІКГ, який також враховує ОВВШК.

У результаті множинного логістичного регресійного аналізу ініціальний вміст білка S100B у сироватці крові пацієнтів із ССВМК у першу добу після госпіталізації включено до складу високочутливої мультипредикторної моделі для прогнозування несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК (разом з ОВВШК і сумарним балом за NIHSS). Результати порівняльного ROC-аналізу показали, що такий підхід підвищував точність прогнозування шляхом інтеграції інформативності сироваткової концентрації білка S100B та інших параметрів, що вивчали. Так, розроблена прогностична модель відрізняється вищим показником AUC порівняно з окремими предикторами, які ввійшли

до її складу. Встановили порогове значення показника β з оптимальним співвідношенням чутливості та специфічності, що є інтегральним предиктором несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії.

Можливе також використання розробленої моделі для безпосереднього визначення кількісного показника ризику настання несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії, який вимірюється в діапазоні від 0 (дуже низька ймовірність) до 1 (надзвичайно висока ймовірність), його розраховують за формулою:

$$y = \exp(\beta) / [1 + \exp(\beta)],$$

де y – ймовірність оцінки 4–6 балів за mRS на 21 добу захворювання на тлі консервативної терапії, β – значення рівняння бінарної логістичної регресії.

Результати аналізу якості розробленої моделі множинної логістичної регресії (точність прогнозування 90,0 %, AUC \pm SE = 0,95 \pm 0,02) обґрунтовують доцільність її застосування в рутинній клінічній практиці.

Висновки

1. Сироваткова концентрація білка S100B у пацієнтів із ССВМК у першу добу після госпіталізації корелює з об'ємом інтрацеребральної геморагії ($R = 0,34$, $p < 0,01$), об'ємом вторинного внутрішньоплощочкового крововиливу ($R = 0,39$, $p < 0,01$) та загальним об'ємом інтракраніальної геморагії ($R = 0,45$, $p < 0,01$) і є інформативним додатковим показником для верифікації короткострокового прогнозу на тлі консервативної терапії.

2. Розроблено високочутливу мультипредикторну логістичну регресійну модель, яка інтегрує прогностичну цінність сироваткової концентрації білка S100B з інформативністю клініко-нейровізуалізаційних показників (сумарний бал за NIHSS, об'єм вторинного внутрішньоплощочкового крововиливу) і дає можливість визначити індивідуальний ризик несприятливого наслідку гострого періоду ССВМК на тлі консервативної терапії з точністю 90,0 % (AUC \pm SE (95 % ДІ) = 0,95 \pm 0,02 (0,89–0,99), $p < 0,0001$).

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні диференційованого підходу до визначення оптимальної лікувальної тактики в пацієнтів у гострому періоді ССВМК, враховуючи індивідуальний прогноз наслідку гострого періоду захворювання на тлі консервативної терапії.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 11.01.2021

Після доопрацювання / Revised: 25.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 09.03.2021

Відомості про авторів:

Козьолкін О. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0001-9878-5798](https://orcid.org/0000-0001-9878-5798)

Кузнєцов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0002-6118-9682](https://orcid.org/0000-0002-6118-9682)

Information about authors:

Koziołkin O. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kuznietsov A. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Козьолкин А. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кузнєцов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Intracerebral hemorrhage outcome: A comprehensive update / J. Pinho, A. S. Costa, J. M. Araújo et al. *Journal of the neurological sciences*. 2019. Vol. 398. P. 54-66. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.01.013>
- [2] An S. J., Kim T. J., Yoon B. W. Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *Journal of stroke*. 2017. Vol. 19, Iss. 1. P. 3-10. <https://doi.org/10.5853/jos.2016.00864>
- [3] Akpınar E., Gürbüz M. S., Berkman M. Z. Factors Affecting Prognosis in Patients With Spontaneous Supratentorial Intracerebral Hemorrhage Under Medical and Surgical Treatment. *The Journal of craniofacial surgery*. 2019. Vol. 30, Iss. 7. P. 667-671. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000005733>
- [4] S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke / S. Zhou, J. Bao, Y. Wang, S. Pan. *Neurological research*. 2016. Vol. 38, Iss. 4. P. 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [5] Yuan X. S., Bian, X. X. S100B protein and its clinical effect on craniocerebral injury. *Chinese journal of traumatology = Zhonghua chuang shang za zhi*. 2018. Vol. 11, Iss. 1. P. 54-57. [https://doi.org/10.1016/s1008-1275\(08\)60012-7](https://doi.org/10.1016/s1008-1275(08)60012-7)
- [6] Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units / O. Y. Glushakova, A. V. Glushakov, E. R. Miller et al. *Brain circulation*. 2016. Vol. 2, Iss. 1. P. 28-47. <https://doi.org/10.4103/2394-8108.178546>
- [7] An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury / K. K. Wang, Z. Yang, T. Zhu et al. *Expert review of molecular diagnostics*. 2018. Vol. 18, Iss. 2. P. 165-180. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1428089>
- [8] Biomarkers in traumatic brain injury (TBI): a review / A. Dadas, J. Washington, R. Diaz-Arrastia, D. Janigro. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2018. Vol. 14. P. 2989-3000. <https://doi.org/10.2147/NDT.S125620>
- [9] S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke / S. Zhou, J. Bao, Y. Wang, S. Pan. *Neurological research*. 2016. Vol. 38, Iss. 4. P. 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [10] Kuznietsov A. A. Comparative analysis of predictive significance of neuroimaging parameters in patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *Запорожський медичний журнал*. 2018. Т. 20. № 4. С. 543-547. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214759>
- [11] Brain Injury Biomarker Behavior in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage / A. M. Ferrere-Araujo, A. Rodríguez-Rodríguez, J. J. Egea-Guerrero et al. *World neurosurgery*. 2019. Vol. 132. P. e496-e505. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.090>
- [12] S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke / S. Zhou, J. Bao, Y. Wang, S. Pan. *Neurological research*. 2016. Vol. 38, Iss. 4. P. 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [13] Neuron-Specific Enolase, S100 Calcium-Binding Protein B, and Heat Shock Protein 70 Levels in Patients With Intracranial Hemorrhage / Ö. D. Alatas, M. Gürger, M. Ateşçelik et al. *Medicine*. 2015. Vol. 94, Iss. 45. P. e2007. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002007>
- [14] Comparison of predictive powers of S100B and cell-free plasma DNA values in intensive care unit patients with intracranial hemorrhage / A. Dilek, H. Alacam, F. Ulger et al. *Journal of critical care*. 2013. Vol. 28, Iss. 5. P. 883.e1-883.e837. <https://doi.org/10.1016/j.jccr.2013.03.005>
- [15] Can brain natriuretic peptide, S100 β , and interleukin-6 prognosticate the neurological consequences in Egyptian patients presented with

supratentorial intracerebral hemorrhage? / H. Eldawoody, M. Mattar, A. Mesbah et al. *Surgical neurology international*. 2020. Vol. 11. P. 460. https://doi.org/10.25259/SNI_784_2020

References

- [1] Pinho, J., Costa, A. S., Araújo, J. M., Amorim, J. M., & Ferreira, C. (2019). Intracerebral hemorrhage outcome: A comprehensive update. *Journal of the neurological sciences*, 398, 54-66. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.01.013>
- [2] An, S. J., Kim, T. J., & Yoon, B. W. (2017). Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *Journal of stroke*, 19(1), 3-10. <https://doi.org/10.5853/jos.2016.00864>
- [3] Akpınar, E., Gürbüz, M. S., & Berkman, M. Z. (2019). Factors Affecting Prognosis in Patients With Spontaneous Supratentorial Intracerebral Hemorrhage Under Medical and Surgical Treatment. *The Journal of craniofacial surgery*, 30(7), e667-e671. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000005733>
- [4] Zhou, S., Bao, J., Wang, Y., & Pan, S. (2016). S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurological research*, 38(4), 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [5] Yuan, X. S., & Bian, X. X. (2008). S100B protein and its clinical effect on craniocerebral injury. *Chinese journal of traumatology = Zhonghua chuang shang za zhi*, 11(1), 54-57. [https://doi.org/10.1016/s1008-1275\(08\)60012-7](https://doi.org/10.1016/s1008-1275(08)60012-7)
- [6] Glushakova, O. Y., Glushakov, A. V., Miller, E. R., Valadka, A. B., & Hayes, R. L. (2016). Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain circulation*, 2(1), 28-47. <https://doi.org/10.4103/2394-8108.178546>
- [7] Wang, K. K., Yang, Z., Zhu, T., Shi, Y., Rubenstein, R., Tyndall, J. A., & Manley, G. T. (2018). An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. *Expert review of molecular diagnostics*, 18(2), 165-180. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1428089>
- [8] Dadas, A., Washington, J., Diaz-Arrastia, R., & Janigro, D. (2018). Biomarkers in traumatic brain injury (TBI): a review. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 14, 2989-3000. <https://doi.org/10.2147/NDT.S125620>
- [9] Zhou, S., Bao, J., Wang, Y., & Pan, S. (2016). S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurological research*, 38(4), 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [10] Kuznietsov A. A. (2018). Comparative analysis of predictive significance of neuroimaging parameters in patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *Zaporozhye Medical Journal*, 20(4), 543-547. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.4.137097>
- [11] Ferrete-Araujo, A. M., Rodríguez-Rodríguez, A., Egea-Guerrero, J. J., Vilches-Arenas, Á., Godoy, D. A., & Murillo-Cabezas, F. (2019). Brain Injury Biomarker Behavior in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *World neurosurgery*, 132, e496-e505. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.090>
- [12] Zhou, S., Bao, J., Wang, Y., & Pan, S. (2016). S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurological research*, 38(4), 327-332. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1152675>
- [13] Alatas, Ö. D., Gürger, M., Ateşçelik, M., Yildiz, M., Demir, C. F., Ekingen, E., Kalaycı, M., İlhan, N., & Acar, E. (2015). Neuron-Specific Enolase, S100 Calcium-Binding Protein B, and Heat Shock Protein 70 Levels in Patients With Intracranial Hemorrhage. *Medicine*, 94(45), e2007. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002007>
- [14] Diek, A., Alacam, H., Ulger, F., Bedir, A., Ulus, A., Murat, N., Okuyucu, A., & Polat, F. (2013). Comparison of predictive powers of S100B and cell-free plasma DNA values in intensive care unit patients with intracranial hemorrhage. *Journal of critical care*, 28(5), 883.e1-883.e8837. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2013.03.005>
- [15] Eldawoody, H., Mattar, M., Mesbah, A., Zaher, A., & Elsherif, M. (2020). Can brain natriuretic peptide, S100b, and interleukin-6 prognosticate the neurological consequences in Egyptian patients presented with supratentorial intracerebral hemorrhage?. *Surgical neurology international*, 11, 460. https://doi.org/10.25259/SNI_784_2020

Синергізм фармакологічного ефекту гліцину та тіотріазоліну

I. Ф. Беленічев^{A,E,F}, А. А. Єгоров^{*B,C,D}

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:

гліцин, тіотріазолін, мітохондріальна дисфункція, гостре порушення мозкового кровообігу.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 26-32

*E-mail:
datas999@gmail.com

Мета роботи – встановити вплив комбінації гліцину з тіотріазоліном (4:1) на показники енергопродукції мітохондрій головного мозку щурів в умовах моделювання гострого порушення мозкового кровообігу.

Матеріали та методи. Експериментальна частина виконана на 90 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Для моделювання гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) за ішемічним типом використовували класичну модель, що полягає в одночасному перев'язуванні загальних сонних артерій. Усіх тварин поділили на 5 експериментальних груп: перша – інтактна (несправжньо прооперовані щури, яким під час наркозу відсепарували загальні сонні артерії, не перев'язуючи їх); друга – щури з ГПМК (контроль); третя – щури з ГПМК, які кожного дня протягом 4 днів отримували внутрішньошлунково гліцин у дозі 200 мг/кг як таблеткову масу; четверта – щури з ГПМК, які щодня протягом 4 днів внутрішньошлунково отримували комбінацію гліцину з тіотріазоліном (4:1) як таблеткову масу; п'ята – щури з ГПМК, які щодня отримували пірацетам внутрішньошлунково в дозі 500 мг/кг як таблеткову масу. Біологічний матеріал (головний мозок) для досліджень брали на четверту добу експерименту за стандартною методикою.

Методом диференціального центрифугування в рефрижераторній центрифугі виділяли мітохондріальну фракцію. Явища мітохондріальної дисфункції вивчали спектрофотометрично за ступенем відкриття мітохондріальної пори (МП) і мітохондріального трансмембранного потенціалу (Ψ). Інтенсивність оксидативного стресу оцінювали спектрофотометрично маркерами окислювальної модифікації білка – альдегідфенілгідрозон (АФГ) і кетондинітрофенілгідрозон (КФГ). Стан енергетичного обміну визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів: АТФ, лактату, сукцинату, малату, за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) та НАД⁺-залежної малатдегідрогенази (НАД-МДГ) за стандартними методиками на спектрофотометрі.

Результати. У групі тварин із моделюванням ГПМК виявили зниження рівня АТФ у мітохондріях в 1,55 раза, збільшення вмісту лактату в 1,1 раза, зниження активності СДГ у мітохондріях у 3,8 раза, зменшення концентрації сукцинату в 1,1 раза щодо показників інтактної групи. Введення піддослідним тваринам комбінації гліцину з тіотріазоліном на четверту добу моделювання ГПМК призводило до зменшення відкриття мітохондріальної пори в 1,9 раза, збільшення заряду внутрішньої мембрани мітохондрій у 1,2 раза, збільшення АТФ у мітохондріальній фракції в 1,1 раза, зростання активності СДГ у тричі, активності НАД-МДГ у 3,7 раза на тлі зменшення рівня АФГ на 76,6 % і КФГ на 80,7 % щодо показників групи тварин із моделюванням ГПМК за ішемічним типом.

Висновки. Моделювання ГПМК призводить до ініціювання оксидативного стресу та розвитку дисбалансу інтермедіатів енергетичного обміну в мітохондріях головного мозку експериментальних тварин. Введення комбінації гліцину з тіотріазоліном призводить до зниження оксидативного ушкодження мітохондрій, підвищує продукцію АТФ унаслідок активації компенсаторних мітохондріально-цитозольних шунтів, насамперед у малат-аспартатному та сукцинатоксидазному. За ступенем впливу на показники енергетичного обміну комбінація гліцину з тіотріазоліном вірогідно перевершує аналогічну дію і гліцину, і референс-препарату пірацетаму.

Key words:

glycine, thiothiazoline, mitochondrial dysfunction, cerebrovascular accident.

Pathologia
2021; 18 (1), 26-32

Synergism of the pharmacological effect of glycine and thiothiazoline

I. F. Bielenichev, A. A. Yehorov

Aim. To establish the effect of the glycine and thiothiazoline (4:1) combination on the parameters of the energy production of the mitochondria of the rat brain under the conditions of simulating an acute cerebrovascular accident.

Materials and methods. The experimental part was performed on 90 male Wistar rats weighing 180–200 g. To model acute cerebrovascular accident (ACVA) by ischemic type, a classical model was used, where common carotid arteries had been ligated bilaterally. All animals were divided into 5 experimental groups: the first – intact (sham-operated rats, which during anesthesia had their common carotid arteries separated without ligation); the second – rats with ACVA (control); the third – rats with ACVA, which underwent intragastric administration of glycine at a dose of 200 mg/kg in the form of a tablet mass every day for 4 days; the fourth – rats with stroke, which every day for 4 days underwent intragastric administration of a combination of glycine and thiothiazoline (4:1) in the form of a tablet mass; the fifth – rats with ACVA, which underwent every day intragastric administration of piracetam in the form of a tablet mass at a dose of 500 mg/kg. The sampling of biological material (brain) for research was carried out on the fourth day of the experiment according to the standard method. The mitochondrial fraction was isolated by differential centrifugation in a refrigerated centrifuge. The manifestations of mitochondrial dysfunction, have been spectrophotometrically studied according to the degree of opening of the mitochondrial pore (MP) and mitochondrial transmembrane potential (Ψ). The assessment of the intensity of oxidative stress was determined by the markers of protein oxidative modification – aldehydephenylhydrazone (APH) and ketonodinitrophenylhydrazone (KPH) – spectrophotometrically. The state of energy metabolism was determined by the level of the most significant intermediates – ATP, lactate, succinate and malate.

Results. In the group of animals with ACVA modeling, we noted a decrease in the level of ATP in mitochondria by 1.55 times, an increase in lactate content by 1.1 times, a decrease in SDH activity by 3.8 times and a decrease in succinate concentration by 1.1 times relative to the corresponding data of intact groups. Administration of a combination of glycine and thiotriazoline to experimental animals on the fourth day of ACVA modeling led to a 1.9-fold decrease in the opening of the mitochondrial pore and an increase in the charge of the inner mitochondrial membrane by 1.2 times, an increase in ATP in the mitochondrial fraction by 1.1 times, an increase in SDH activity by 3 times, and the activity of NAD-MDH – by 3.7 times, against the background of a decrease in the level of APH by 76.6 % and KPH by 80.7 %, relative to the group of animals with modeling of stroke by ischemic type.

Conclusions. Modeling of ACVA leads to the initiation of oxidative stress and the development of an imbalance of energy metabolism intermediates in the brain mitochondria of experimental animals. Administration of a combination of glycine and thiotriazoline leads to a decrease in oxidative damage to mitochondria, increases the production of ATP due to the activation of compensatory mitochondrial-cytosolic shunts, mainly in malate-aspartate and succinate oxidase. In terms of the degree of influence on the indicators of energy metabolism, the combination of glycine and thiotriazoline reliably exceeds the similar actions of glycine and the reference drug – piracetam.

Синергизм фармакологического эффекта глицина и тиотриазолина

И. Ф. Беленичев, А. А. Егоров

Цель работы – установить влияние комбинации глицина с тиотриазолином (4:1) на показатели энергопродукции митохондрий головного мозга крыс в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровообращения.

Материалы и методы. Экспериментальная часть выполнена на 90 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Для моделирования острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу использовали классическую модель, которая заключается в двухсторонней перевязке общих сонных артерий. Животных поделили на 5 экспериментальных групп: первая – интактная (ложнооперированные крысы, которым во время наркоза отсекали общие сонные артерии, не перевязывая их); вторая – крысы с ОНМК (контроль); третья – крысы с ОНМК, которым каждый день в течение 4 суток вводили внутривенно глицин в дозе 200 мг/кг в виде таблеточной массы; четвертая – крысы с ОНМК, которым каждый день в течение 4 суток внутривенно вводили комбинацию глицина с тиотриазолином (4:1) в виде таблеточной массы; пятая – крысы с ОНМК, которым каждый день вводили пирацетам внутривенно в дозе 500 мг/кг в виде таблеточной массы. Забор биологического материала (головной мозг) для исследований проводили на четвертые сутки эксперимента по стандартной методике.

Методом дифференциального центрифугирования в рефрижераторной центрифуге выделяли митохондриальную фракцию. Проявления митохондриальной дисфункции спектрофотометрически изучали по степени открытия митохондриальной поры (МП) и митохондриального трансмембранного потенциала (Ψ). Интенсивность оксидативного стресса оценивали спектрофотометрически маркерами окислительной модификации белка – альдегидфенилгидразон (АФГ) и кетондинитрофенилгидразон (КФГ). Состояние энергетического обмена определяли по уровню наиболее значимых интермедиатов: АТФ, лактата, сукцината, малата, по активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и НАД⁺-зависимой малатдегидрогеназы (НАД-МДГ) по стандартным методикам на спектрофотометре.

Результаты. В группе животных с моделированием ОНМК отмечено снижение уровня АТФ в митохондриях в 1,55 раза, увеличение содержания лактата в 1,1 раза, снижение активности СДГ в 3,8 раза и уменьшение концентрации сукцината в 1,1 раза относительно данных интактной группы. Введение подопытным животным комбинации глицина с тиотриазолином на четвертые сутки моделирования ОНМК приводило к уменьшению открытия митохондриальной поры в 1,9 раза и увеличению заряда внутренней мембраны митохондрий в 1,2 раза, увеличению АТФ в митохондриальной фракции в 1,1 раза, росту активности СДГ в 3 раза, активности НАД-МДГ в 3,7 раза на фоне уменьшения уровня АФГ на 76,6 % и КФГ на 80,7 % относительно группы животных с моделированием ОНМК по ишемическому типу.

Выводы. Моделирование ОНМК приводит к иницированию оксидативного стресса и развитию дисбаланса интермедиатов энергетического обмена в митохондриях головного мозга экспериментальных животных. Введение комбинации глицина с тиотриазолином приводит к снижению оксидативного повреждения митохондрий, повышает продукцию АТФ за счет активации компенсаторных митохондриально-цитозольных шунтов, в основном в малат-аспартатном и сукцинатоксидазном. По степени влияния на показатели энергетического обмена комбинация глицина с тиотриазолином достоверно превосходит аналогичные действия глицина и референс-препарата – пирацетама.

Ключевые слова:

глицин, тиотриазолин, митохондриальная дисфункция, острое нарушение мозгового кровообращения.

Патология. 2021.

Т. 18, № 1(51).

С. 26-32

Незважаючи на певні успіхи в діагностиці та лікуванні судинних захворювань головного мозку, ця проблема не втрачає актуальності. Її важливість зумовлена поширеністю, частотою інвалідазації та летальності. За даними ВООЗ, в економічно розвинених країнах летальність від інсульту посідає друге місце у структурі загальної смертності та є провідною серед усіх причин інвалідазації. У країнах СНД показники інвалідазації та смертності залишаються одними з найвищих у світі [1,2].

Сучасний стан вивчення молекулярно-біохімічних механізмів загибелі нейрона при гострому порушенні

мозгового кровообігу (ГПМК) формує завдання перед сучасною нейрофармакологією, що полягає в розробленні нових підходів до створення лікарських засобів для нейропротекції [3].

Процеси нейродеструкції, що включають патобіохімічні та молекулярні каскади, характеризуються порушенням енергетичного метаболізму, розвитком трансмітерного аутокоїдозу, формуванням стійкої митохондриальної дисфункції, що супроводжується гіперпродукцією активних форм кисню та NO, експресією проапоптотичних білків і загибеллю клітини за типом апоптозу або некрозу [4].

Нейропротективна терапія передбачає два основних напрямки. Первинна нейропротекція спрямована на переривання швидких механізмів некротичної загибелі нейронів шляхом усунення ексайтотоксичності шляхом зниження активності ерготропних систем мозку – NMDA-, AMPA-трансмiтерних, гальмування кальцієвих трансмембранних потоків [5]. Вторинна нейропротекція спрямована на гальмування відстрочених механізмів загибелі нейронів і зменшення віддалених наслідків ішемії [3].

Перспективний напрям первинної нейропротекції – застосування коагоніста NMDA гліцину та його комбінацій із гамма-аміномасляною кислотою (ГАМК) та іонами магнію в гострий період ГПМК. Гліцин і його комбінації знижують загибель нейронів сенсомоторної кори, гальмують нейроапоптоз, нормалізують ГАМК-ергічну систему в гострий період експериментального ГПМК [6].

Роботами останніх років встановлено властивості тіотриазоліну потенціювати ноотропну, анксиолітичну, протиішемічну, нейропротективну дії пірацетаму, триптофану, ГАМК та гліцину [3]. В умовах експерименту виявили: оптимальним співвідношенням гліцину і тіотриазоліну є 4:1, що здатне зменшувати ішемічні порушення головного мозку, нормалізувати ГАМК-ергічну систему, підвищувати енергетичний потенціал нейронів [7]. Але немає чіткої картини енерготропного механізму дії гліцину в комбінації з тіотриазоліном, що і зумовлює актуальність цього дослідження.

Мета роботи

Встановити вплив комбінації гліцину з тіотриазоліном (4:1) на показники енергопродукції мітохондрій головного мозку щурів в умовах експериментального порушення мозкового кровообігу.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальна частина виконана на 90 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Для моделювання ГПМК за ішемічним типом використовували класичну модель, що полягає в одночасному перев'язуванні загальних сонних артерій. Операцію здійснили під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Через розріз на шиї знаходили та відсепарували праву та ліву сонні артерії, підводили під них лігатури та перев'язували.

Усіх тварин поділили на 5 експериментальних груп: перша – інтактна (несправжньо прооперовані щури, яким під час наркозу відсепарували загальні сонні артерії, не перев'язуючи їх); друга – щури з ГПМК (контроль); третя – щури з ГПМК, які кожного дня протягом 4 діб отримували внутрішньошлунково гліцин у дозі 200 мг/кг як таблеткову масу (таблетки Гліцисед, «Артеріум», Україна); четверта – щури з ГПМК, які щодня протягом 4 діб внутрішньошлунково отримували комбінацію гліцину з тіотриазоліном (4:1) у дозі 200 мг/кг як таблеткову масу (НПО «Фарматрон», Україна); п'ята – щури з ГПМК, які кожного дня отримували пірацетам внутрішньошлунково в дозі 500 мг/кг як таблеткову масу (таблетки Пірацетам, «Артеріум»,

Україна). Усі препарати вводили одноразово щодня, починаючи з виходу щурів із наркозу.

Біологічний матеріал (головний мозок) для досліджень брали на четверту добу експерименту. Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). З головного мозку швидко видаляли кров, відокремлювали від мозкової оболонки, шматочки подрібнювали в рідкому азоті до порошокподібного стану й гомогенізували в 10-кратному об'ємі середовища при 2 °С, що містить (у ммоль): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА – 1 (рН 7,4) [8]. Методом диференціального центрифугування (+4 °С) на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (ФРН) виділяли мітохондріальну фракцію при 17000 g. Для тривалого зберігання мітохондрії заморожували при -80 °С. Для визначення швидкості відкриття мітохондріальної пори використовували суспензію 0,5–1,0 мг білка/мл.

Для встановлення можливості препаратів впливати на явища мітохондріальної дисфункції спектрофотометрично вивчили ступінь відкриття мітохондріальної пори (МП) і мітохондріальний трансмембранний потенціал (Ψ) із сафроніном O [8]. Інтенсивність окислятивного стресу оцінювали маркерами окислювальної модифікації білка – альдегідфенілгідразон (АФГ) і кетондинітрофенілгідразон (КФГ) [8] на спектрофотометрі Libra S 32 PC. Стан енергетичного обміну визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів: АТФ, лактату, сукцинату, малату, за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) та НАД⁺-залежної малатдегідрогенази (НАД-МДГ) за стандартними методиками [8] на спектрофотометрі Libra S 32 PC.

Усі експериментальні дані опрацювали пакетом прикладних та статистичних програм Statistica ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J і Excel 7.0 (Microsoft Corp., США). 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 визначали коефіцієнт Стюдента (t) для вибірки з нормальним законом розподілу даних, критерій Манна–Вітні (U) визначали для вибірки, дані якої не відповідали нормальному закону розподілу. Достовірними вважали відмінності, для яких $p < 0,05$ [9].

Результати

Біохімічні дослідження виявили у групі тварин із ГПМК порушення енергетичного метаболізму головного мозку й енергодефіцит. Так, на 4 добу експерименту спостерігали зниження рівня АТФ у мітохондріях у 1,55 раза (табл. 1). Результати, що отримали, відповідають загальноприйнятому уявленню про порушення енергопостачання головного мозку в умовах ішемічного ураження [10].

Біохімічні дослідження процесів енергопродукції в умовах ішемії головного мозку показали: на тлі зниження аеробного окислювання в мітохондріях і зменшення вмісту АТФ знижується співвідношення АТФ/АДФ+АМФ. Коли їхнє співвідношення низьке, активується гексокіназа, яка дає змогу швидко збільшити

Таблиця 1. Вплив комбінації гліцину з тіотриазололіном і референс-препаратів на показники енергетичного обміну в мітохондріальній фракції головного мозку щурів на четверту добу експериментального моделювання ГПМК ($M \pm m$)

Група тварин	Лактат, мкмоль/г тканини	НАД-МДГ, мкмоль/мг білка/хв.	СДГ, нмоль/мг білка/хв.	Малат, мкмоль/г тканини	Сукцинат, мкмоль/г тканини	АТФ, мкмоль/г тканини
Інтактна група, n = 10	1,40 ± 0,06	1,44 ± 0,05	5,80 ± 0,31	0,22 ± 0,01	12,1 ± 0,9	2,8 ± 0,11
Контроль, n = 7	2,90 ± 0,11	0,33 ± 0,02	1,20 ± 0,09	0,09 ± 0,01	5,8 ± 0,2	1,10 ± 0,01
ГПМК + комбінація гліцину з тіотриазололіном, n = 18	1,80 ± 0,17**	1,55 ± 0,06**	4,80 ± 0,22**	0,31 ± 0,02**	10,8 ± 0,8**	2,30 ± 0,11**
ГПМК + гліцин, n = 12	2,10 ± 0,09**	0,52 ± 0,02*	2,90 ± 0,08**	0,14 ± 0,01*	7,9 ± 0,4**	1,90 ± 0,12*
ГПМК + пірацетам, n = 10	3,40 ± 0,18	0,37 ± 0,03	1,50 ± 0,11*	0,10 ± 0,02	5,5 ± 0,3	1,80 ± 0,10*

*: щодо контролю, $p < 0,05$; #: щодо ГПМК + гліцин, $p < 0,05$; ^: щодо ГПМК + пірацетам, $p < 0,05$.

пропускну здатність реакцій анаеробного гліколізу, що завершується утворенням тільки двох молекул АТФ і накопиченням лактату [5].

Під час нашого дослідження встановили значущу активацію аеробного гліколізу в головному мозку щурів із ГПМК, про що свідчить збільшення лактату в 1,1 раза. Але за даними, що наведені в таблиці 2, анаеробний гліколіз не здатний протягом часу та в певному обсязі забезпечувати енергетичні потреби головного мозку. Крім того, кінцевий продукт гліколізу – лактат – провокує внутрішньоклітинний ацидоз, який викликає денатурацію деяких білків, блокує активність генів, що лімітує адаптацію [3]. Отже, стійкість до гіпоксії формується шляхом перебудови енергетичних шляхів, що передбачає мобілізацію механізмів постачання протонів до окислювального фосфорилування й економного споживання кисню в умовах його дефіциту.

Вважають, що основним шляхом є сукцинат-оксидазний, і більшість компенсаторних процесів спрямовані на анаеробний синтез сукцинату [5]. Тому є гіпотеза, що найменш чутливою до розвитку ішемії головного мозку є система окислювання бурштинової кислоти [11]. Результати дослідження свідчать, що моделювання ГПМК призводило до зниження активності СДГ у мітохондріях головного мозку щурів у 3,8 раза та зменшення концентрації сукцинату в 1,1 раза (табл. 1).

Зафіксували зниження вмісту малату в 1,4 раза на тлі зменшення активності мітохондріальної НАД-МДГ у 3,4 раза (табл. 1), що свідчить про можливе гальмування малат-аспартатного механізму транспорту відновлених еквівалентів у мітохондрії та формування вторинної мітохондріальної дисфункції [5].

Серед причин розвитку мітохондріальної дисфункції при ГПМК розрізняють оксидативний стрес, порушення біосинтезу NO та продукцію його цитотоксичних дериватів, розвиток нітрозуючого стресу. Відомо, що основними проявами мітохондріальної дисфункції є зниження рівня АТФ у клітині, підвищення рівня лактату й зниження пірувату, активізація механізмів загибелі клітини і продукція мітохондріями активних форм кисню (АФК). Найбільше вивчено вплив порушень синтезу АТФ у мітохондріях на функціональну активність нейронів [15]. Під дією АФК, утворених мітохондріями, відбувається стимуляція відкриття мітохондріальних пор, експресія і вихід у цитозоль проапоптотичних білків. Відкриття пор відбувається внаслідок окислення цитотоксичними дериватами NO тіольної групи цистеїн-залежної ділянки білка внутріш-

Таблиця 2. Вплив комбінації гліцину з тіотриазололіном і референс-препаратів на відкриття мітохондріальної пори та мембранний потенціал мітохондрій у головному мозку щурів на 4 добу експериментального моделювання ГПМК ($M \pm m$)

Група тварин	Відкриття мітохондріальної пори, $\Delta E_{540\text{ нм}}$	Мембранний потенціал мітохондрій, Ψ
Інтактна група, n = 10	0,051 ± 0,001	53,1 ± 2,7
Контроль, n = 7	0,640 ± 0,024	17,4 ± 1,2
ГПМК + комбінація гліцину з тіотриазололіном, n = 18	0,220 ± 0,001**	38,8 ± 2,7**
ГПМК + гліцин, n = 12	0,520 ± 0,002**	26,9 ± 1,4*
ГПМК + пірацетам, n = 10	0,600 ± 0,011	22,8 ± 1,7*

*: щодо контролю, $p < 0,05$; #: щодо ГПМК + гліцин, $p < 0,05$; ^: щодо ГПМК+пірацетам, $p < 0,05$.

Таблиця 3. Вплив комбінації гліцину з тіотриазололіном і референс-препаратів на вміст продуктів окислювальної модифікації білків мітохондріальної фракції головного мозку щурів на 4 добу експериментального моделювання ГПМК ($M \pm m$)

Група тварин	Мітохондріальна фракція	
	АФГ, у. о./г білка	КФГ, у. о./г білка
Інтактна група, n = 10	1,81 ± 0,08	0,55 ± 0,02
Контроль, n = 7	3,32 ± 0,21	1,12 ± 0,09
ГПМК + комбінація гліцину з тіотриазололіном, n = 18	1,88 ± 0,07**	0,62 ± 0,02**
ГПМК + гліцин, n = 12	2,78 ± 0,08*	0,83 ± 0,03**
ГПМК + пірацетам, n = 10	2,89 ± 0,11	1,10 ± 0,07

*: щодо контролю, $p < 0,05$; #: щодо ГПМК + гліцин, $p < 0,05$; ^: щодо ГПМК + пірацетам, $p < 0,05$.

ньої мембрани мітохондрій (АТФ/АДФ-антипортер), що перетворює його в проникний неспецифічний канал-пору [12]. Утворені мітохондріями АФК також беруть участь у передачі внутрішньоклітинних сигналів рецепторів для ендотеліну, TGF- β 1, PDGF, AT-II, FGF-2 тощо. АФК також здатні змінювати активність різних транскрипційних факторів, включаючи NF- κ B, AP-1 і проапоптотичний білок p66Shc. Підвищення продукції АФК, впливаючи на названі внутрішньоклітинні сигнальні механізми, може спричиняти активізацію в нейроні запального процесу та розвиток гіпертрофічних і фіброзних змін [4].

Біохімічне дослідження головного мозку щурів із ГПМК дало змогу встановити особливості мітопротективної та протиішемічної дії комбінації гліцину з тіотриазололіном. Так, вміст АТФ у мітохондріальній фракції головного мозку щурів, які отримували комбінацію, вірогідно зростав у 1,1 раза, а вміст лактату зменшувався на 61 %, що свідчить про зниження активності малопродуктивного гліколізу (табл. 1). У групі тварин із ГПМК, які отримували комбінацію гліцину з тіотри-

золіном, вірогідно зростала активність СДГ утричі, а активність НАД-МДГ у 3,7 раза щодо групи контролю (табл. 1). Визначення вмісту рівня малату та сукцинату в мітохондріальній фракції головного мозку щурів, які отримували комбінацію гліцину з тіотріазоліном, на тлі моделювання ГПМК показало вірогідне збільшення рівня малату у 2,4 раза, рівня сукцинату на 86 % щодо групи контролю (табл. 1).

Результати свідчать про позитивну динаміку в головному мозку щурів із ГПМК, які отримували комбінацію гліцину з тіотріазоліном, що вказує на зниження проявів мітохондріальної дисфункції та активації компенсаторних цитозольно-мітохондріальних шунтів синтезу АТФ (найбільше – малат-аспартатного, внаслідок дії тіотріазоліну) та зменшення енергодефіциту. Призначення пірацетаму суттєво не впливало на стан аеробної продукції енергії. У групі тварин, що отримували пірацетам, синтез АТФ при церебральній ішемії відбувався шляхом активації гліколізу (підвищення лактату на 17 %). Гліцин підвищував продукцію АТФ унаслідок впливу на сукцинатоксидазний шлях (підвищення СДГ в 1,4 раза та сукцинату на 36 %) (табл. 1).

Курсове призначення щурам із ГПМК комбінації гліцину та тіотріазоліну призводило до зменшення проявів вторинної мітохондріальної дисфункції. Так, у тварин, які отримували цю комбінацію, спостерігали зменшення відкриття мітохондріальної пори в 1,9 раза, збільшення заряду внутрішньої мембрани мітохондрій в 1,2 раза порівняно з контрольною групою (табл. 2). За цими показниками лікарська комбінація вірогідно перевершує показники гліцину та пірацетаму.

Моделювання ГПМК призводило до ініціювання оксидативного стресу в мітохондріях головного мозку експериментальних тварин (табл. 3). Відомо, що активні форми кисню є головними руйнівними чинниками ексайтотоксичності при церебральній ішемії, що зумовлюють окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів та іонних каналів, знижують заряд мембран мітохондрій і спричиняють формування мітохондріальної дисфункції [13]. Отримали дані, що АФК, взаємодіючи з цистеїн-залежними ділянками гігантської пори мітохондрій, призводять до її відкриття та формування стійкої мітохондріальної дисфункції, енергодефіциту й ініціації апоптозу [14]. Відомо, що найранішими об'єктивними маркерами оксидативного пошкодження мітохондрій є продукти окислювальної модифікації білків (ОМБ). Аналізуючи експериментальні дані, слід зазначити, що у щурів із ГПМК істотно (порівняно з інтактною групою) підвищується прооксидативний потенціал мітохондрій нейронів.

Вміст продуктів окислювальної модифікації білків (АФГ і КФГ) найбільше підвищується в мітохондріальній (на 83 % і 104 % відповідно) фракції головного мозку, що свідчить про вільнорадикальний механізм пошкодження мітохондрій при цій моделі ГПМК (табл. 3). Призначення тваринам із ГПМК комбінації гліцину з тіотріазоліном призводило до істотного гальмування реакцій оксидативного стресу в головному мозку, що виявлялося зниженням маркерів ОМБ у мітохондріальній фракції. Цей факт можна розглядати через призму мітопротекції, розцінюючи це як підтвер-

дження наявності в цієї комбінації антиоксидантної дії, що спрямована на неспецифічний захист мітохондрій. Введення гліцину та пірацетаму мало менш виразний антиоксидантний ефект.

Обговорення

Аналізуючи результати біохімічних досліджень енергетичного метаболізму головного мозку при експериментальному моделюванні ГПМК та при застосуванні комбінації гліцину з тіотріазоліном, можна зробити висновок, що основним механізмом протиішемічної дії досліджуваної комбінації є її вплив на дисфункцію мітохондрій. На нашу думку, комбінація гліцину з тіотріазоліном завдяки зменшенню утворення АФК і вільних радикалів на SH-групах цистеїн-залежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій, імовірно, запобігає відкриттю мітохондріальної пори та зберігає функціональну активність мітохондрій; це надалі покращує енергетичний обмін головного мозку в умовах ішемії [16].

У попередніх дослідженнях отримали результати, що свідчать про наявність у комбінації гліцину з тіотріазоліном, на відміну від пірацетаму та інших ноотропів, властивостей знижувати летальність, імовірність неврологічних порушень, а також прискорювати відновлення мнестичних функцій у піддослідних тварин із ГПМК [6]. Раніше встановили, що фармакологічний ефект лікарської комбінації зумовлений взаємопотенціюючим впливом тіотріазоліну й гліцину на гіперзбудливість NMDA рецепторів (потенціювання Red/Oxi-механізму), а також на енергетичний метаболізм головного мозку (внаслідок посилення функціонування компенсаторних механізмів вироблення АТФ) [16].

Висновки

1. Моделювання ГПМК у щурів призводить на четверту добу експерименту до пошкодження мітохондрій головного мозку в реакціях оксидативного стресу й зниження їхньої енергопродукції: дефіциту АТФ на тлі підвищення лактату, зниження сукцинату й малату, пригнічення активності НАД-залежної малатдегідрогенази і сукцинатдегідрогенази.

2. Введення тваринам із ГПМК протягом 4 діб комбінації гліцину з тіотріазоліном (4:1) внутрішньошлунково призводило до зниження оксидативного ушкодження мітохондрій (АФГ на 76,6 % і КФГ на 80,7 %) і гальмування формування мітохондріальної дисфункції (відкриття МП в 1,9 раза, мембранний потенціал мітохондрій Ψ в 1,2 раза).

3. Комбінація гліцину та тіотріазоліну підвищувала продукцію АТФ в ішемізованому мозку тварин в 1,1 раза внаслідок активації компенсаторних мітохондріально-цитозольних шунтів, насамперед у малат-аспартатному (підвищення малату в 2,44 раза та НАД-МДГ у 3,7 раза), а також у сукцинатоксидазному (підвищення СДГ утричі та сукцинату на 86,2 %).

4. За ступенем впливу на показники енергетичного обміну комбінація гліцину з тіотріазоліном вірогідно перевершує аналогічну дію і гліцину, і референс-препарату пірацетаму.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні нейропротективних властивостей комбінації гліцину з тіотриазоліном в умовах експериментального моделювання гострого порушення мозкового кровообігу.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 11.01.2021

Після доопрацювання / Revised: 09.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 15.02.2021

Відомості про авторів:

Беленичев І. Ф., д-р біол. наук, професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Егоров А. А., канд. мед. наук, старший викладач каф. фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Bielenichev I. F., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Medical Formulation with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Yehorov A. A., MD, PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmacology and Medical Formulation with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Беленичев И. Ф., д-р биол. наук, профессор, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры с курсом нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Егоров А. А., канд. мед. наук, старший преподаватель каф. фармакологии и медицинской рецептуры с курсом нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Strategies to Extend Thrombolytic Time Window for Ischemic Stroke Treatment: An Unmet Clinical Need / I. Peña, C. Borlongan, G. Shen, W. Davis *Journal of stroke*. 2017. Vol. 19, Iss. 1. P. 50-60. <https://doi.org/10.5853/jos.2016.01515>
- [2] Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С., Субачева Т. И. Маркеры окислительной модификации белка и нитрозирующего стресса при экспериментальном ишемическом инсульте и фармакологической модуляции системы глутатиона. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 2. С. 30-36.
- [3] Место тиотриазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств / И. Ф. Беленичев, В. А. Визир, В. И. Мамчур, А. В. Курята. *Запорізький медичний журнал*. 2019. Т. 21, № 1. С. 118-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [4] Тиол-дисульфидная система: роль в эндогенной цито- и органопротекции, пути фармакологической модуляции / И. Ф. Беленичев и др. Киев: ТОВ «Видавництво «Юстон», 2020. 232 с.
- [5] Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Е. А. Нагорная и др. Киев: Логос, 2015. 512 с.
- [6] Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur et al. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21. <https://doi.org/10.1501/Eczfak-0000000598>
- [7] Пат. 114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41 (2006.01) А61Р 9/10 (2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В., Хромильова І. А. Мазур та ін. № а201612503; заявл. 08.12.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9.
- [8] Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції: методичні рекомендації / упоряд.: І. С. Чекман, І. Ф. Беленичев, О. О. Нагорна та ін. Київ, 2016. 93 с. <http://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/15026>

- [9] Голованова І. А., Белікова І. В., Ляхова Н. О. Основи медичної статистики. Полтава: Українська медична стоматологічна академія, 2017. 113 с.
- [10] Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy / S. C. Correia, C. Carvalho, S. Cardoso et. al. *Frontiers in aging neuroscience*. 2010. Vol. 2. P. 138. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00138>
- [11] Состояние энергетического обмена при остром нарушении мозгового кровообращения и его модуляция производными L-лизина / А. А. Егоров, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур и др. *Патологія*. 2010. Т. 7, № 1. С. 38-42.
- [12] Беленичев И. Ф. Егоров А. А., Мазур И. А. Исследование влияния новой соли L-лизина на показатели окислительного стресса и развитие неврологического дефицита у животных с острым нарушением мозгового кровообращения. *Запорізький медичний журнал*. 2009. Т. 11, № 6. С. 48-50.
- [13] The molecular and ultrastructural aspects of the formation of mitochondrial dysfunction in the modeling of chronic cerebral ischemia: the mitoprotective effects of angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko et al. *Neurochemical Journal*. 2016. Vol. 10, Iss. 2. P. 131-136. <https://doi.org/10.1134/S1819712416010025>
- [14] Roles of Oxidative Stress, Apoptosis, PGC-1 α and Mitochondrial Biogenesis in Cerebral Ischemia. / S. D Chen, D. I Yang, T. K. Lin et al. *International journal of molecular sciences*. 2011. Vol. 12, Iss. 10. P. 7199-7215. <https://doi.org/10.3390/ijms12107199>
- [15] Тиол-дисульфидное равновесие – определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга (обзор литературы) / Ю. М. Колесник, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др. *Журнал НАМН України*. 2013. Т. 19, № 1. С. 3-11. URL: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/708>
- [16] Горбачева С. В., Беленичев И. Ф. Экспериментальное обоснование диагностической значимости коэффициента нитротирозин/глутатион в клинической биохимии для оценки степени тяжести мозгового инсульта *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 1, т. 1. С. 157-161.

References

- [1] Peña, I. D., Borlongan, C., Shen, G., & Davis, W. (2017). Strategies to Extend Thrombolytic Time Window for Ischemic Stroke Treatment: An Unmet Clinical Need. *Journal of stroke*, 19(1), 50-60. <https://doi.org/10.5853/jos.2016.01515>
- [2] Belenichev, I. F., Lytvynenko, E. S., & Subachova, T. I. (2016). Markery oksidativnoho modifikatsii belka i nitroziruyushchego stressa pri eksperimental'nom ishemicheskomo insul'te i farmakologicheskoi moduliyatsii systemy glutatona [Markers of oxidative modification of proteins and nitrosating stress in the experimental ischemic stroke and pharmacological modulation of glutathione system]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (2), 30-36. [in Russian].
- [3] Bielenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. Yo., & Kuriata, O. V. (2019). Mesto tiotriazolina v galeree sovremennykh metabolitotropnykh lekarstvennykh sredstv [Place of thiotriazoline in the gallery of modern metabolitotropic medicines]. *Zaporozhye Medical Journal*, 21(1), 118-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [4] Belenichev, I. F., Nagornaya, E. A., Gorbacheva, S. V., Gorchakova, N. A., & Bukhtiyarova, N. V. (2020). Tiol-disulfidnaya sistema: rol' v endogennoi tsito- i organoproteksii, puti farmakologicheskoi moduliyatsii [Thiol-disulfide system: role in endogenous cyto- and organoprotection, pathways of pharmacological modulation]. Kiev: TOV «Vidavnitstvo «Yuston». [in Russian].
- [5] Belenichev, I. F., Chernii, V. I., Nagornaya, E. A., Pavlov, S. V., Chernii, T. V., Gorchakova, N. A., Bukhtiyarova, N. V., Andronova, I. A., & Kucherenko, L. I. (2015). Neuroproteksiya i neuroplastichnost' [Neuroprotection and neuroplasticity]. Logos. [in Russian].
- [6] Kucherenko, L., Belenichev, I., Mazur, I., Khromylova, O., & Parniuk, N. (2018). Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 42(1), 14-21. <https://doi.org/10.1501/Eczfak-0000000598>
- [7] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., Mazur, I. A., Belenichev, I. F., & Horbacheva, S. V. (2017). Ukrainian Patent No. 114270. *Kombinovanyi likarskyi zasib dlia pervynnoi neuroproteksii* [Combination drug for primary neuroprotection]. [in Ukrainian].
- [8] Chekman, I. S., Belenichev, I. F., Nahorna, O. O., Horbacheva, N. O., Lukianchuk, V. D., Bukhtiyarova, N. V., Horbacheva, S. V., & Syrova, H. O. (2016). *Doklinichne vyvchennia spetsyifichnoi aktivnosti potentsiinykh likarskykh zasobiv pervynnoi ta vtornyynoi neuroproteksii*: metodichni rekomendatsii [Preclinical study of specific activity of potential drugs of primary and secondary neuroprotection: guidelines]. Kyiv. [in Ukrainian]. <http://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/15026>
- [9] Holovanova, I. A., Bielikova, I. V., & Liakhova, N. O. (2017). *Osnovy medychnoi statystyky* [Fundamentals of medical statistics]. Ukrainska medychna stomatolohichna akademiia. [in Ukrainian].

- [10] Correia, S. C., Carvalho, C., Cardoso, S., Santos, R. X., Santos, M. S., Oliveira, C. R., Perry, G., Zhu, X., Smith, M. A., & Moreira, P. I. (2010). Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy. *Frontiers in aging neuroscience*, 2, 138. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2010.00138>
- [11] Egorov, A. A., Belenichev, I. F., Mazur, I. A., Abramov, A. V., & Kucherenko, L. I. (2010). Sostoyanie energeticheskogo obmena pri ostrom narushenii mozgovogo krovoobrashcheniya i ego modulyatsiya proizvodnymi L-lizina [State of energy metabolism in acute stroke and its modulation by L-lysine derivatives]. *Pathologia*, 7(1), 38-42. [in Russian].
- [12] Belenichev, I. F., Egorov, A. A., & Mazur, I. A. (2009). Issledovanie vliyaniya novoi soli L-lizina na pokazateli oksiditel'nogo stressa i razvitiye nevrologicheskogo defitsita u zhivotnykh s ostrym narusheniem mozgovogo krovoobrashcheniya [Investigation of the effect of a new salt of L-lysine on oxidative stress and the development of neurological deficits in animals with acute cerebrovascular accident]. *Zaporozhye medical journal*, 11(6), 48-50. [in Russian].
- [13] Belenichev, I. F., Mazur, I. A., Kucherenko, L. I., Nagornaya, E. A., Gorbacheva, S. V., & Bidnenko, A. S. (2016). The molecular and ultrastructural aspects of the formation of mitochondrial dysfunction in the modeling of chronic cerebral ischemia: The mitoprotective effects of Angiolin. *Neurochemical Journal*, 10(2), 131-136. <https://doi.org/10.1134/s1819712416010025>
- [14] Chen, S. D., Yang, D. I., Lin, T. K., Shaw, F. Z., Liou, C. W., & Chuang, Y. C. (2011). Roles of oxidative stress, apoptosis, PGC-1 α and mitochondrial biogenesis in cerebral ischemia. *International journal of molecular sciences*, 12(10), 7199-7215. <https://doi.org/10.3390/ijms12107199>
- [15] Kolesnik, Yu. M., Chekman, I. S., Belenichev, I. F., Gorbachyova, S. V., Gorchakova, N. A., & Bukhtiyarova, N. V. (2013). Tiol-disul'fidnoe ravновesie – opredelyayushchii faktor rezistentnosti neuronov k nitroziruyushchemu stressu v usloviyakh ishemii mozga (obzor literatury) [Thiol-disulfide balance – a determining factor of neurons' resistance to nitrosifying stress in conditions of cerebral ischemia (review of literature)]. *Zhurnal NAMN Ukrainy*, 19(1), 3-11. [in Russian].
- [16] Gorbacheva, S. V., & Belenichev, I. F. (2016). Eksperimental'noe obosnovanie diagnosticheskoi znachimosti koeffitsienta nitrotirozin/glutation v klinicheskoi biokhimii dlya otsenki stepeni tyazhesti mozgovogo insulta [Experimental justification of diagnostic significance of nitrotyrosine/glutathione coefficient in clinical biochemistry in order to give an estimation of cerebral stroke severity]. *Bulletin of problems biology and medicine*, 1(1), 157-161. [in Russian].

Immunohistochemical analysis of microglial changes in the experimental acute hepatic encephalopathy

T. V. Shulyatnikova *

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Hepatic encephalopathy (HE) is a syndrome of impaired brain function in patients with advanced liver failure and it manifests in form of psychometric tests alterations up to decreased consciousness and coma. The current knowledge about HE mainly focused on the theory of ammonia neurotoxicity and neuroinflammation. Microglia being resident innate immune cells of the brain when activated are responsible for the neuroinflammatory reactions.

The aim – immunohistochemical study of the microglial changes in different rat brain regions in conditions of experimental acute HE (AHE).

Materials and methods. We used acetaminophen induced liver failure model in Wistar rats. Four from 10 animals that survived up to 24 h after acetaminophen injection constituted “compensated group”; 6 animals which died within 24 h – “decompensated group”. Microglial reactive changes were analysed by the evaluation of the relative area (S rel., %) of CD68⁺ expression in the brain cells not associated with meninges and vessels, as well as the changing in shape and number of these cells.

Results. Acetaminophen-induced AHE in rats was characterized by the regional- and time-dependent dynamic increase in CD68 expression level in the rat brain in form of significant (relatively to control) increase of CD68⁺ S rel. in brain cells and the number of such cells. The medians of CD68⁺ S rel. and their numbers in significantly changed regions of non-survived rats were, respectively: subcortical white matter – 0.24 (0.20; 0.26) and 11.00 (8.00; 13.00); thalamus – 0.13 (0.90; 0.18) and 6.00 (3.00; 7.00); caudate/putamen – 0.13 (0.12; 0.18) and 7.00 (4.00; 11.00) – all indicators were statistically significant compared to control. In the survived animals, indicators were, respectively: subcortical white matter – 0.24 (0.16; 0.26) and 10.00 (8.00; 12.00); caudate/putamen – 0.12 (0.10; 0.15) and 6.00 (4.00; 10.00) – the differences were significant compared to control.

Conclusions. The highest and significant indicators were revealed at 24 h (compared to earlier time points) of the experiment in the white matter, thalamus and caudate/putamen. This fact reflects time-dependent dynamic boosting of reactive changes in microglia and presumably may indicate the regions of the most active neuroinflammatory response within the brain parenchyma in the conditions of AHE. The appearing of a small percentage of cells with amoeboid transformation among CD68⁺-cells may mean partial functional insufficiency of such cells due to probable suppressive impact of ammonia or other influencing factors, as well as insignificance of the material that needs to be phagocytosed under established conditions.

Key words:
acute hepatic encephalopathy, microglial, phagocytosis, CD68.

Pathologia
2021; 18 (1), 33-38

*E-mail:
shulyatnikova.tv@gmail.com

Імуногістохімічний аналіз змін мікроглії при експериментальній гострій печінковій енцефалопатії

Т. В. Шулятнікова

Печінкова енцефалопатія (ПЕ) – синдром порушення функції мозку в пацієнтів із вираженою печінковою недостатністю, що може маніфестувати як зміни психометричних тестів і поглиблюватися до зниження свідомості з розвитком коми. Сучасні уявлення про ПЕ зосереджені передусім на теорії нейротоксичності аміаку та нейрозапаленні. Мікроглія, що представляє резидентний пул клітин вродженого імунітету в мозку, після активації може викликати нейрозапальну відповідь.

Мета роботи – імуногістохімічне визначення мікрогліальних змін у різних ділянках мозку в умовах експериментальної гострої ПЕ (ГПЕ).

Матеріали та методи. Використали модель ацетамінофен-індукованої печінкової недостатності у щурів лінії Wistar. Чотири тварини (із десяти), які вижили в термін до 24 годин після ін'єкції ацетамінофену, – компенсована група; 6 тварин, які загинули протягом 24 годин, – декомпенсована група. Мікрогліальні реактивні зміни оцінювали шляхом аналізу відносної площі (S rel., %) експресії CD68⁺ у клітинах мозку, що не пов'язані з мозковими оболонками та судинами, а також за змінами форми та кількості таких клітин.

Результати. Індукована ацетамінофеном ГПЕ у щурів характеризувалася регіональним і динамічним у часі зростанням рівня експресії CD68 у мозку: виявили вірогідне щодо контролю збільшення CD68⁺ S rel. у клітинах мозку та кількості таких клітин. Медіани CD68⁺ S rel. (%) і кількість CD68⁺-клітин у ділянках мозку зі значущими кількісними змінами у померлих щурів становили: підкіркова біла речовина – 0,24 (0,20; 0,26) та 11,00 (8,00; 13,00); таламус – 0,13 (0,90; 0,18) та 6,00 (3,00; 7,00); хвостате ядро/путамен – 0,13 (0,12; 0,18) та 7,00 (4,00; 11,00) відповідно. Усі показники, що наведені, статистично вірогідно більші порівняно з контрольними. У тварин, що вижили, показники становили: підкіркова біла речовина – 0,24 (0,16; 0,26) та 10,00 (8,00; 12,00); хвостате ядро/путамен – 0,12 (0,12; 0,15) та 6,00 (4,00; 10,00) відповідно; показники вірогідно більші щодо контролю.

Висновки. Найвищі та вірогідні показники встановлені на 24 годині експерименту (порівняно з попередніми часовими періодами) в білій речовині, таламусі та хвостатому ядрі/путамені. Цей факт підтверджує регіон-залежне, динамічне в часі посилення реактивних змін мікроглії, що може вказувати на ділянки розвитку найактивнішої нейрозапальної відповіді в паренхімі мозку в умовах ГПЕ. Наявність серед CD68⁺-клітин невеликого відсотка клітин з амебодною

Ключові слова:
гостра печінкова енцефалопатія, мікроглія, фагоцитоз, CD68.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 33-38

трансформацією може означати їхню часткову функціональну недостатність через імовірний супресивний вплив аміаку або інших факторів, а також не виключає утворення в цих умовах незначної кількості тканинного матеріалу, що має зазнавати фагоцитозу.

Ключевые слова:
острая печёночная энцефалопатия, микроглия, фагоцитоз, CD68.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 33-38

Иммуногистохимический анализ изменений микроглии при экспериментальной острой печёночной энцефалопатии

Т. В. Шулятникова

Печеночная энцефалопатия (ПЭ) – синдром нарушенной функции мозга у пациентов с выраженной печеночной недостаточностью, который может манифестировать в виде изменений психометрических тестов и усиливаться до снижения сознания вплоть до развития комы. Современные представления о ПЭ сосредоточены преимущественно на теории нейротоксичности аммиака и нейровоспалении. Микроглия, представляющая резидентный пул клеток, отвечающий за врожденный иммунитет в мозге, после активации способна инициировать нейровоспалительный ответ.

Цель работы – иммуногистохимическое определение микроглиальных изменений в различных областях мозга в условиях экспериментальной острой ПЭ (ОПЭ).

Материалы и методы. Использована модель ацетаминофен-индуцированной печеночной недостаточности у крыс линии Wistar. Четверо животных (из десяти), которые выжили в срок до 24 часов после инъекции ацетаминофена, – компенсированная группа; 6 животных, погибших в течение 24 часов, – декомпенсированная группа. Микроглиальные реактивные изменения оценивали путем анализа относительной площади (S rel., %) экспрессии CD68* в клетках мозга, не связанных с мозговыми оболочками и сосудами, а также по изменениям формы и количества таких клеток.

Результаты. Индуцированная ацетаминофеном ОПЭ у крыс характеризовалась региональным и динамическим во времени ростом уровня экспрессии CD68 в мозге крыс в виде достоверного относительно контроля увеличения CD68* S rel. в клетках мозга и количества иммунопозитивных клеток. Медианы CD68* S rel. (%) и количество CD68*-клеток в регионах мозга с существенными количественными изменениями у умерших крыс составили: подкорковое белое вещество – 0,24 (0,20; 0,26) и 11,00 (8,00; 13,00); таламус – 0,13 (0,90; 0,18) и 6,00 (3,00; 7,00); хвостатое ядро/путамен – 0,13 (0,12; 0,18) и 7,00 (4,00; 11,00) соответственно. Все показатели статистически достоверно выше контрольных. У выживших животных показатели составили: подкорковое белое вещество – 0,24 (0,16; 0,26) и 10,00 (8,00; 12,00); хвостатое ядро/путамен – 0,12 (0,12; 0,15) и 6,00 (4,00; 10,00) соответственно; показатели достоверно выше контрольных.

Выводы. Самые высокие и достоверные показатели отмечены к 24 часам эксперимента (по сравнению с предыдущими временными периодами) в белом веществе, таламусе и хвостатом ядре/путамене. Этот факт подтверждает регион-зависимое, динамическое во времени усиление реактивных изменений микроглии и в определенной степени может указывать на области наибольшего активной нейровоспалительной реакции в паренхиме мозга в условиях ОПЭ. Наличие среди CD68*-клеток небольшого процента клеток с амебоидной трансформацией может означать их частичную функциональную недостаточность из-за вероятного подавляющего влияния аммиака или других факторов, а также не исключает образование в таких условиях незначительного количества тканевого материала, предназначенного для фагоцитоза.

Hepatic encephalopathy (HE) is a syndrome of impaired brain function in patients with advanced liver failure [1]. This complex state presents in a wide spectrum of neuropsychiatric manifestations from alterations of psychometric tests up to progressive spatiotemporal disorientation, decreased consciousness and coma [2]. The pathogenesis of HE is complicated and specific disease mechanisms remain to be determined, however the current knowledge about HE development mainly focused on the theory of ammonia neurotoxicity as a result of substantial liver disfunction. Besides this concept, the role of systemic inflammation and neuroinflammatory response of the brain was emphasized [1]. Microglia being resident macrophages of the central nervous system when activated by systemic pro-inflammatory cytokines are responsible for the brain neuroinflammatory reactions [3]. Neurotoxic forms of activated microglia release a range of pro-inflammatory and cytotoxic mediators including IL-1b, IL-1a, TNF-a, NO, prostanoids all inducing damaging effect on the neighboring tissue elements and affect brain homeostasis [3]. The most prominent neuropathological sign of acute hepatic encephalopathy (AHE) is the development of severe brain edema mostly

caused by cytotoxic decompensated astrocyte swelling. Though the fine pathophysiological links of the brain edematous changes in AHE are still not entirely clarified, it was proposed that pro-inflammatory cytokines released by the part of activated microglia might be directly related to these mechanisms [4].

Different animal and cell culture studies have shown the controversial influence of acute or chronic hyperammonemia on microglial and astroglial reactivity mostly indicating microglial activation associated with increased expression of proinflammatory IL-6 and TNF-a cytokines [5–7]. However, the precise primary cellular source of noted cytokines synthesis, secretion and consecutive causal factors inducing increase of them are still inconsistent [8]. Considering the above, as well as the fact of small amount of *in vivo* studies of microglial reactivity in AHE conditions, it would be useful to study reactive response of this neuroglial pool in animal model of acute liver failure (ALF). The concept of microglial activation still has not clear definitions, however as a functional sign of the latter it was widely considered acceptable to use CD68 marker, that indicates highly activated phagocytic microglia/macrophages [9]. Moreover, given the recently identified wide

context-dependent and region-dependent morpho-functional heterogeneity of the microglial population in the brain [10,11], a more detailed research of the microglial reactivity in different brain structures would make a great contribution in the better understanding of the cerebral dysfunction mechanisms in the conditions of ALF.

Acetaminophen is the most widely used antipyretic and/or analgesic drug and its overdosing is the primary cause of ALF in many countries [12]. Due to the fact, that such overdosing also causes ALF in rodents this model can be used for analysing mechanisms of acute hepatic encephalopathy similar to that in humans [13,14].

Aim

Immunohistochemical study of the microglial changes in different rat brain regions in the conditions of experimental acute hepatic encephalopathy.

Materials and methods

For experimental purpose Wistar rats, 200–300 g, were used. All procedures were conducted according to the European convention for the protection of vertebrate animals (Strasbourg, 18 March 1986; ETS No. 123) and the Directive 2010/63/EU. Rats were divided into control group ($n = 5$) and AILF-group ($n = 10$). For induction of AHE type "A" ("Acute liver failure" – according to the American Association for the Study of Liver Disease updated guidelines), we used acetaminophen (paracetamol, N-acetyl-p-aminophenol [APAP]) induced liver failure (AILF) model [13,14]. The detailed description of all steps and characteristics of the experimental model can be found in our previous paper [15]. After intraperitoneal (i.p.) acetaminophen injection, rats were examined for signs of changed major physiological parameters, lethargy, loss of reflexes. Six rats were euthanised up to 24 h after the acetaminophen injection. Euthanasia was achieved by an i.p. administration of sodium thiopental euthanasia solution due to the above severe clinical symptoms. Four animals that survived up to 24 h after the procedure were designated to group "AILF-A" – compensated AILF; 6 animals which died within 24 h after injection constituted the group "AILF-B" – decompensated AILF. In the control group "AILF-C", all animals survived up to 24 h. In 24 h after AILF-procedure, all survived and control animals were euthanised by i.p. injection of sodium thiopental solution.

The material of the brain and liver tissue was processed according to standard procedures with formation of paraffin blocks. For general histopathological analysis hematoxylin-eosin stained sections were used. Immunohistochemical (IHC) study involved detection of immunopositive labels using mouse monoclonal anti-CD68 antibody (clone PG-M1, RTU, Dako, Denmark) and UltraVision Quanto detection system (ThermoScientific, USA) at magnification $\times 200$ in the standardized field of view (SFV) of the Scope A1 microscope (Carl Zeiss, Germany). Morphometric calculations were done using Videotest-Morphology 5.2.0.158 program. The characteristics of CD68 expression were evaluated as the relative area (S rel., %) of immunopositive labelling to SFV. In addition, numbers of immunopositive cells and

the percentage of positive cells with changed morphology to amoeboid type were assessed. Latter ones show more round form due to more abundant cytoplasm, with shortened, thickened processes in relation to rod-shaped microglia (inset on the Fig. 4). To identify specific features of glial reactivity such regions were selected as prefrontal cortex, underlying white matter, thalamus, hippocampus and caudate nucleus/putamen region.

Digital data were statistically processed by Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., license № JP-Z804I382130ARCN10-J) with evaluating median, lower and upper quartiles. For comparison between groups Mann–Whitney and Kruskal–Wallis tests were used. The results were considered significant at 95 % ($P < 0.05$).

Results

In our study all experimental animals showed the clinical signs of growing acute brain dysfunction finished by comatose state. Pathohistological changes in their liver tissue have evidenced its widespread toxic damage. Thus, at the period up to 24 h, all AILF-rats had pathohistological signs of centrolobular necrosis, focal hemorrhages, as well as severe balloon dystrophy of hepatocytes. The degree of these changes had dynamic increase with the time after injection.

The IHC study of the brains showed that in control animals, the expression of the CD68 in the brain tissue was unequally expressed, region-specific and manifested at a low level in all studied parameters. Control animals demonstrated the highest indicators of the CD68⁺ S rel. (%) and the numbers of CD68⁺ cells in the subcortical white matter in relation to other regions. Moreover, white matter was characterized by the most significant indicators (in comparison to other regions) percentage of CD68⁺ cells with morphologic transformations into amoeboid phenotype. Cortical, hippocampal, thalamic and caudate/putamen regions of control rats demonstrated relatively smaller numerical indicators of the studied parameters. The percentage of round-shaped amoeboid immunopositive cells in all noted regions was represented at the minimum level (Table 1).

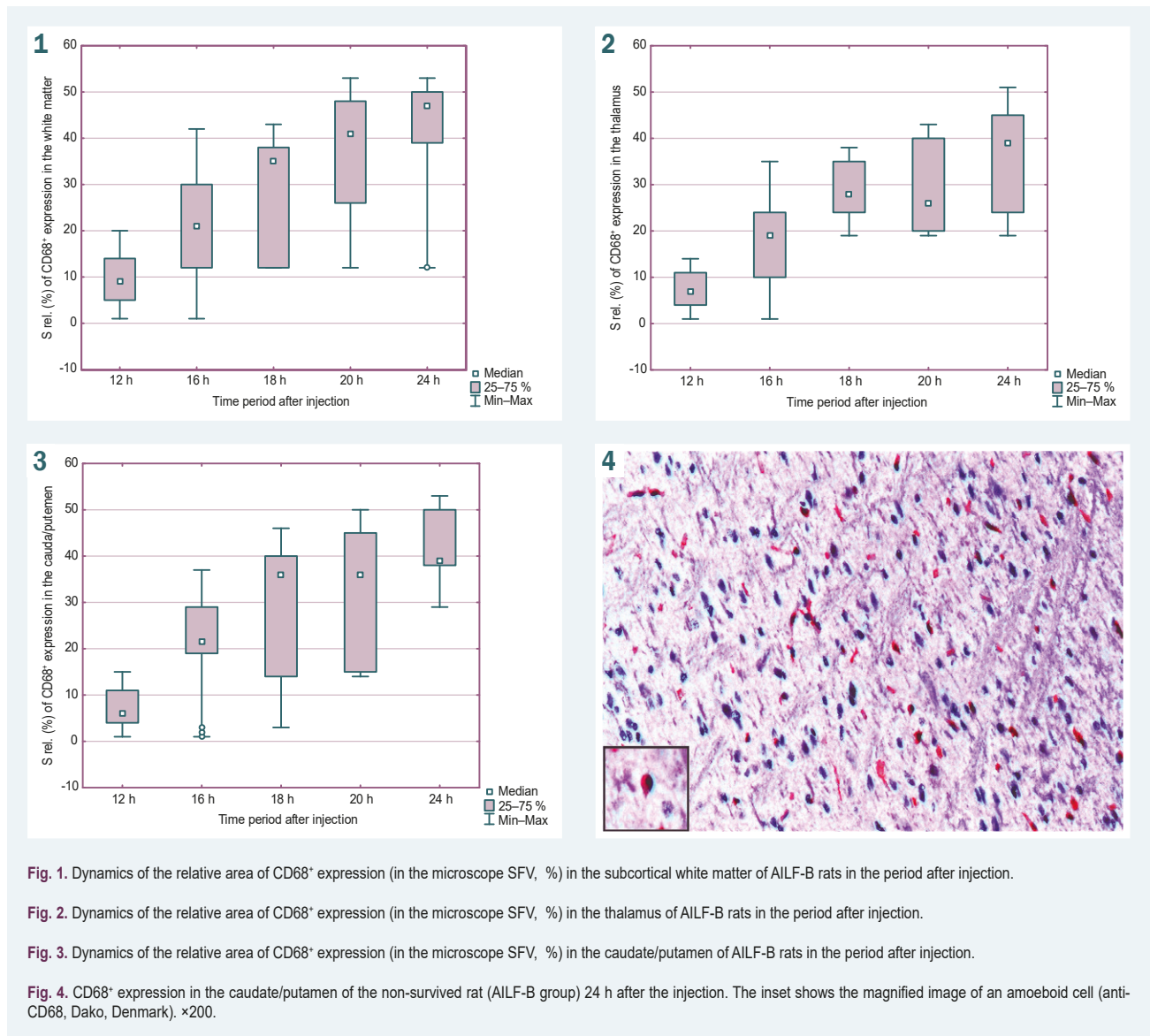
In the brain tissue of survived rats with compensated AILF (AILF-A) group in relation to control group, by 24 h of the experiment the moderate, regionally heterogeneous elevation in the indicators of microglial reactivity was found. The highest and statistically significant parameters of CD68⁺ S rel. (%) and the number of CD68⁺-cells were characteristic for caudate/putamen and subcortical white matter compared to other studied areas. The cortex, thalamus and hippocampus also showed increase of S rel. (%) and numbers of CD68⁺ cells, however they did not statistically differ from the control values. The same statistical insignificance of differences applied to moderate increase in the number of cells changing their morphology to amoeboid shape in subcortical white matter of survived rats (Table 1).

The brain microglial reactive changes in non-survived animals with decompensated AILF (AILF-B) demonstrated statistically significant regional-dependent increase in two studied parameters. The highest rates of the indicators of the CD68⁺ S rel. (%) and numbers of CD68⁺-cells were

Table 1. The indicators of microglial reactivity in different brain regions in animals from different experimental groups

AILF-A			AILF-B			AILF-C		
S rel. (%) in SFV	CD68 ⁺ cells number in SFV	% of CD68 ⁺ cells in SFV with amoeboid morphology	S rel. (%) in SFV	CD68 ⁺ cells number in SFV	% of CD68 ⁺ cells in SFV with amoeboid morphology	S rel. (%) in SFV	CD68 ⁺ cells number in SFV	% of CD68 ⁺ cells in SFV with amoeboid morphology
Cortex								
0.13 (0.10; 0.16)	5.00 (4.00; 7.00)	3.00 (1.00; 5.00)	0.13 (0.10; 0.16)	7.00 (5.00; 8.00)	3.00 (1.00; 5.00)	0.13 (0.11; 0.14)	6.00 (3.00; 7.00)	2.00 (1.00; 5.00)
Subcortical white matter								
0.24 (0.16; 0.26)*	10.00 (8.00; 12.00)*	6.00 (3.00; 11.00)	0.24 (0.20; 0.26)*	11.00 (8.00; 13.00)*	6.00 (3.00; 10.00)	0.22 (0.20; 0.22)	8.00 (7.00; 11.00)	5.00 (2.00; 10.00)
Hippocampus								
0.14 (0.11; 0.17)	7.00 (4.00; 9.00)	4.00 (1.00; 8.00)	0.14 (0.11; 0.17)	7.00 (5.00; 9.00)	4.00 (2.00; 9.00)	0.13 (0.12; 0.15)	6.00 (4.00; 8.00)	3.00 (1.00; 9.00)
Thalamus								
0.10 (0.07; 0.13)	5.00 (2.00; 7.00)	2.00 (1.00; 4.00)	0.13 (0.90; 0.18)*	6.00 (3.00; 7.00)*	2.00 (1.00; 4.00)	0.09 (0.07; 0.10)	4.00 (3.00; 6.00)	1.00 (1.00; 3.00)
Caudate/putamen								
0.12 (0.10; 0.15)*	6.00 (4.00; 10.00)*	3.00 (2.00; 5.00)	0.13 (0.12; 0.18)*	7.00 (4.00; 11.00)*	3.00 (2.00; 5.00)	0.11 (0.10; 0.11)	5.00 (3.00; 9.00)	2.00 (1.00; 3.00)

Data are presented as median (Me) with lower and upper quartiles (Q1; Q3); *: significant differences in indicators of the same brain region compared to the control animals (P < 0.05); **AILF-A**: compensated AILF; **AILF-B**: decompensated AILF; **AILF-C**: control group.



noted in (descending order): subcortical white matter, caudate/putamen and thalamus. In the hippocampus and cortex increase of noted indicators was not statistically different relatively to the control. The slight increase in the percentage of cells with changed morphology in such regions as caudate/putamen, thalamus and subcortical white matter of AILF-B rats was also not statistically different relatively to the indicators of control animals ($P > 0.05$) (Table 1).

Thus, the data from 3 experimental groups clearly demonstrated the substantial, reliable increase (compared to control values) in indicators of CD68⁺ S rel. (%), as well as the number of CD68⁺ cells in the subcortical white matter, caudate/putamen and thalamus of non-survived AILF-B-animals and for subcortical white matter and caudate/putamen of survived AILF-A-rats.

In the AILF-B group depending on the time after acetaminophen injection, when decompensation of animal state occurred, the numerical rates of microglial reactive changes were different. The maximal level of the CD68⁺ S rel. (%) was found in caudate/putamen, thalamus and subcortical white matter at 24 h after the initiating of the experiment (Fig. 1–4).

Discussion

Besides the old issues on microglia origin, the novel problem of heterogeneity of microglial populations within different or even the same adult brain region has arisen recently [10]. The already established concept of M1-like/M2-like microglial polarization also has been revised and now is the subject of great controversy [11]. However, this subdivision still exists and is actively used by current neuroscience researchers due to the lack of the evidence-based tools for evaluating the precise microglial effect on tissue media under certain conditions within the tissue in *in vivo* experiments or during the study of postmortem human material. In the brain tissue CD68⁺ cells can be generally represented by microglia and perivascular macrophages, as well as hematogenous phagocytes entering the brain as a result of various brain-systemic challenges [10]. Therefore, in our study we excluded positive cellular immunolabelling related to the structures of blood brain barrier (BBB).

The current knowledge on the microglial role in the impairment of the astrocytic water metabolism under action of ammonia neurotoxicity remains unclear to a large extent. Studies of microglial reactivity using different models of ammonia intoxication, including primary cell cultures and acute or chronic HE animal models, have shown controversial results. Zemtsova I. et al. has experimentally demonstrated the direct activation of cultured rat microglia by ammonia in form of increased expression of Iba-1 (ionized calcium binding adaptor molecule 1) – protein involved in reorganization of the cytoskeleton, required for morphology changing, cell migration and phagocytosis. Although this was accompanied by activated cellular migration, there was simultaneous inhibition of phagocytic microglial activity. Despite noted “activation” signs cultured microglia did not increase proinflammatory cytokines mRNA expression, whereas ROS production was induced [3]. On the other hand, Rao et al. using primary microglial

cultures has shown an increase in the levels of proinflammatory cytokines, oxy-radicals and nitric oxide after ammonia exposure, and conditioned media derived from ammonia-treated microglia when added to cultured astrocytes led to significant astrocyte swelling [5]. Thrane R. V. et al. in the slower azoxymethane-induced HE demonstrated that microglia did not become activated prior to the onset of neurological dysfunction at the terminal stage of HE and coincides with BBB opening. In the same study using a rapid acute hyperammonemic AHE model induced by ammonia load authors did not show any signs of microglial activation, despite animals developed high levels of plasma ammonia and severe neurological impairment. Consequently, authors suggested that microglial activation does not contribute to the early neurological dysfunction during either HE and AHE [7].

Our study revealed partially similar characteristics of microglial reactivity but in the conditions of AILF-induced AHE, although, this did not apply to all indicators. In AILF-animals a small percentage of the brain CD68⁺ cells, as in control rats, was presented as round-shaped (amoeboid) forms which indicated activation of their phagocytic activity at that moment. Moreover, the increase in number of CD68⁺ cells in specified brain regions, as well as the relative area of the marker expression (with respect to control) indirectly evidence to inducing of migration activity of these phagocytes within the brain tissue, while not excluding invading parenchyma through the brain barriers. As noted above, in both lethal and survived animals, morphological transformations of cells towards the amoeboid form did not have significant differences compared to control for the same regions. Altogether, noted features presumably may indicate the early structural reactive changes of microglia and simultaneous lack of their functional activity under action of ammonia and other neurotoxins elevated due to acute liver failure. However, this does not exclude the relative insignificance of the amount of tissue material that needs to be phagocytosed under established experimental conditions. Elevation of S rel. CD68⁺ and number of such cells appeared to have a region-dependent specificity: indicators were significantly higher in the subcortical white matter, caudate/putamen of the both groups and in thalamus of non-survived rats, compared to control. This fact allows to conclude that indicated regions are possibly ones where neuroinflammatory response unfolds most intensely in the conditions of AILF. Dynamic evaluating of noted parameters in the decompensated and euthanized AILF-B-rats helped to recognize that changing of microglial reactivity developed in time-dependent manner. The highest indicators of the CD68⁺ S rel. (%) and numbers of cells were found in the white matter, thalamus and caudate/putamen at 24 h after injection (if compared to all earlier time points) (Fig. 1–3). The revealed difference in higher, statistically significant values of microglial reactivity in non-survived rats may indicate predominance of neurotoxic effects of CD68⁺ cells, as well as represent phagocytosis activation as a subsequent mechanism of tissue cleansing after the irreversible damaging impact of neurotoxins. These features can be comparable to our previous study on astroglial reactivity in the conditions of experimental AILF, where the most severe edematous

and destructive changes in astrocytes were characteristic for decompensated cases of AILF at 24 h after injection [15]. This fact can indirectly evidence the close interaction between astro- and microglia in the conditions of AHE, although this still does not give a clear answer to the question: "Which one of this pair has a primary influence on the other and what is this effect?" Clarifying these questions requires more comprehensive technological approaches and complex study.

Conclusions

1. In the conditions of AILF in the rat brain there is dynamic, region-specific increase in microglial reactive changes.

2. The highest indicators of microglial reactive changes were revealed at 24 h after initiation of AILF in the subcortical white matter, thalamus and caudate/putamen which presumably may indicate the regions of the most active neuroinflammatory response within the brain tissue in acute hepatic encephalopathy.

3. The small percentage of cells with amoeboid shifting among CD68⁺-cells may mean partial functional insufficiency of these cells due to probable suppressive impact of ammonia and other influencing factors or relative insignificance of the amount of tissue material that needs to be phagocytosed under established conditions.

Prospects for further research. Considering the central role of neuroglia in adaptation and responses of the brain to various systemic and intracerebral challenges, it is necessary to study the interaction between different glial pools in the conditions of somatogenic toxic encephalopathies, including hepatic one, not only in experimental models, but also using postmortem human material.

Funding

This study was conducted in the framework of the scientific research work of Zaporizhzhia State Medical University "The morphogenesis of destructive-reparative processes of the brain in the diseases of vascular and toxic-metabolic origin", № of state registration 0118U004253.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 23.12.2020
Після доопрацювання / Revised: 17.02.2021
Прийнято до друку / Accepted: 03.03.2021

Information about author:

Shulyatnikova 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)

Відомості про автора:

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

Сведения об авторе:

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

References

- [1] Ferenci, P. (2017). Hepatic encephalopathy. *Gastroenterology report*, 5(2), 138-147. <https://doi.org/10.1093/gastro/gox013>
- [2] Flamm, S. L. (2018). Complications of Cirrhosis in Primary Care: Recognition and Management of Hepatic Encephalopathy. *The American journal of the medical sciences*, 356(3), 296-303. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2018.06.008>
- [3] Zemtsova, I., Görg, B., Keitel, V., Bidmon, H. J., Schrör, K., & Häussinger, D. (2011). Microglia activation in hepatic encephalopathy in rats and humans. *Hepatology*, 54(1), 204-215. <https://doi.org/10.1002/hep.24326>
- [4] Jayakumar, A. R., Rama Rao, K. V., & Norenberg, M. D. (2015). Neuroinflammation in hepatic encephalopathy: mechanistic aspects. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 5(Suppl 1), S21-S28. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.07.006>
- [5] Rao, K. V., Brahmabhatt, M., & Norenberg, M. D. (2013). Microglia contribute to ammonia-induced astrocyte swelling in culture. *Metabolic brain disease*, 28(2), 139-143. <https://doi.org/10.1007/s11011-012-9339-1>
- [6] Balzano, T., Dadsetan, S., Forteza, J., Cabrera-Pastor, A., Taoro-Gonzalez, L., Malaguera, M., Gil-Perotin, S., Cubas-Nuñez, L., Casanova, B., Castro-Quintas, A., Ponce-Mora, A., Arenas, Y. M., Leone, P., Erceg, S., Llansola, M., & Felipe, V. (2020). Chronic hyperammonemia induces peripheral inflammation that leads to cognitive impairment in rats: Reversed by anti-TNF- α treatment. *Journal of hepatology*, 73(3), 582-592. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.01.008>
- [7] Rangroo Thrane, V., Thrane, A. S., Chang, J., Alleluia, V., Nagelhus, E. A., & Nedergaard, M. (2012). Real-time analysis of microglial activation and motility in hepatic and hyperammonemic encephalopathy. *Neuroscience*, 220, 247-255. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.06.022>
- [8] Karababa, A., Groos-Sahr, K., Albrecht, U., Keitel, V., Shafiqullina, A., Görg, B., & Häussinger, D. (2017). Ammonia Attenuates LPS-Induced Upregulation of Pro-Inflammatory Cytokine mRNA in Co-Cultured Astrocytes and Microglia. *Neurochemical research*, 42(3), 737-749. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2060-4>
- [9] Stankov, A., Belakapaska-Srpanova, V., Bitoljanu, N., Cakar, L., Cakar, Z., & Rosoklija, G. (2015). Visualisation of Microglia with the use of Immunohistochemical Double Staining Method for CD-68 and Iba-1 of Cerebral Tissue Samples in Cases of Brain Contusions. *Prilozi*, 36(2), 141-145. <https://doi.org/10.1515/prilozi-2015-0062>
- [10] Masuda, T., Amann, L., Sankowski, R., Staszewski, O., Lenz, M., D'Errico, P., Snaidero, N., Costa Jordão, M. J., Böttcher, C., Kierdorf, K., Jung, S., Priller, J., Misgeld, T., Vlachos, A., Meyer-Luehmann, M., Knobloch, K. P., & Prinz, M. (2020). Novel Hexb-based tools for studying microglia in the CNS. *Nature immunology*, 21(7), 802-815. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0707-4>
- [11] De Biase, L. M., & Bonci, A. (2019). Region-Specific Phenotypes of Microglia: The Role of Local Regulatory Cues. *The Neuroscientist*, 25(4), 314-333. <https://doi.org/10.1177/1073858418800996>
- [12] Mitchell, R. A., Rathi, S., Dahiya, M., Zhu, J., Hussaini, T., & Yoshida, E. M. (2020). Public awareness of acetaminophen and risks of drug induced liver injury: Results of a large outpatient clinic survey. *PLoS one*, 15(3), e0229070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229070>
- [13] McGill, M. R., Williams, C. D., Xie, Y., Ramachandran, A., & Jaeschke, H. (2012). Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 264(3), 387-394. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.08.015>
- [14] Mossanen, J. C., & Tacke, F. (2015). Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Laboratory animals*, 49(1 Suppl), 30-36. <https://doi.org/10.1177/0023677215570992>
- [15] Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>

The role and diagnostic value of assessing the degree of coronary arteries calcification for predicting the severity of coronary heart disease

A. O. Nykonenko^{id} E,F, A. L. Makarenkov^{id} *A-D, H. S. Pidluzhnyi^{id} B,C,
A. M. Materukhin^{id} A,C,E

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

Coronary heart disease (CHD) is one of the leading mortality causes. According to the latest guidelines, coronary computed tomography angiography (CCTA) is one of the main non-invasive methods for diagnosis of CHD, which allows for quantification of stenosis severity and the characterization of stenotic lesions.

Aim of the study. It is to study the role, diagnostic value and dependence of coronary artery calcification on the degree of stenotic lesion of the coronary arteries and anthropometric parameters in patients with coronary artery disease examined by computed tomography.

Materials and methods. According to the purpose of the study, 46 patients were included: 32 (69.6 %) males and 14 (30.4 %) females. The average age of the patients was 59.0 ± 9.8 years, height – 172 ± 9 cm, weight – 85.6 ± 12.9 kg, body mass index (BMI) – 28.6 ± 4.13 , body surface area (BSA) – 1.98 ± 0.17 m². Demographic and clinical variables were analyzed using descriptive statistics. Independent t-tests were conducted between two groups of patients (Agatston index ≥ 400 and < 400), using $P < 0.05$ as a significant value. Pearson correlation coefficient was employed to determine independent coronary calcium predictors using $P < 0.05$ as a significant value.

Results. According to the results of the age analysis, significant differences were found among both groups of patients ($P = 0.02$). Notable differences in the number of affected coronary arteries between Groups 1 and 2 with an Agatston index ≥ 400 and < 400 ($P < 0.01$) were found. During the correlation analysis, a significant moderate positive correlation of the SYNTAX score level with Agatston index ($r = 0.69$, $P < 0.01$) was revealed.

Conclusions. The degree of coronary arteries calcification with Agatston score ≥ 400 is an independent predictor of severe coronary heart disease with multivessel lesion of the coronary arteries. The degree of calcification of coronary arteries with Agatston score ≥ 400 is more common in males. Height, weight, BMI and BSA do not influence the degree of coronary calcification arteries and Agatston score level.

Key words:

coronary artery, calcium score, coronary computed tomography angiography, SYNTAX score, coronary heart disease.

Pathologia

2021; 18 (1), 39-43

*E-mail:

angio.zp@gmail.com

Роль і діагностична цінність оцінювання ступеня кальцинозу коронарних артерій для прогнозування тяжкості ішемічної хвороби серця

A. O. Никоненко, А. Л. Макаренков, Г. С. Підлужний, А. М. Матерухін

Ішемічна хвороба серця (ІХС) – одна з провідних причин смертності. За останніми рекомендаціями, комп'ютерна томографічна коронарна ангіографія (КТКА) – один з основних неінвазивних методів діагностики ІХС, що дає змогу кількісно визначити ступінь тяжкості стенозу та схарактеризувати стенотичні ураження.

Мета роботи – вивчити роль, діагностичне значення та залежність кальцифікації коронарних артерій від ступеня стенозуючого ураження коронарних артерій та антропометричних показників у пацієнтів з ІХС, яких обстежили за допомогою комп'ютерної томографії.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 46 пацієнтів: 32 (69,6 %) чоловіків і 14 (30,4 %) жінок. Середній вік пацієнтів становив $59,0 \pm 9,8$ року, зріст – 172 ± 9 см, вага – $85,6 \pm 12,9$ кг, індекс маси тіла (ІМТ) – $28,6 \pm 4,13$, площа поверхні тіла (ППТ) – $1,98 \pm 0,17$ м². Демографічні та клінічні змінні аналізували за допомогою описової статистики. Незалежні t-тести виконали між двома групами пацієнтів (індекс Агатстона ≥ 400 та < 400), використовуючи $p < 0,05$ як значущу величину. Коефіцієнт кореляції Пірсона використовували для визначення незалежних предикторів коронарного кальцію з використанням $p < 0,05$ як вірогідного значення.

Результати. За результатами вікового аналізу встановили істотні відмінності між групами пацієнтів ($p = 0,02$). Не виявили вірогідну кореляцію віку з індексом Агатстона ($r = 0,22$, $p > 0,05$). Визначили вірогідні відмінності за кількістю уражених коронарних артерій між групами 1 і 2 з індексом Агатстона ≥ 400 та < 400 ($p < 0,01$). Під час кореляційного аналізу виявили суттєву помірну позитивну кореляцію рівня балів SYNTAX з індексом Агатстона ($r = 0,69$, $p < 0,01$).

Висновки. Ступінь кальцифікації коронарних артерій з оцінкою Агатстона ≥ 400 є незалежним предиктором тяжкої ішемічної хвороби серця з багатосудинним ураженням коронарного русла. Ступінь кальцифікації коронарних артерій з оцінкою Агатстона ≥ 400 частіше виявляли в чоловіків. Зріст, вага, ІМТ і ППТ не впливають на ступінь кальцифікації коронарних артерій, рівень балів Агатстона.

Ключові слова:

коронарна артерія, кальцієвий бал, ангіографія коронарної комп'ютерної томографії, шкала SYNTAX, ішемічна хвороба серця.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 1(51).
С. 39-43

Ключевые слова:

коронарная артерия, коронарная компьютерная томографическая ангиография, ишемическая болезнь сердца.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 39-43

Роль и диагностическая ценность оценки степени кальциноза коронарных артерий для прогнозирования тяжести ишемической болезни сердца

А. А. Никоненко, А. Л. Макаренко, Г. С. Подлужный, А. Н. Матерухин

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – одна из ведущих причин смертности. Согласно последним рекомендациям, компьютерная томографическая коронарная ангиография (КТКА) является одним из основных неинвазивных методов диагностики ИБС, позволяет количественно определить степень тяжести стеноза и охарактеризовать стенотические поражения.

Цель работы – изучение роли, диагностического значения и зависимости кальцификации коронарных артерий от степени стенозирующего поражения коронарных артерий и антропометрических показателей у пациентов с ИБС, обследованных с помощью компьютерной томографии.

Материалы и методы. В исследование включены 46 пациентов: 32 (69,6 %) мужчины и 14 (30,4 %) женщин. Средний возраст пациентов составил $59,0 \pm 9,8$ года, рост – 172 ± 9 см, вес – $85,6 \pm 12,9$ кг, индекс массы тела (ИМТ) – $28,6 \pm 4,13$, площадь поверхности тела (ППТ) – $1,98 \pm 0,17$ м². Демографические и клинические переменные анализировали с помощью описательной статистики. Независимые t-тесты проводили между двумя группами пациентов (индекс Агатстона ≥ 400 и < 400), используя $p < 0,05$ как значимую величину. Коэффициент корреляции Пирсона использовали для определения независимых предикторов коронарного кальция с использованием $p < 0,05$ как достоверного значения.

Результаты. По результатам возрастного анализа установлены существенные различия между группами пациентов ($p = 0,02$). Однако достоверной корреляции возраста с индексом Агатстона не было ($r = 0,22$, $p > 0,05$). Обнаружены заметные различия в количестве пораженных коронарных артерий между группами 1 и 2 с индексом Агатстона ≥ 400 и < 400 ($p < 0,01$). В ходе корреляционного анализа отмечена значимая умеренная положительная корреляция уровня баллов SYNTAX с индексом Агатстона ($r = 0,69$, $p < 0,01$).

Выводы. Степень кальцификации коронарных артерий с оценкой Агатстона ≥ 400 – независимый предиктор тяжелой ишемической болезни сердца при многососудистом поражении коронарного русла. Степень кальцификации коронарных артерий с оценкой Агатстона ≥ 400 чаще определяют у мужчин. Рост, вес, ИМТ и ППТ не влияют на степень кальцификации коронарных артерий и уровень баллов Агатстона.

Coronary heart disease (CHD) is one of the leading mortality causes [1]. According to the latest guidelines, coronary computed tomography angiography (CCTA) is one of the main non-invasive methods for diagnosis of CHD, which allows for quantification of stenosis severity and the characterization of stenotic lesions [2].

A sufficient number of studies has shown that the severity of coronary artery (CA) lesions, assessed on the SYNTAX scale, allows to determine the prognosis associated with the risk of major adverse cardiovascular events (MACE). Further parameters defining the type of surgical intervention and periprocedural risks, taking into account complex lesions of CA, including bifurcation, total chronic occlusion, intraluminal thrombi, calcification and diffuse lesion [3,4].

The coronary artery calcium score (CACS) has predictive value for future coronary events [5,6], but its accuracy for prediction of obstructive coronary artery disease is rather weak. In contrast to CACS, CCTA is a non-invasive method for a more accurate qualitative and quantitative determination of coronary calcium, which has been verified as a lesion with a tomographic optical density of more than 130 Hounsfield units, with the area of ≥ 1 mm² [7,8]. The amount of coronary calcium detected by CCTA correlates with histologically determined atherosclerotic plaques and makes up to 20 % of their total amount [9]. Coronary artery calcium is a highly specific marker of atherosclerosis; it integrates all the risk factors throughout a person's life [10,11], however, the amount of non-calcified fibroatheroma can only be detected by CCTA and is missed by CACS. The correlation between the total coronary calcium score (CACS), measured with Agatston scoring system, and

the severity of coronary artery disease are contradictory, weak and unreliable [12,13].

Thus, the feasibility of using data on the degree of calcification of coronary arteries in cardiovascular risk stratification, along with traditional risk factors such as gender, age, smoking, lipid levels, diabetes mellitus and family history, requires further study.

Aim

It is to study the role, diagnostic value and dependence of coronary artery calcification on the degree of stenotic lesion of the coronary arteries and anthropometric parameters in patients with coronary artery disease examined by computed tomography.

Materials and methods

The data obtained from patients, who had undergone computed tomography (CT) screening of coronary arteries calcification and CCTA in the period between 2018–2019, were analyzed. The inclusion criteria were signing of informed consent, the presence of coronary heart disease, the presence of calcified atherosclerotic plaques in the coronary arteries walls. The exclusion criteria were the absence of coronary artery atherosclerosis as seen on computed tomography, and the presence of artefacts that compromised the interpretation of CCTA data (motion, pulse, respiratory ones).

According to the purpose of the study, 46 patients were included: 32 males (69.6 %) and 14 females (30.4 %). The average age of the patients was 59.0 ± 9.8 years, height – 172 ± 9 cm, weight – 85.6 ± 12.9 kg, body

Table 1. Quantitative estimation of calcium and stenotic lesions in the coronary artery

Value, units of measure	Group 1 (n = 23)	Group 2 (n = 23)	P-level
Males	20 (86.9 %)	12 (52.1 %)	0.03
Females	3 (13.1 %)	11 (47.9 %)	0.03
Weight, kg	87.00 ± 13.34	84.30 ± 13.01	0.49
Height, cm	171.56 ± 9.51	172.78 ± 8.85	0.65
Age, years	62 ± 7	55 ± 11	0.02
BSA, SI	1.99 ± 0.18	1.97 ± 0.17	0.75
BMI, kg/m ²	29.28 ± 3.9	27.93 ± 4.41	0.28
Agatston score (Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅])	1157.0 [751.8; 1411.0]	137.5 [74.0; 186.0]	<0.01
Number of affected coronary arteries (Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅])	3 [3; 3]	2 [1; 3]	<0.01
SYNTAX score (Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅])	26.0 [22.0; 31.0]	17.5 [12.0; 27.6]	< 0.01

Abbreviations: parametric data are displayed as mean ±SD. Counts are shown as n (%). **BMI**: body mass index; **BSA**: body surface area.

mass index (BMI) – 28.6 ± 4.13, body surface area (BSA) – 1.98 ± 0.17 m². 232 patients were excluded from the study.

Grounding on clinical and instrumental data, grade II angina was detected in 15 (32.61 %) patients, grade III angina – in 22 (47.83 %) patients, grade IV angina – in 6 (13.04 %) patients, unstable angina was detected in 3 (6.52 %) patients. 17 (36.96 %) patients reported to have had previous myocardial infarction. Stage I cardiac insufficiency was detected in 11 (23.91 %) patients, stage II cardiac insufficiency was detected in 35 (76.09 %) patients.

Computer tomography of the heart and coronary arteries was performed with multi-detector 64-pixel computer tomographic scanner Aquilion TSX 101A (Toshiba, Japan). The research was performed in ECG-synchronized mode, with a specific heart rate up to 60 beats per minute. At the first stage, for coronary artery calcium score (CACS) screening, low-dose step-by-step scanning protocol was employed, which was performed in craniocaudal direction from tracheal bifurcation level to diaphragm level, with partition thickness of 3 mm, without intravenous administration of contrast agent (native scanning). At the following stage, a standard MDCT-coronary angiography (CCTA) was performed with retrospective reconstruction of the raw data obtained. Postprocessing was performed with Vitrea workstation (Vital images).

Evaluation of coronary artery calcification from CACS scans was carried out by means of Calcium scoring CT software, which is a part of the software package for the workstation, in semiautomatic mode: the route of each artery was defined manually, whereas there was automatic calculation of coronary calcium score with Agatston scoring system, as well as of the volume of calcified atherosclerotic plaques.

The analysis of stenotic or occlusal lesion of coronary arteries was performed on CCTA datasets with the use of axial partitions, multiple planar and curvilinear reformations, and 3D reconstructions.

The coronary artery lesion index was determined using anatomical SYNTAX score (SYNTAX score) using an online calculator (<https://syntaxscore2020.com/>).

Demographic and clinical variables were analyzed using descriptive statistics. The Shapiro–Wilk test was used to determine if a data set is well-modeled by a normal distribution. The data set that was normally distributed presented as average and standard deviation (M ± m). Independent t-tests were conducted between two groups

of patients (Agatston index ≥400 and <400), using P < 0.05 as a significant value. In case of deviation from the normal distribution, data was presented as median and interquartile range (Me [Q₂₅; Q₇₅]) and Mann–Whitney U-test was used. Spearman's rank correlation coefficient was employed to determine independent coronary calcium predictors using P < 0.05 as a significant value. Analyzes were performed with Statistica 13.0 software package (StatSoft Inc., No. JPZ8041382130ARCN10-J).

Results

According to the purpose of the study and the results of CCTA, the patients were divided into 2 groups: Group 1 included patients with a pronounced degree of coronary arteries calcification and Agatston score level ≥400, and Group 2 comprised patients with moderate and minimal coronary arteries calcification with Agatston score level <400. The obtained data are presented in *Table 1*.

Thus, in both groups there was the same number of patients, while in Group 1 males significantly prevailed (P < 0.05), and in Group 2 there were no gender differences.

According to patients' average weight, height, BSA, and BMI, there were no significant differences between the groups; all patients were overweight.

According to the results of the age analysis, significant differences were found among both groups of patients (P = 0.02). However, there was no significant correlation of age with the Agatston index (r = 0.22, P > 0.05).

Notable differences in the number of affected coronary arteries between Groups 1 and 2 with an Agatston index ≥400 and <400 (P < 0.01) were found.

A significant positive correlation was revealed between the number of stenosed coronary arteries and the Agatston index (r = 0.52, P < 0.01) in both groups, which is shown in *Fig. 1*.

Considerable differences were found in Groups 1 and 2 when analyzing SYNTAX score level. So, SYNTAX score in patients of Group 1 was 29.08 ± 9.44, which corresponded to the indications for coronary artery bypass grafting and was associated with predictions of cardiac mortality and the risk of major adverse cardiovascular events ranging from 10.9 % to 12.0 % (against up to 23.4 % during percutaneous coronary intervention (PCI)). Whereas the SYNTAX score in patients of Group 2 was 14.39 ± 5.67, which corresponded to the indications for PCI and was associated with predictions of cardiac

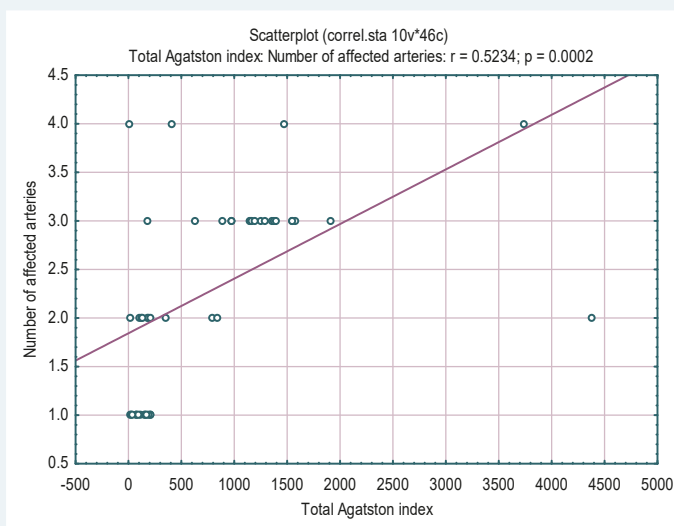


Fig. 1. Correlation of Agatston score level with the number of affected coronary arteries (n = 46).

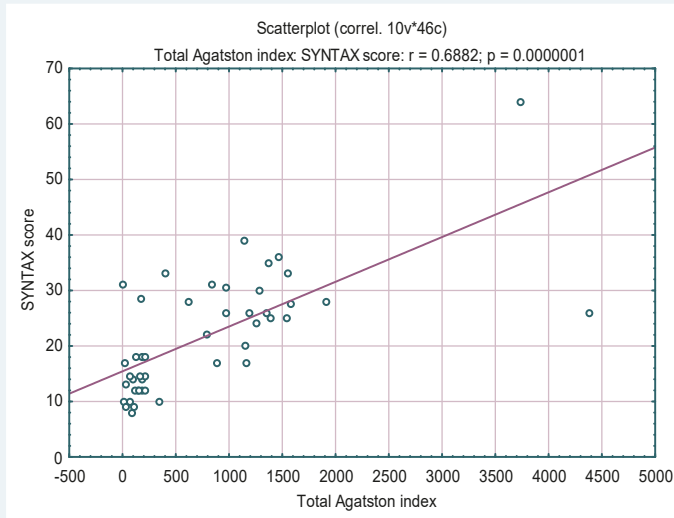


Fig. 2. Correlation of Agatston score level with SYNTAX score level.

mortality and the risk of major adverse cardiovascular events at 13.6 % [4]. During the correlation analysis, a significant moderate positive correlation (Fig. 2) of the SYNTAX score level with Agatston index ($r = 0.69$, $P < 0.01$) was revealed.

Discussion

Data on coronary artery calcification provided by CCTA have both diagnostic and prognostic information in addition to the conventional risk factors for coronary artery disease. The presence of calcium confirms coronary atherosclerosis and is associated with an increased risk of coronary events.

According to the data obtained, male patients are more susceptible to pronounced coronary arteries calcification (32 versus 14), with a greater tendency to multivessel lesion. This suggests a possibly more aggressive course of atherosclerosis in males, which is confirmed by the works of other authors [14].

In the course of data analysis, it was found that the degree of coronary calcification is higher in patients of older age groups ($P = 0.02$), which is explained by the progression of atherosclerosis, with a correlation in the number of affected coronary arteries and the complexity of their lesions, expressed in the estimation by SYNTAX score, which leads to higher risks of major adverse cardiovascular events.

The results of our study are comparable with previous reports that age and male gender are independently associated with coronary calcium levels. The correlation between coronary calcification and endothelial dysfunction has also been demonstrated, as well as with impaired myocardial perfusion in patients with angiographic intact coronary arteries [15–17]. Therefore, altered coronary blood flow in the presence of coronary calcification affects the development and formation of atherosclerotic plaques, which are the main determinants of the development of severe forms of coronary artery disease. Besides, coronary calcification is one of the predictors of obstructive coronary artery disease and has predictive value for future coronary events.

Generally, coronary calcium is limited to subintimal space and may occur nearly from the 20th year of a person's life. The calcification of atherosclerotic plaque increases with aging and atherosclerosis progression. Therefore, coronary calcium is a marker of coronary atherosclerosis [18]. Previous studies have examined the association of coronary artery disease with coronary calcium in patients with asymptomatic disease. The prognostic value of calcium screening and its independence from traditional risk factors was shown [18]. Consequently, it is suggested to use coronary calcium levels as a predictor of CHD [19,20]. There are also studies that have investigated the importance of coronary calcium for predicting the severity of coronary heart disease [21,22], but our results do not contradict the results of these studies, although different methods have been employed.

Conclusions

1. The degree of coronary arteries calcification with Agatston score ≥ 400 is an independent predictor of severe coronary heart disease with multivessel lesion of the coronary arteries.

2. The degree of calcification of coronary arteries with Agatston score ≥ 400 is more common in males.

3. Height, weight, BMI and BSA do not influence the degree of coronary calcification arteries and Agatston score level.

Prospects for further research. Further research may be focused on elucidating the genotype influence on Agatston score level.

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

Надійшла до редакції / Received: 02.02.2021
Після доопрацювання / Revised: 22.02.2021
Прийнято до друку / Accepted: 05.03.2021

Information about authors:

Nykonenko A. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-5720-2602](https://orcid.org/0000-0002-5720-2602)

Makarenkov A. L., PhD student of the Department of Hospital Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-2132-3776](https://orcid.org/0000-0003-2132-3776)

Pidluzhnyi H. S., Senior Laboratory Assistant of the Department of Hospital Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-1211-8148](https://orcid.org/0000-0003-1211-8148)

Materukhin A. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Hospital Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-2856-6703](https://orcid.org/0000-0003-2856-6703)

Відомості про авторів:

Никоненко А. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. госпітальної хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна. Макаренков А. Л., заочний аспірант каф. госпітальної хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна. Підлужний Г. С., старший лаборант каф. госпітальної хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна. Матерухін А. М., канд. мед. наук, доцент каф. госпітальної хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Никоненко А. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. госпитальной хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина. Макаренков А. Л., заочный аспирант каф. госпитальной хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина. Подлужный Г. С., старший лаборант каф. госпитальной хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина. Матерухин А. Н., канд. мед. наук, доцент каф. госпитальной хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

[1] Ministry of Health of Ukraine. (2016, September 23). *Unifikovanyi klinichniy protokol perynnnoi, vtrynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Stabila ishemichna khvoroba sertsia : Nakaz MOZ Ukrainy No. 152* [Unified clinical protocol of the primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized). Medical care stable ischemic heart disease (No. 152)]. http://mtd.dec.gov.ua/images/dodatki/2016_152_IHS/2016_152_YKPMI_IHS.pdf

[2] Knutti, J., Wijns, W., Saraste, A., Capodanno, D., Barbato, E., Funck-Brentano, C., Prescott, E., Storey, R. F., Deaton, C., Cuisset, T., Agewall, S., Dickstein, K., Edvardsson, T., Escaned, J., Gersh, B. J., Svtil, P., Gilard, M., Hasdai, D., Hatala, R., Mahfoud, F., ... ESC Scientific Document Group (2020). 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *European heart journal*, 41(3), 407-477. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz425>

[3] Ndrepepa, G., Tada, T., Fusaro, M., Cassese, S., King, L., Hadamitzky, M., Haase, H. U., Schömig, A., Kastrati, A., & Pache, J. (2012). Association of coronary atherosclerotic burden with clinical presentation and prognosis in patients with stable and unstable coronary artery disease. *Clinical research in cardiology*, 101(12), 1003-1011. <https://doi.org/10.1007/s00392-012-0490-9>

[4] Farooq, V., Serruys, P. W., Bourantas, C., Vranckx, P., Diletti, R., Garcia Garcia, H. M., Holmes, D. R., Kappetein, A. P., Mack, M., Feldman, T., Morice, M. C., Colombo, A., Morel, M. A., de Vries, T., van Es, G. A., Steyerberg, E. W., Dawkins, K. D., Mohr, F. W., James, S., & Stähle, E. (2012). Incidence and multivariable correlates of long-term mortality in patients treated with surgical or percutaneous revascularization in the synergy between percutaneous coronary intervention with taxus and cardiac surgery (SYNTAX) trial. *European heart journal*, 33(24), 3105-3113. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs367>

[5] Zimmermann, G. S., Rütger, T., Ziegler, F. V., Greif, M., Becker, C., & Becker, A. (2019). Predictive value of coronary calcifications for future cardiac events in asymptomatic patients: underestimation of risk in asymptomatic smokers. *The international journal of cardiovascular imaging*, 35(7), 1387-1393. <https://doi.org/10.1007/s10554-019-01571-3>

[6] Mehta, A., Pandey, A., Ayers, C. R., Khera, A., Sperling, L. S., Szklo, M. S., Gottesman, R. F., Budoff, M. J., Blaha, M. J., Blumenthal, R. S., Nasir, K.,

& Joshi, P. H. (2020). Predictive Value of Coronary Artery Calcium Score Categories for Coronary Events Versus Strokes: Impact of Sex and Race: MESA and DHS. *Circulation. Cardiovascular imaging*, 13(8), e010153. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.119.010153>

[7] Agatston, A. S., Janowitz, W. R., Hildner, F. J., Zusmer, N. R., Viamonte, M., Jr, & Detrano, R. (1990). Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *Journal of the American College of Cardiology*, 15(4), 827-832. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(90\)90282-t](https://doi.org/10.1016/0735-1097(90)90282-t)

[8] de Agustín, J. A., Gómez de Diego, J. J., Marcos-Alberca, P., Mahía, P., Rodrigo, J. L., Luaces, M., Núñez-Gil, I. J., Ferreiros, J., Bustos, A., Cabeza, B., García-Fernández, M. Á., Macaya, C., & Pérez de Isla, L. (2018). Impact of Calcium Score on Agreement Between Multidetector Computed Tomography and Invasive Coronary Angiography. *Revista española de cardiología*, 71(2), 105-109. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2017.04.012>

[9] Tay, S. Y., Chang, P. Y., Lao, W. T., Lin, Y. C., Chung, Y. H., & Chan, W. P. (2017). The proper use of coronary calcium score and coronary computed tomography angiography for screening asymptomatic patients with cardiovascular risk factors. *Scientific reports*, 7(1), 17653. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17655-w>

[10] Rozanski, A., & Berman, D. S. (2017). Coronary artery calcium scanning in symptomatic patients: Ready for use as a gatekeeper for further testing?. *Journal of nuclear cardiology*, 24(3), 835-838. <https://doi.org/10.1007/s12350-017-0794-2>

[11] Greenland, P., Blaha, M. J., Budoff, M. J., Erbel, R., & Watson, K. E. (2018). Coronary Calcium Score and Cardiovascular Risk. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(4), 434-447. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.027>

[12] Sandfort, V., & Bluemke, D. A. (2017). CT calcium scoring. History, current status and outlook. *Diagnostic and interventional imaging*, 98(1), 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.diii.2016.06.007>

[13] Malguria, N., Zimmerman, S., & Fishman, E. K. (2018). Coronary Artery Calcium Scoring: Current Status and Review of Literature. *Journal of computer assisted tomography*, 42(6), 887-897. <https://doi.org/10.1097/RCT.0000000000000825>

[14] Makaryus, A. N., Sison, C., Kohansieh, M., & Makaryus, J. N. (2015). Implications of Gender Difference in Coronary Calcification as Assessed by CT Coronary Angiography. *Clinical Medicine Insights. Cardiology*, 8(Suppl 4), 51-55. <https://doi.org/10.4137/CMC.S18764>

[15] Lee, S. J., Lee, I. K., & Jeon, J. H. (2020). Vascular Calcification-New Insights Into Its Mechanism. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2685. <https://doi.org/10.3390/ijms21082685>

[16] Lee, D. H., Youn, H. J., Jung, H. O., Chang, K., Choi, Y. S., & Jung, J. I. (2017). Coronary artery calcium score plays an important role for cardiovascular risk stratification in the statin benefit groups of asymptomatic individuals. *Lipids in health and disease*, 16(1), 172. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0560-0>

[17] Klüner, L. V., Oikonomou, E. K., & Antoniadou, C. (2021). Assessing Cardiovascular Risk by Using the Fat Attenuation Index in Coronary CT Angiography. *Radiology. Cardiothoracic imaging*, 3(1), e200563. <https://doi.org/10.1148/rct.2021200563>

[18] Garg, P. K., Jorgensen, N. W., McClelland, R. L., Leigh, J. A., Greenland, P., Blaha, M. J., Yoon, A. J., Wong, N. D., Yeboah, J., & Budoff, M. J. (2018). Use of coronary artery calcium testing to improve coronary heart disease risk assessment in a lung cancer screening population: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Journal of cardiovascular computed tomography*, 12(6), 493-499. <https://doi.org/10.1016/j.jcct.2018.10.001>

[19] Venkataraman, P., Stanton, T., Liew, D., Huynh, Q., Nicholls, S. J., Mitchell, G. K., Watts, G. F., Tonkin, A. M., & Marwick, T. H. (2020). Coronary artery calcium scoring in cardiovascular risk assessment of people with family histories of early onset coronary artery disease. *The Medical journal of Australia*, 213(4), 170-177. <https://doi.org/10.5694/mja2.50702>

[20] Choi, H. Y., Shin, S. J., Yoo, J., Lee, K., Song, D., Kim, Y. D., Nam, H. S., Lee, K. Y., Lee, H. S., Kim, D. J., & Heo, J. H. (2020). Coronary Calcium Score for the Prediction of Asymptomatic Coronary Artery Disease in Patients With Ischemic Stroke. *Frontiers in neurology*, 11, 206. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00206>

[21] Stähli, B. E., Bonassin, F., Goetti, R., Küest, S. M., Frank, M., Altwegg, L. A., Gebhard, C., Levis, A., Wischnesky, M. B., Lüscher, T. F., Alkadhhi, H., Kaufmann, P. A., & Maier, W. (2012). Coronary computed tomography angiography indicates complexity of percutaneous coronary interventions. *The Journal of invasive cardiology*, 24(5), 196-201.

[22] Schmermund, A., Denktas, A. E., Rumberger, J. A., Christian, T. F., Sheedy, P. F., 2nd, Bailey, K. R., & Schwartz, R. S. (1999). Independent and incremental value of coronary artery calcium for predicting the extent of angiographic coronary artery disease: comparison with cardiac risk factors and radionuclide perfusion imaging. *Journal of the American College of Cardiology*, 34(3), 777-786. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(99\)00265-x](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(99)00265-x)

Determining the probable role of ferroptosis in the course of inflammatory bacterial diseases of the respiratory organs in young children accompanied by the development of anemia of inflammation

H. O. Lezhenko*^{1,A,E,F}, O. Ye. Abaturov^{2,A,E,F}, A. O. Pogribna*^{1,B-D}

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Dnipro 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:

ferroptosis, acute inflammatory diseases, anemia, young children.

Pathologia
2021; 18 (1), 44-49

*E-mail:
a.pogribnaia@gmail.com

Aim. To determine the probable role of ferroptosis in the course of inflammatory bacterial diseases of the respiratory system in young children, accompanied by the development of anemia of inflammation.

Materials and methods. The study included 62 children (mean age 1.4 ± 0.4 years). The main group included 42 children with acute inflammatory bacterial diseases of the respiratory system, accompanied by anemia of inflammation: 29 children were diagnosed with bacterial bronchitis, 13 children – pneumonia. Determination of the severity of inflammatory diseases was determined by Acute Bronchitis Severity Score and Pediatric Respiratory Severity Score. At the time of participation in the study, all patients under observation had no signs of impaired iron metabolism, including iron deficiency anemia, in the anamnesis. The control group included 20 relatively healthy children. The content of caspase-7, caspase-9, ferritin, nitrotyrosine, phospholipase A_2 was determined by ELISA using commercial kits.

Results. We hypothesized the ineffectiveness of apoptosis in the course of bacterial inflammatory processes of the respiratory organs in young children, accompanied by the development of anemia of inflammation, and studied the probability of ferroptosis in these conditions. The obtained data indicated the presence of active oxidative stress in the main group patients. The strong direct correlation between the severity of inflammatory disease and the intensity of oxidative stress was revealed ($r = 0.7$, $P < 0.001$). A statistically significant increase in ferritin content in the main group compared with the control group was observed. There was a strong direct correlation between ferritin levels and the severity of bronchitis ($r = 0.82$, $P < 0.01$) and the severity of pneumonia ($r = 0.87$, $P < 0.01$). It was found that the upper quartile of serum ferritin levels (73.2 ± 4.6 ng/ml) was associated with severe disease. We assumed that restriction of access to iron for bacterial pathogens due to its sequestration in cells is a pathological process under certain conditions.

Conclusions. In the pathogenesis of bacterial inflammatory diseases of the respiratory organs in young children, accompanied by the development of anemia of inflammation, the processes of apoptosis did not dominate, but, obviously, necrotic phenomena did, including ferroptosis as one of the manifestations of necrosis. The protective mechanism aimed at limiting the access of bacterial pathogens to iron due to its sequestration in cells becomes pathological under certain conditions.

Ключові слова:

фероптоз, гострі запальні захворювання, анемія, діти раннього віку.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 44-49

Визначення ймовірної ролі фероптозу в перебігу запальних бактеріальних захворювань органів дихання в дітей раннього віку, що супроводжувалися розвитком анемії запалення

Г. О. Леженко, О. Є. Абатуров, А. О. Погрибна

Мета роботи – визначити ймовірну роль фероптозу в перебігу запальних бактеріальних захворювань органів дихання в дітей раннього віку, що супроводжувалися розвитком анемії запалення.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 62 дитини (середній вік – $1,4 \pm 0,4$ року). В основну групу включили 42 хворих на гострі запальні бактеріальні захворювання органів дихання, що супроводжувалися анемією запалення: у 29 дітей діагностували бактеріальний бронхіт, у 13 – пневмонію. Тяжкість перебігу запальних захворювань визначали за шкалами Acute Bronchitis Severity Score та Pediatric Respiratory Severity Score. На момент участі в дослідженні в усіх пацієнтів, які перебували під спостереженням, в анамнезі не було ознак порушення обміну заліза, зокрема залізодефіцитної анемії. Контрольна група – 20 умовно здорових дітей. Методом ІФА визначали вміст каспази-7, каспази-9, феритину, нітритиросину, фосфоліпази A_2 з використанням комерційних наборів.

Результати. Припустили неефективність апоптозу в перебігу бактеріальних запальних процесів органів дихання в дітей раннього віку, що супроводжувалися розвитком анемії запалення, та вивчали ймовірність розвитку фероптозу в цих умовах. Результати свідчили про наявність активного оксидативного стресу в пацієнтів основної групи. Визначили сильний прямий кореляційний зв'язок між тяжкістю запального захворювання та інтенсивністю оксидативного стресу ($r = 0,7$, $p < 0,001$). Спостерігали статистично значуще підвищення вмісту феритину в основній групі дослідження порівняно з групою контролю. Виявили сильний прямий зв'язок між рівнем феритину та тяжкістю перебігу бронхіту ($r = 0,82$, $p < 0,01$), тяжкістю перебігу пневмонії ($r = 0,87$, $p < 0,01$). З'ясували, що верхній кuartиль рівня феритину в сироватці крові ($73,2 \pm 4,6$ нг/мл) асоціювався з важким перебігом хвороби. Припустили, що захисний механізм, спрямований на обмеження доступу бактеріальних патогенів до заліза внаслідок його секвестрації у клітинах, передусім у макрофагах, за певних умов стає патологічним.

Висновки. У патогенезі бактеріальних запальних захворювань органів дихання в дітей раннього віку, що супроводжувалися розвитком анемії запалення, домінували не процеси апоптозу, а, вочевидь, некротичні явища, зокрема фероптоз як один із проявів некрозу. Захисний механізм, спрямований на обмеження доступу бактеріальних патогенів до заліза внаслідок його секвестрації у клітинах, за певних умов стає патологічним.

Определение вероятной роли ферроптоза в течении воспалительных бактериальных заболеваний органов дыхания у детей раннего возраста, которые сопровождалось развитием анемии воспаления

Г. А. Леженко, А. Е. Абатуров, А. А. Погребная

Цель работы – определить вероятную роль ферроптоза в течении воспалительных бактериальных заболеваний органов дыхания у детей раннего возраста, сопровождавшихся развитием анемии воспаления.

Материалы и методы. В исследование включили 62 ребенка (средний возраст – $1,4 \pm 0,4$ года). Основную группу составили 42 пациента с острыми воспалительными бактериальными заболеваниями органов дыхания, сопровождавшихся анемией воспаления: у 29 детей диагностирован бактериальный бронхит, у 13 – пневмония. Тяжесть течения воспалительных заболеваний определяли по шкалам Acute Bronchitis Severity Score и Pediatric Respiratory Severity Score. На момент участия в исследовании у всех пациентов в анамнезе не было признаков нарушения обмена железа, в том числе железодефицитной анемии. Контрольную группу составили 20 условно здоровых детей. Методом ИФА определяли содержание каспазы-7, каспазы-9, ферритина, нитротирозина, фосфолипазы A_2 с использованием коммерческих наборов.

Результаты. Предположили неэффективность апоптоза в течении бактериальных воспалительных процессов органов дыхания у детей раннего возраста, сопровождавшихся развитием анемии воспаления, изучали вероятность развития ферроптоза в данных условиях. Результаты указывали на наличие активного оксидативного стресса у пациентов основной группы. Отмечено наличие сильной прямой корреляционной связи между тяжестью воспалительного заболевания и интенсивностью оксидативного стресса ($r = 0,7, p < 0,001$). Наблюдала статистически значимое повышение содержания ферритина в основной группе исследования по сравнению с группой контроля. Отмечена сильная прямая связь между уровнем ферритина и тяжестью течения бронхита ($r = 0,82, p < 0,01$), тяжестью течения пневмонии ($r = 0,87, p < 0,01$). Установлено, что верхний квартиль уровня ферритина в сыворотке крови ($73,2 \pm 4,6$ нг/мл) ассоциировался с тяжелым течением заболевания. Предположили, что защитный механизм, направленный на ограничение доступа бактериальных патогенов к железу за счет его секвестрации в клетках, в первую очередь макрофагах, при определенных условиях становится патологическим.

Выводы. В патогенезе бактериальных воспалительных заболеваний органов дыхания у детей раннего возраста, сопровождавшихся развитием анемии воспаления, доминировали не процессы апоптоза, а, очевидно, некротические явления, в том числе ферроптоз как одно из проявлений некроза. Защитный механизм, направленный на ограничение доступа бактериальных патогенов к железу за счет его секвестрации в клетках, при определенных условиях становится патологическим.

Ключевые слова: ферроптоз, острые воспалительные заболевания, анемия, дети раннего возраста.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 44-49

Over the past two decades, researchers have studied various forms of regulated cell death. Previously, the understanding of cell death was limited to the concepts of apoptosis as a form of programmed death, and necrosis as accidental, unregulated cell death [1]. At least 12 different types are currently known, one of which is ferroptosis [2]. The term “ferroptosis” was first defined in 2012 when Dixon S.J. et al. reported the phenomenon of non-apoptotic regulated cell death [3]. Brent R. et al. identified ferroptosis as catalytic, dependent on Fe^{2+} , regulated necrosis associated with lipid peroxidation [4]. The leading inducers of ferroptosis are the active forms of oxygen formed during the Fenton reaction – the transformation of Fe^{2+} into Fe^{3+} . The Fenton reaction is characterized by the fact that excess iron, which is not bound to ferritin or ferroportin, generates a hydroxyl radical. The reactivity of the hydroxyl radical is extremely high: it is capable of oxidizing almost any substance in the cell, including DNA, proteins, lipids [5]. Under the action of the final products of lipid peroxidation, phospholipase A_2 is activated, the substrate of which is phospholipids of cell membranes. After their hydrolysis and cleavage from phospholipids of free fatty acids, mediators of a wide range of cellular processes of proinflammatory nature are formed. The formation

of products of hydrolysis of phospholipids, including phospholipase A_2 , contributes to the development of the inflammatory process [6]. Cell death caused solely by ferroptosis can be inhibited by iron chelators, lipophilic antioxidants and lipid peroxidation inhibitors, and correlates with the accumulation of markers of lipid peroxidation [4]. The process of accumulation of lipid peroxides, which plays a significant role in the implementation of ferroptosis, requires a significant supply of iron, so the import, export, turnover of iron affect the sensitivity of ferroptosis. Taking into account that anemia of inflammation (AI) has an iron-redistributive genesis, the study of the ferroptosis process becomes relevant for our study.

Aim

To determine the probable role of ferroptosis in the course of inflammatory bacterial diseases of the respiratory system in young children, accompanied by the AI development.

Materials and methods

The study groups included 62 young children (average 1.4 ± 0.4 years). Children who were under observa-

tion were examined in the Communal non-commercial enterprise “Zaporizhzhia Regional Clinical Children’s Hospital” of the Zaporizhzhia Regional Council (director – Yu. V. Borzenko). The main study group consisted of 42 children with acute inflammatory bacterial respiratory diseases. They were diagnosed with AI 4–5 days after the onset of the disease. In 29 children bacterial bronchitis developed, in 13 children – pneumonia. Acute Bronchitis Severity Score (ABSS) was used to determine the severity of acute bronchitis [7]: 17 (58.62 %) children had moderate to severe disease, 12 (41.38 %) children had severe one. Pediatric Respiratory Severity Score (PRESS) was used to determine the severity of acute pneumonia [8]: 5 (38.46 %) children had a moderate severe disease, 8 (61.54 %) children had a severe disease. At the time of participation in the study, all patients under observation had no signs of impaired iron metabolism, including iron deficiency anemia, in the anamnesis. The control group consisted of 20 relatively healthy children. The study groups were representative by age and sex.

The content of caspase-7, caspase-9, ferritin, nitrotyrosine, phospholipase A₂ was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits: RayBio Human CASP7 ELISA Kit (Ray-Biotech, U.S.A.); Human Caspase-9 ELISA Kit (Bender MedSystems GmbH, Austria); Ferritin ELISA (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany); Nitrotyrosine, ELISA (HucultBiotech); Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit For Phospholipase A2 Lipoprotein Associated (LpPLA2). The studies were carried out at the Training Medical and Laboratory Center (TMLC) of Zaporizhzhia State Medical University (the Head of TMLC – MD, PhD, DSc, Professor A. V. Abramov).

Mathematical analysis and statistical data processing were performed using a licensed software package Statistica for Windows 13.0 (JPZ8041382130ARCN10-J). Normality of the data was checked using the Shapiro–Wilk test. We used the method of correlation analysis with the Spearman’s correlation coefficient calculation. Measurement data of a non-normal distribution and non-linear dependence were expressed as a median and quartile (Me (Q₂₅; Q₇₅)). To assess the differences in indicators, the nonparametric Mann–Whitney U-test was calculated as a nonparametric analogue of the Student criterion. Differences were considered at a significance level of $P < 0.05$.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with 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 restrictions of the ethics approval originally obtained.

Results

In a previous study, we investigated the activity of apoptosis markers in children diagnosed with AI on the background of bacterial infections of the respiratory

tract. We observed the activation of the first link of apoptosis – initialization – due to an increase in the content of caspase-9 in the serum of children in the main study group compared with the control group. But the levels of caspase-7, which is a marker of activation of the effector link of the “caspase cascade”, did not have a statistically significant difference between the study groups. This allowed us to assume the ineffectiveness of apoptosis in the course of bacterial inflammatory processes of the respiratory organs in young children, accompanied by the development of AI, and to predict a high probability that its development will be dominated by necrosis or other cell death mechanisms [9]. Necrosis occurs without the involvement of the caspase system and can take various forms. Based on the obtained data, which indicated the activation of the protective mechanism that occurs against the background of bacterial inflammatory process, i.e. processes of active iron deposition, we suggested that in these conditions the development of one form of necrosis, namely ferroptosis, is possible.

This type of programmed cell death develops in the presence of a number of causes, and, above all, the activation of oxidative stress, and in the presence of iron ions, which acts as a catalyst for the process. During the development of anemia of inflammation, a significant amount of iron ions is sequestered in cells, primarily in macrophages [1]. Thus, the stages of work were divided into two areas: determining the activity of oxidative stress and the study of iron deposition and the activity of the inflammatory process.

The results of our earlier study [10] determined the activity of oxidative stress in a group of patients under observation by determining the content of nitrotyrosine and phospholipase A₂. The data obtained support our hypothesis about the role of ferroptosis during inflammatory bacterial processes in the respiratory organs, which were accompanied by the development of anemia of inflammation, in young children. According to the results of the comparisons, it was found that in children of the main group with diagnosed AI, the content of nitrotyrosine exceeded the control group by 5 times (62.5 (52.5; 80.0) ng/ml та 12.5 (8.2; 17.2) ng/ml, respectively, $P < 0.01$) (Fig. 1), phospholipase A₂ – by 2.7 times (6.1 (5.7; 6.4) ng/ml and 2.28 (2.0; 2.8) ng/ml, respectively, $P < 0.05$) (Fig. 2) [10].

A strong direct correlation between the severity of inflammatory disease and the intensity of oxidative stress was revealed ($r = 0.7$, $P < 0.001$).

Thus, the data obtained indicated the presence of active oxidative stress in young children with inflammatory bacterial diseases of the respiratory system, accompanied by the development of AI. It is known that phospholipase A₂ is not only a marker of oxidative stress. Lu B. et al. indicate that it synergistically enhances ferroptosis [11]. Taking into account the data on the threefold increase in the level of phospholipase A₂ in the main group, its role, in this case, acquires a new pathogenetic significance.

Nao Y. research convincingly indicates that the inducer of ferroptosis is the process of ferritinophagy [12]. Therefore, the next stage of the work was the study of ferritin content in children from the observation groups as a marker of accumulation and intracellular redox activity of iron. Today it is known that serum ferritin is an important

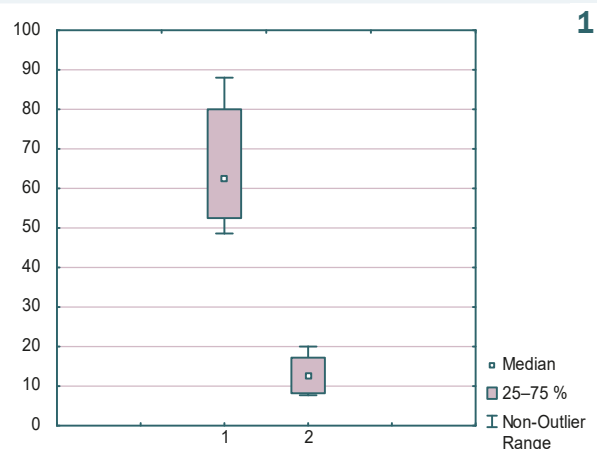


Fig. 1. The content of nitrotyrosine in the children under observation blood serum. **1:** the main group; **2:** the control group.

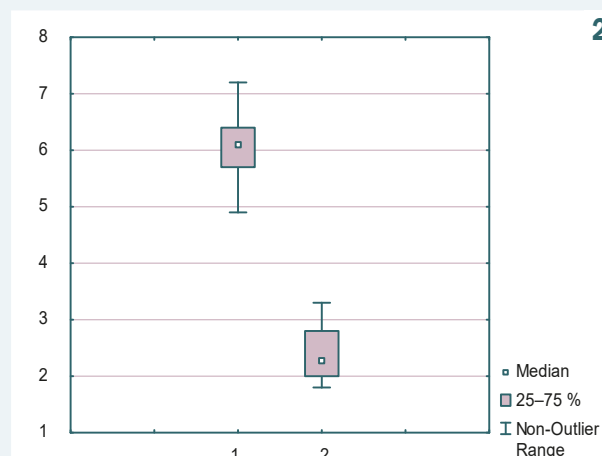


Fig. 2. The content of phospholipase A_2 in the children under observation blood serum. **1:** the main group; **2:** the control group.

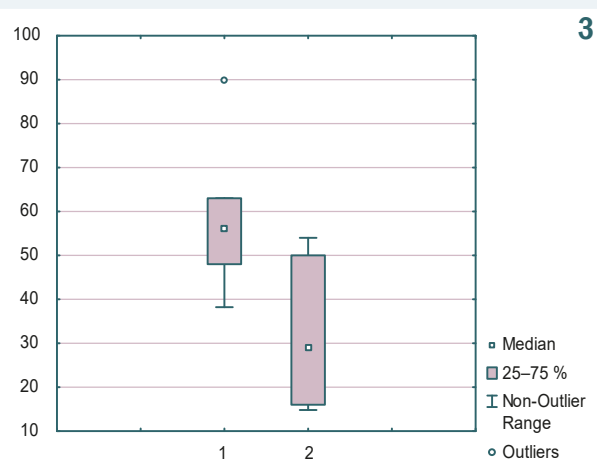


Fig. 3. The content of ferritin in the children under observation blood serum. **1:** the main group; **2:** the control group.

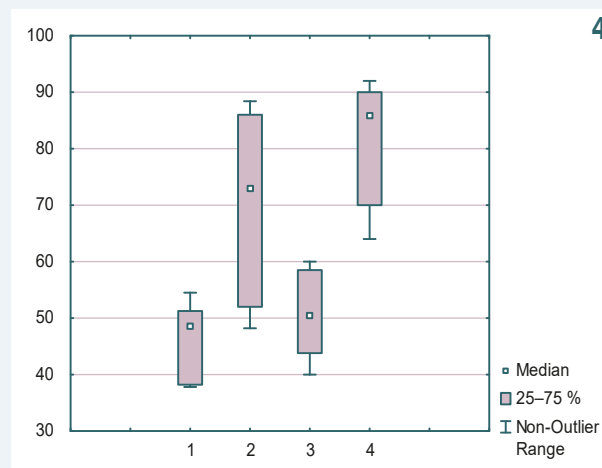


Fig. 4. The content of ferritin in the main group blood serum depending on the severity of the inflammatory disease. **1:** moderate bronchitis; **2:** severe bronchitis; **3:** moderate pneumonia; **4:** severe pneumonia.

indicator of iron stores in the body. Ferritin is released from the cells, forming a serum pool in proportion to its content in the tissues.

According to the results of the comparisons, as expected, we observed a statistically significant increase in ferritin content in the main study group compared with the control group (56.51 (48.0; 63.0) ng/ml and 29.0 (16.0; 50.0) ng/ml, respectively, $P < 0.05$) (Fig. 3) [13].

We found a strong direct correlation between the level of serum ferritin and the severity of bronchitis ($r = 0.82$, $P < 0.01$) and the severity of pneumonia ($r = 0.87$, $P < 0.01$). The same trend was observed when comparing ferritin levels in children with acute pneumonia: the content of ferritin in severe pneumonia was 1.7 times higher than its level in moderate pneumonia (50.5 (43.8; 58.5) ng/ml and 85.85 (70.0; 90.0) ng/ml, respectively, $P < 0.05$) (Fig. 4).

Under these conditions, we hypothesized that the protective mechanism aimed at limiting the access of bacterial pathogens to iron due to its sequestration in cells, and

primarily macrophages, under certain conditions becomes pathological. That is, due to the activation of ferroptosis processes there is suppression and the destruction of immune cells (T-lymphocytes) and macrophages, which is a pathogenetic link in the development and causes a severe course of the disease. The fact that serum ferritin is a marker of inflammation and directly correlates with the level of proinflammatory cytokines also supported this assumption [14]. We found that in young children with bacterial inflammatory diseases of the respiratory system accompanied by the development of AI, the calculated upper quartile of serum ferritin levels (73.2 ± 4.6 ng/ml) was associated with severe disease.

Discussion

Caspase-dependent apoptosis was the first regulated programmed form of cell death to be studied at the molecular level. We studied the activity of caspase-dependent apoptosis in young children with bacterial inflammatory

processes of the respiratory system, accompanied by the development of AI. But it was found that the process of apoptosis in this case was limited to the initialization phase. We have suggested that the inefficiency of apoptosis is due to the intensification of necrotic processes [9], namely the activation of ferroptosis processes. Determination of the activity of oxidative stress in children under supervision, namely this process initiates the start of ferroptosis, showed its high activity. On the other hand, the accumulation of iron in the cytoplasm is a protective mechanism that limits its use by bacterial pathogens for their growth. At the same time, an increase in iron levels can lead to increased oxidative stress and lipid peroxidation, which will provoke iron-dependent programmed cell death. We assume that in this case it is important to deposit iron with ferritin, which keeps its excess in redox inactive form and prevents oxidative damage to cells and tissues [15,16]. At present, the mechanisms of iron overload of cells in ferroptosis are not well studied [17], however, it was found that increased levels of cellular labile iron and degradation of ferritin induce its process [12]. But Lei Pengxu et al. suggested that ferritinophagy is an intermediate link in ferroptosis [18], therefore, the high content of ferritin in the study group of children with AI does not deny the role of ferroptosis in its development.

We investigated the increase in oxidative stress in proportion to the increase in the severity of inflammatory disease. Realizing that oxidative stress is a trigger for ferroptosis, we hypothesized a correlation between it and increasing disease severity. In favor of this assumption is that the morphological features of the course of ferroptosis can lead to a violation of the integrity of the tissue barrier, resulting in possible facilitation of the introduction of bacterial pathogens [19]. It was also investigated that an increase in iron levels is accompanied by an exacerbation of the inflammatory process and an increase in the bacterial load on the lung tissue [20]. Iron sequestration in macrophages has been closely linked to the function of ferroportin, which plays a role in increasing the production of interleukin-6, which is known to induce the production of hepcidin, which plays a special role in the development of AI. The above data demonstrate that the violation of adequate iron metabolism is a common feature of both the inflammatory process and ferroptosis, however, under certain conditions, the process that began as a compensatory is transformed into a pathological, uncontrollable, which contributes to the severe course of the disease.

Conclusions

1. In the pathogenesis of bacterial inflammatory diseases of the respiratory organs in young children, accompanied by the development of anemia of inflammation, the processes of apoptosis did not dominate, but, obviously, necrotic phenomena did, including ferroptosis as one of the manifestations of necrosis.

2. Restriction of access to iron for bacterial pathogens due to its sequestration in cells can be a pathological process under certain conditions.

3. It was found that in young children with bacterial inflammatory diseases of the respiratory system, accompanied by the development of AI, the calculated upper

quartile of serum ferritin levels (73.2 ± 4.6 ng/ml) was associated with severe disease.

Funding

The study was conducted by funding Zaporizhzhia State Medical University.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.02.2021

Після доопрацювання / Revised: 26.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 09.03.2021

Information about authors:

Lezhenko H. O., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Abaturov O. Ye., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Pediatrics 1 and Medical Genetics, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Pogribna A. O., PhD Student of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Леженко Г. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Абатуров О. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії 1 та медичної генетики, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

Погрібна А. О., PhD аспірант каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Леженко Г. А., профессор, д-р мед. наук, зав. каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Абатуров А. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. педиатрии 1 и медицинской генетики, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.

Погребная А. А., PhD аспирант каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- Lewerenz, J., Ates, G., Methner, A., Conrad, M., & Maher, P. (2018). Oxytosis/Ferroptosis-(Re-) Emerging Roles for Oxidative Stress-Dependent Non-apoptotic Cell Death in Diseases of the Central Nervous System. *Frontiers in neuroscience*, 12, 214. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00214>
- Toyokuni, S., Yanatori, I., Kong, Y., Zheng, H., Motooka, Y., & Jiang, L. (2020). Ferroptosis at the crossroads of infection, aging and cancer. *Cancer science*, 111(8), 2665-2671. <https://doi.org/10.1111/cas.14496>
- Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., Patel, D. N., Bauer, A. J., Cantley, A. M., Yang, W. S., Morrison, B., 3rd, & Stockwell, B. R. (2012). Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Stockwell, B. R., Friedmann Angeli, J. P., Bayir, H., Bush, A. I., Conrad, M., Dixon, S. J., Fulda, S., Gascón, S., Hatzios, S. K., Kagan, V. E., Noel, K., Jiang, X., Linkermann, A., Murphy, M. E., Overholzer, M., Oyagi, A., Pagnussat, G. C., Park, J., Ran, Q., Rosenfeld, C. S., ... Zhang, D. D. (2017). Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*, 171(2), 273-285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.021>
- Vartanian A. A. (2017). Metabolizm zheleza, ferroptoz, rak [Iron metabolism, ferroptosis and cancer]. *Russian Journal of Biotherapy*, 16(3), 14-20. [in Russian]. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2017-16-3-14-2020>

- [6] Ishutina, N. A. (2013). Aktivnost' fosfolipazy A2 i sostoyanie protsessov perekisnogo okisleniya lipidov v perifericheskoi krovi u beremennykh s herpes-virusnoi infektsiei [Activity phospholipase A2 and state of processes of peroxide oxidation of lipids in the peripheric blood at pregnant with the herpes-virus infection contamination]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, (2), 12-14. [in Russian].
- [7] Mwachari, C., Nduba, V., Nguti, R., Park, D. R., Sanguli, L., & Cohen, C. R. (2007). Validation of a new clinical scoring system for acute bronchitis. *The international journal of tuberculosis and lung disease*, 11(11), 1253-1259.
- [8] Miyaji, Y., Sugai, K., Nozawa, A., Kobayashi, M., Niwa, S., Tsukagoshi, H., Kozawa, K., Noda, M., Kimura, H. & Mori, M. (2015). Pediatric Respiratory Severity Score (PRESS) for Respiratory Tract Infections in Children. *Austin Virol and Retrovirology*, 2(1), 1009.
- [9] Lezhenko, H. O., Abramov, A. V., & Pohribna, A. O. (2019). The content of apoptosis mediators in children with anemia of inflammation acquired on the background of acute bacterial diseases of respiratory organs. *Pathologia*, 16(2), 177-181. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.2.177112>
- [10] Lezhenko, H. O., Abramov, A. V., Pohribna, A. O. (2019). Pathogenetic role of nitrosative and oxidative stress in the development of anemia of inflammation in young children. *Zdorov'e rebenka*, 14(8), 8-12. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.14.8.2019.190837>
- [11] Kenny, E. M., Fidan, E., Yang, Q., Anthony-muthu, T. S., New, L. A., Meyer, E. A., Wang, H., Kochanek, P. M., Dixon, C. E., Kagan, V. E., & Bayir, H. (2019). Ferroptosis Contributes to Neuronal Death and Functional Outcome After Traumatic Brain Injury. *Critical care medicine*, 47(3), 410-418. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003555>
- [12] Yan, N., & Zhang, J. (2020). Iron Metabolism, Ferroptosis, and the Links With Alzheimer's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 13, 1443. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01443>
- [13] Lezhenko, H. O., & Pogribna, A. O. (2020). The role of hepcidin in the pathogenetic mechanisms of anemia of inflammation development in young children with acute inflammatory bacterial diseases of the respiratory system. *Zaporozhye Medical Journal*, 22(4), 473-478. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.4.208356>
- [14] Reznik, N. L. (2018). Ferroptoz [Ferroptosis]. *Khimiya i zhizn'*, (10), 12-16. [in Russian].
- [15] Theil E. C. (2013). Ferritin: the protein nanocage and iron biomineral in health and in disease. *Inorganic chemistry*, 52(21), 12223-12233. <https://doi.org/10.1021/ic400484n>
- [16] Lal, A. (2020). Iron in Health and Disease: An Update. *Indian journal of pediatrics*, 87(1), 58-65. <https://doi.org/10.1007/s12098-019-03054-8>
- [17] Quiles Del Rey, M., & Mancias, J. D. (2019). NCOA4-Mediated Ferritinophagy: A Potential Link to Neurodegeneration. *Frontiers in neuroscience*, 13, 238. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00238>
- [18] Lei, P., Bai, T., & Sun, Y. (2019). Mechanisms of Ferroptosis and Relations With Regulated Cell Death: A Review. *Frontiers in physiology*, 10, 139. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00139>
- [19] Mao, H., Zhao, Y., Li, H., & Lei, L. (2020). Ferroptosis as an emerging target in inflammatory diseases. *Progress in biophysics and molecular biology*, 155, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.04.001>
- [20] Amaral, E. P., Costa, D. L., Namasivayam, S., Riteau, N., Kamenyeva, O., Mittereder, L., Mayer-Barber, K. D., Andrade, B. B., & Sher, A. (2019). A major role for ferroptosis in *Mycobacterium tuberculosis*-induced cell death and tissue necrosis. *The Journal of experimental medicine*, 216(3), 556-570. <https://doi.org/10.1084/jem.20181776>

Зміни матриксних металопротеїназ та їхніх інгібіторів у сльозах і сироватці крові хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт під впливом антигерпетичних антитіл і німесулід

П. Г. Пантелєєв  *1,2,A,B,C, І. С. Гайдаш  1,D,E,F

¹ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна, ²КНП «Севєродонецька міська багатопрофільна лікарня» СМР, 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: інфекційний кератокон'юнктивіт, матриксні металопротеїнази, інгібітори матриксних металопротеїназ, імуноглобулін, німесулід, герпетичний кератит.

Патологія. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 50-57

*E-mail: panpavel@ua.fm

Мета роботи – вивчити зміни матриксних металопротеїназ, їхніх тканинних інгібіторів у сльозах і сироватці крові хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт під впливом антигерпетичних антитіл і німесулід.

Матеріали та методи. Обстежили 65 дорослих хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт (ГКК), викликаний вірусом простого герпесу 1 типу (ВПГ-1). Етіологічний діагноз ГКК підтверджено полімеразною ланцюговою реакцією. Контрольна група – 32 пацієнти, які отримували базисне лікування ацикловіром та інтерфероном в уражене око. В основну групу залучили 33 хворих, які додатково до базисної терапії отримували антигерпетичний імуноглобулін і німесулід; імуноглобулін вводили внутрішньом'язово та інстальювали в уражене око, німесулід призначали внутрішньо. Група референтної норми – 38 практично здорових дорослих.

У сльозовій рідині та сироватці крові хворих матриксні металопротеїнази MMP-1, MMP-8 і MMP-9 та їхні тканинні інгібітори TIMP-1 і TIMP-2 визначали твердофазним імуноферментним методом. Результати дослідження опрацювали за критерієм Стюдента.

Результати. У гострій фазі ГКК відбувається збільшення концентрацій MMP-1, MMP-8, MMP-9 у сльозовій рідині ураженого ока та сироватці крові хворих, зменшення у сльозовій рідині концентрацій TIMP-1 і TIMP-2 при незмінених рівнях цих сполук у сироватці крові, порушується баланс у відповідних системах MMP/TIMP у бік MMP. У фазі реконвалесценції зміни концентрацій MMPs, TIMPs і баланс між ними суттєво зменшуються, але повна нормалізація не відбувається, що більш показово для сльозової рідини, ніж для сироватки крові реконвалесцентів.

Комбінація антигерпетичного імуноглобуліну та німесулід сприяє пригніченню надлишкової продукції MMP-1, MMP-8, MMP-9 у сльозовій рідині ураженого ока і в сироватці крові хворих, оптимізує рівень TIMP-1, TIMP-2 і баланс у відповідних системах MMPs/TIMPs.

Висновки. У гострій фазі ГКК переважає активність MMPs, у фазі реконвалесценції – активність TIMPs. Комбінація антигерпетичного імуноглобуліну та німесулід позитивно впливає на стан MMPs і TIMPs у сльозовій рідині ураженого ока і в сироватці крові хворих.

Key words: infectious keratoconjunctivitis, matrix metalloproteinases, matrix metalloproteinases inhibitors, immunoglobulin, nimesulide, herpetic keratitis.

Pathologia 2021; 18 (1), 50-57

Changes in matrix metalloproteinases and their inhibitors in the tears and blood serum of patients with herpetic keratoconjunctivitis under the influence of antiherpetic antibodies and nimesulide

P. H. Pantelieiev, I. S. Haidash

Aim. The aim of the study was to study changes in matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the tears and blood serum of patients with herpetic keratoconjunctivitis under the influence of antiherpetic antibodies and nimesulide.

Materials and methods. 65 adult patients with herpetic keratoconjunctivitis (HKC) caused by the herpes simplex virus type 1 (HSV-1) were examined. The etiological diagnosis of HKC was confirmed by polymerase chain reaction. The control group consisted of 32 patients who received basic treatment with acyclovir and interferon in the affected eye. The main group consisted of 33 patients who received antiherpetic immunoglobulin and nimesulide in addition to basic therapy. Immunoglobulin was administered intramuscularly and instilled into the affected eye, and nimesulide was administered orally. The control group consisted of 38 practically healthy adults.

Matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-8, and MMP-9 and their tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 were determined by solid-phase enzyme immunoassay in the tear fluid and blood serum of patients. The results of the study were processed according to the Student's criterion.

Results. With HKC in the affected eye, in the acute phase of the disease, there are: an increase in the concentrations of MMP-1, MMP-8, MMP-9, both in the tear fluid and in the blood serum of patients; a decrease in the concentrations of TIMP-1 and TIMP-2 in the tear fluid, with unchanged levels of these compounds in the blood serum; violation of the balance in the corresponding MMP/TIMP systems to the advantage of MMP. In the convalescence phase, these shifts in the concentrations of MMPs, TIMPs and the balance between them significantly decrease, but their complete normalization does not occur, which is most significant for tear fluid than for the blood serum of convalescents.

The combination of antiherpetic immunoglobulin and nimesulide helps to inhibit the excess production of MMP-1, MMP-8, MMP-9 in the lacrimal fluid of the causal eye and in the blood serum of patients, optimizes the level of TIMP-1, TIMP-2 and balance in the corresponding MMPs/TIMPs systems.

Conclusion. In the acute phase of SCC, MMPs activity prevails, in the convalescence phase, TIMPs activity prevails. The combination of antiherpetic immunoglobulin and nimesulide has a positive effect on the state of MMPs and TIMPs in the lacrimal fluid of the causal eye and in the blood serum of patients.

Изменения матричных металлопротеиназ и их ингибиторов в слезах и сыворотке крови больных герпетическим кератоконъюнктивитом под влиянием антигерпетических антител и нимесулида

П. Г. Пантелеев, И. С. Гайдаш

Цель работы – изучить изменения матричных металлопротеиназ, их тканевых ингибиторов в слезах и сыворотке крови больных герпетическим кератоконъюнктивитом под влиянием антигерпетических антител и нимесулида.

Материалы и методы. Обследовали 65 взрослых больных герпетическим кератоконъюнктивитом (ГКК), вызванным вирусом простого герпеса 1 типа (ВПГ-1). Этиологический диагноз ГКК подтвержден полимеразной цепной реакцией.

Контрольную группу составили 32 пациента, получавших базисное лечение ацикловиром и интерфероном местно в пораженный глаз. Основная группа – 33 пациента, которые дополнительно к базисной терапии получали антигерпетический иммуноглобулин и нимесулид; иммуноглобулин вводили внутримышечно и закапывали в пораженный глаз, нимесулид назначали внутрь. Группу референтной нормы составили 38 практически здоровых взрослых.

В слезной жидкости и сыворотке крови больных матричные металлопротеиназы MMP-1, MMP-8 и MMP-9 и их тканевые ингибиторы TIMP-1 и TIMP-2 определяли твердофазным иммуноферментным методом. Результаты исследования обрабатывали по критерию Стьюдента.

Результаты. В острой фазе ГКК происходит увеличение концентраций MMP-1, MMP-8, MMP-9 в слезной жидкости пораженного глаза и сыворотке крови больных, уменьшение в слезной жидкости концентраций TIMP-1 и TIMP-2 при неизменных уровнях этих соединений в сыворотке крови, нарушение баланса в соответствующих системах MMP/TIMP при преобладании MMP. В фазе реконвалесценции изменения концентраций MMPs, TIMPs и баланс между ними существенно уменьшаются, но полная нормализация не происходит, что более показательно для слезной жидкости, чем для сыворотки крови реконвалесцентов.

Комбинация антигерпетического иммуноглобулина и нимесулида способствует подавлению избыточной продукции MMP-1, MMP-8, MMP-9 в слезной жидкости пораженного глаза и в сыворотке крови больных, оптимизирует уровень TIMP-1, TIMP-2 и баланс в соответствующих системах MMPs/TIMPs.

Выводы. В острой фазе ГКК преобладает активность MMPs, а в фазе реконвалесценции – активность TIMPs. Комбинация антигерпетического иммуноглобулина и нимесулида положительно влияет на состояние MMPs и TIMPs в слезной жидкости пораженного глаза и в сыворотке крови больных.

Ключевые слова: инфекционный кератоконъюнктивит, матричные металлопротеиназы, ингибиторы матричных металлопротеиназ, иммуноглобулин, нимесулид, герпетический кератит.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 50-57

Офтальмогерпес – складна патологія через чималу поширеність і схильність до хронічного рецидивного перебігу [1–4]. Сучасна захворюваність на герпесвірусні кератокон'юнктивіти (ГКК) становить 11 % у структурі герпесвірусної очної патології [2–5].

Ураження кератокон'юнктиви органа зору можуть викликати різні види герпесвірусів: віруси герпесу людини 1 і 2 типів, а також герпес-зостер [2–6]. Ці види герпесвірусів мають специфічні біологічні властивості й відмінності, що позначається на клінічному перебігу хвороби та зумовлює особливості в патогенезі хвороби [7–9]. Важливим є вивчення патогенезу герпетичного кератокон'юнктивіту в хворих з етіологічно однаковою патологією.

Герпесвірусна репродукція, що відбувається всередині клітин рогівки та епітелію кон'юнктиви ока, супроводжується запаленням в уражених тканинах і деструкцією власне клітин і внутрішньоклітинних органел, унаслідок чого відбувається вивільнення метаболітів запальної реакції та інтрацелюлярних ферментів, які збагачують слезову рідину ураженого ока [10,11].

У деструкції клітин кератокон'юнктиви ока можуть брати участь матричні металлопротеїнази (MMP), ак-

тивність яких регулюється відповідними тканинними інгібіторами матричних протеїназ (TIMP) [12,13].

Матричні металлопротеїнази – сімейство цинк-залежних ендопептидаз, які беруть участь у деградації різних білків позаклітинного матриксу. MMP секретуються багатьма клітинами, включаючи фібробласти, гладком'язові клітини судинної стінки, лейкоцити. MMP викликають деградацію білків, як-от колаген та еластин, можуть впливати на функцію ендотеліальних клітин, міграцію клітин, проліферацію, сигналізацію Ca²⁺ тощо. MMP відіграють важливу роль у ремоделюванні тканин під час різних фізіологічних процесів, як-от ангіогенез, ембріогенез, морфогенез і відновлення, а також при патологічних станах. MMP відіграють важливу роль в інфільтрації лейкоцитів і запаленні тканин. MMP регулюються TIMP, а співвідношення MMP/TIMP часто визначає ступінь деградації білка елементарних цитоплазматичних мембран і ремоделювання тканин [12–16]. Члени сімейства матричних металлопротеїназ впливають на запалення багатьма способами, жодна окрема MMP не може бути однозначно позначена як «хороша» або «погана» під час оцінювання запалення [17]. MMP не тільки відповідальні за пряму деграда-

цію молекул екстрацелюлярного матриксу, але і є ключовими модуляторами кардинальних біоактивних факторів [18,19].

Недостатньо вивчено стан матриксних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сльозовій рідині та сироватці крові при ГКК, що викликані вірусом простого герпесу 1 типу (ВПГ-1). Не з'ясовано вплив антигенспецифічних імуноглобулінів у комбінації з німесулідом на систему матриксних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів.

Лікування ГКК – складна проблема, оскільки ВПГ-1 здатний викликати довичну латентну інфекцію в людини-господаря шляхом проникнення вірусного генома в ядра клітин-мішеней [20]. Латентна ВПГ-1-інфекція зумовлює загострення та рецидивний перебіг ГКК [21].

Сучасні методи протівірусної терапії спрямовані на реплікацію вірусу для зменшення тривалості хвороби, полегшення її тяжкості та зниження кількості рецидивів. У лікуванні хворих на ГКК використовують протівірусні пероральні препарати валацикловір, ацикловір, місцевий трифтортимідин або комбіновані пероральні та місцеві протівірусні препарати [22]. За даними В. Seitz, A. Neiligenhaus [23], коли виникають тяжкі рецидиви герпетичного кератиту, доцільне системне введення ацикловіру (2 × 400 мг/добу) протягом не менше одного року. Виявили, що ВПГ-1 набуває нечутливості до ацикловіру [24–26]. За даними [27,28], очні краплі трифлуридину, мазь ацикловіру, гель ганцикловіру та пероральний ацикловір залишаються основними терапевтичними агентами. В окремих складних випадках герпетичного кератиту застосовують комбінацію протівірусних препаратів і топічних стероїдів [29].

Особливості метаболічного й імунного статусів хворих на ГКК [10,30] зумовлюють необхідність розроблення патогенетично обґрунтованого способу лікування. Перспективний напрям досліджень – забезпечення високої концентрації специфічних антигерпесвірусних антитіл у вогнищі репродукції герпесвірусів, а також блокування ланцюгів продукції цитокінів, що посилюють запалення, деструкцію тканин і клітин. Такі функції може виконувати комбінація антигерпетичних антитіл і німесуліду.

До складу людського імуноглобуліну проти вірусу герпесу 1 типу входять антигерпетичні антитіла [31,32]. Цей біологічний препарат рекомендований для лікування хвороб, викликаних ВПГ-1: енцефаліту, енцефаломієліту, менінгоенцефаліту та інших клінічних варіантів ВПГ-1-інфекції. Антигерпетичні антитіла містять специфічні антитіла, передусім імуноглобуліни класу G, які взаємодіють з антигенами ВПГ-1 та інактивують цей вірус. У науковій літературі, що є у вільному доступі, інформація про використання антигерпетичних антитіл у лікуванні хворих на ГКК відсутня.

З групи нестероїдних протизапальних препаратів привертає увагу препарат із класу сульфонамідів, активною речовиною якого є німесулід [33], селективний інгібітор циклооксигенази-2, яка відповідає за синтез простагландинів. Німесулід характеризується проти-запальною, анальгезувальною та жарознижувальною діями. У доступній фаховій літературі не виявили інформації щодо використання комбінації німесуліду

й антигерпетичних антитіл у комплексному лікуванні хворих на ГКК.

Мета роботи

Вивчити зміни матриксних металопротеїназ, їхніх тканинних інгібіторів у сльозах і сироватці крові хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт під впливом антигерпетичних антитіл і німесуліду.

Матеріали і методи дослідження

Досліджували сльозову рідину і сироватку крові 65 хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт, викликаний ВПГ-1. У дослідженні взяли участь 31 (47,7 %) жінка, 34 (52,3 %) чоловіки віком 24–54 роки (середній вік – $42,7 \pm 2,1$ року). У 57 (87,7 %) хворих діагностували ураження одного ока, у 8 (12,3 %) пацієнтів – обох очей. Усі обстежені мали ГКК середнього ступеня важкості. Хворі скаржились на біль, почервоніння ока, зниження гостроти зору, світлобоязнь. Об'єктивно: незначні слизуваті виділення в оці, гіперемія кон'юнктиви, дрібні фолікули з прозорим вмістом на кон'юнктиві повік та очного яблука, рогівкова ін'єкція, набряк строми рогівки, лінійне ураження рогівки, що нагадує гілку дерева, дрібні фолікули епітелію, які забарвлюються флюоресцеїном, передня камера середньої глибини, райдужка не змінена за кольором і рисунком, реакція зіниці на світло пряма та співдружна, кришталик і склоподібне тіло прозорі, зниження гостроти зору до 0,3–0,1.

Етіологічний діагноз ГКК підтверджено полімерною ланцюговою реакцією (ПЛР), що позитивна до ВПГ-1. ПЛР до ВПГ-2 і *Herpes zoster* негативна. Матеріал для дослідження ПЛР – сльозова рідина з ураженого ока. За результатами імуноферментного аналізу не визначили маркери ВІЛ-інфекції в сироватці крові 65 пацієнтів.

Контрольна група – 32 пацієнти (15 (46,9 %) жінок і 17 (53,1 %) чоловіків, середній вік – $42,7 \pm 2,1$ року), які отримували базисне лікування згідно з протоколом надання медичної допомоги хворим на герпетичний кератит (наказ МОЗ України № 117 від 15.03.2007 р.): в уражене око закладали 3 % мазь ацикловіру тричі на добу, інстальювали інтерферон по 150–200 МО 4–6 разів на добу.

Основна група – 33 пацієнти (16 (48,5 %) жінок, 17 (51,5 %) чоловіків, середній вік – $41,2 \pm 2,1$ року), які додатково до базисної терапії отримували антигерпетичні антитіла та німесулід. Антигерпетичні антитіла вводили внутрішньом'язово по 4,5 мл тричі з інтервалом у 2 дні, а також інстальювали в уражене око по 1–2 краплі 6–8 разів на добу протягом 10–12 днів. Німесулід призначали внутрішньо в 100 мл води по 1 саше (100 мг німесуліду) двічі на добу протягом 5 днів після їди.

Група референтної норми – 38 практично здорових осіб (17 (44,7 %) жінок, 21 (55,3 %) чоловік, середній вік – $41,4 \pm 1,5$ року)

Усі обстежені підписали інформовану згоду на добровільну участь у дослідженні після детального роз'яснення його мети.

Матеріал для лабораторного дослідження – сльозова рідина та сироватка венозної крові, які до лабораторного дослідження зберігали у криостаті за $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для визначення матричних металопротеїназ MMP-1, MMP-8 і MMP-9 та їхніх тканинних інгібіторів TIMP-1 і TIMP-2 використовували тест-системи Human MMP-1 (total), Human MMP-8 (total), Human MMP-9 (total), (R&D Diagnostics Inc., USA), Human TIMP-1 (R&D Diagnostics Inc., USA), Human TIMP-2 (R&D Diagnostics Inc., USA). Визначали на автоматичному імуноферментному комплексі GBG Star Fax 2100 виробництва фірми Awareness Technology Inc. (USA). Усі дослідження виконували двічі: в гостру фазу ГКК (на 1–3 день перебування у стаціонарі) та у фазі реконвалесценції (під час виписування).

Дослідження виконали в імуноферментній 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 середні величини (M) і похибки середньої величини (m). Вірогідність відмінностей визначали з використанням критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$. Визначаючи зв'язки між показниками, обчислювали коефіцієнт Пірсона (r).

Результати

Результати дослідження стану матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сльозовій рідині хворих на ГКК у динаміці хвороби й залежно від способу лікування наведені в *таблиці 1*.

Встановлено, що в гострому періоді ГКК, викликаного ВПГ-1, у сльозовій рідині хворих порівняно з показниками референтної норми вміст MMP-1 збільшувався у 3,94 раза ($p < 0,001$), MMP-8 – у 3,89 раза ($p < 0,001$), MMP-9 – 3,98 раза ($p < 0,001$) при зменшенні вмісту TIMP-1 і TIMP-2 в 1,36 і в 1,45 раза відповідно ($p < 0,0001$) (*табл. 1*). Це супроводжувалось збільшенням співвідношень MMP-1/TIMP-1 у 5,44 раза, MMP-8/TIMP-1 у 5,29 раза, MMP-9/TIMP-1 у 5,42 раза, MMP-1/TIMP-2 у 5,72 раза, MMP-8/TIMP-2 у 5,65 раза, MMP-9/TIMP-2 у 5,76 раза ($p < 0,0001$ для всіх порівнянь). Статистично значущі розбіжності між показниками MMP, TIMP і співвідношень MMP/TIMP у контрольній та основній групах відсутні.

Під впливом базисної терапії в пацієнтів контрольної групи у фазі реконвалесценції виявили зменшення у сльозовій рідині концентрації MMP-1 у 2,2 раза, MMP-8 у 2,3 раза, MMP-9 у 2,1 раза, збільшення концентрацій TIMP-1 і TIMP-2,0 в 1,6 раза, покращення співвідношень у системах MMPs/TIMPs, але без повної нормалізації цих показників. Порівняно з референтною нормою залишкове підвищення вмісту MMP-1 становило 1,75 раза ($p < 0,001$), MMP-8 – 1,73 раза ($p < 0,001$), MMP-9 – 1,93 раза ($p < 0,001$), збільшення вмісту TIMP-1 становило 1,16 раза ($p = 0,05$), відбула-

ся нормалізація вмісту TIMP-2. Це супроводжувалось покращенням співвідношень MMP/TIMP, але повна нормалізація не відбулась. Співвідношення MMP-1/TIMP-1 залишалось збільшеним в 1,5 раза, MMP-8/TIMP-1 – в 1,48 раза, MMP-9/TIMP-1 – в 1,64 раза, MMP-1/TIMP-2 – в 1,59 раза, MMP-8/TIMP-2 – в 1,56 раза, MMP-9/TIMP-2 – в 1,73 раза ($p < 0,05$ для всіх наведених порівнянь).

У пацієнтів основної групи у фазі реконвалесценції зменшення в сльозовій рідині концентрації MMP-1 щодо вихідного рівня становило 3,4 раза, MMP-8 – 3,5 раза, MMP-9 – 2,9 раза, збільшення концентрацій TIMP-1 і TIMP-2 – 1,50 і 1,45 раза відповідно, що також супроводжувалось покращенням співвідношень у системах MMPs/TIMPs. Концентрації MMPs і TIMPs у сльозовій рідині пацієнтів основної групи відповідали референтній нормі та в періоді реконвалесценції були істотно меншими, ніж у пацієнтів контрольної групи. Порівняно з реконвалесцентами контрольної групи вміст MMP-1 у сльозовій рідині в реконвалесцентів основної групи був менше в 1,54 раза ($p < 0,05$), MMP-8 в 1,56 раза ($p < 0,05$), MMP-9 в 1,44 раза ($p < 0,05$), TIMP-1 в 1,07 раза ($p > 0,05$), TIMP-2 в 1,11 раза ($p > 0,05$). Ці зміни супроводжувалися нормалізацією співвідношень MMP-1/TIMP-1, MMP-8/TIMP-1, MMP-9/TIMP-1, MMP-1/TIMP-2 і MMP-8/TIMP-2, а співвідношення MMP-9/TIMP-2 залишково перевищувало референтну норму в 1,34 раза ($p < 0,05$), але було в 1,29 раза менше за показник контрольної групи ($p < 0,001$).

Результати дослідження стану матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові хворих на ГКК у динаміці хвороби та залежно від способу лікування наведені в *таблиці 2*.

У сироватці крові хворих у гострому періоді ГКК порівняно з показниками референтної норми вміст MMP-1 збільшувався в 1,20 раза ($p < 0,05$), MMP-8 – в 1,28 раза ($p < 0,05$), MMP-9 – 1,28 раза ($p < 0,05$), зміни вмісту TIMP-1 і TIMP-2 не вірогідні. Це супроводжувалось збільшенням співвідношень MMP-1/TIMP-1 в 1,15 раза ($p < 0,05$), MMP-8/TIMP-1 в 1,23 раза ($p < 0,01$), MMP-9/TIMP-1 в 1,23 раза ($p < 0,01$), MMP-1/TIMP-2 в 1,09 раза ($p > 0,05$), MMP-8/TIMP-2 і MMP-9/TIMP-2 в 1,16 раза ($p < 0,05$). У періоді реконвалесценції рівні матричних металопротеїназ і їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові реконвалесцентів нормалізувались, співвідношення між ними – у межах відповідних референтних норм.

За результатами дослідження, що наведені в *таблицях 1 і 2*, визначення стану матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сльозовій рідині хворих на ГКК є інформативнішим за таке в сироватці крові, бо найточніше показує виразність запального процесу в рогівці й кон'юнктиві ураженого ока.

Кореляційно-регресійний аналіз між показниками MMPs і TIMPs сльозової рідини та сироватки крові хворих на ГКК показав такі залежності: коефіцієнт Пірсона (r) для MMP-1 сльозової рідини та сироватки крові становив 0,256 ($p < 0,05$), для MMP-8 – $r = 0,437$ ($p < 0,02$), для MMP-9 – $r = 0,462$ ($p < 0,01$), для TIMP-1 – $r = 0,371$ ($p < 0,05$), для TIMP-2 – $r = 0,408$ ($p < 0,02$).

Таблиця 1. Вплив комбінації антигерпетичних антитіл і німесуліді на систему матриксних металопротеїназ і тканинних інгібіторів матриксних металопротеїназ у сльозовій рідині хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт у динаміці хвороби

Показники, одиниці вимірювання	Референтна норма, n = 38	Контрольна група хворих на ГКК, n = 32		Основна група хворих на ГКК, n = 33	
		Гостра фаза ГКК, n = 32	Фаза реконвалесценції, n = 32	Гостра фаза ГКК, n = 33	Фаза реконвалесценції, n = 33
MMP-1, нг/мл	3,6 ± 0,2	14,2 ± 0,7 [#]	6,3 ± 0,3 [#]	14,0 ± 0,8 [#]	4,1 ± 0,2*
MMP-8, нг/мл	5,5 ± 0,3	21,4 ± 1,1 [#]	9,5 ± 0,5 [#]	21,5 ± 1,0 [#]	6,1 ± 0,4*
MMP-9, нг/мл	4,3 ± 0,2	17,1 ± 0,9 [#]	8,2 ± 0,4 [#]	16,8 ± 0,9 [#]	5,7 ± 0,3*
TIMP-1, нг/мл	7,9 ± 0,4	5,8 ± 0,3 [#]	9,2 ± 0,5 [#]	5,7 ± 0,3 [#]	8,6 ± 0,4
TIMP-2, нг/мл	10,6 ± 0,5	7,3 ± 0,4 [#]	11,7 ± 0,6	7,2 ± 0,4 [#]	10,5 ± 0,5
MMP-1/TIMP-1, у. о.	0,456 ± 0,023	2,450 ± 0,120 [#]	0,685 ± 0,034 [#]	2,460 ± 0,120 [#]	0,477 ± 0,024*
MMP-8/TIMP-1, у. о.	0,696 ± 0,035	3,680 ± 0,180 [#]	1,030 ± 0,050 [#]	3,770 ± 0,190 [#]	0,709 ± 0,04*
MMP-9/TIMP-1, у. о.	0,544 ± 0,027	2,950 ± 0,150 [#]	0,891 ± 0,044 [#]	2,950 ± 0,140 [#]	0,663 ± 0,033*
MMP-1/TIMP-2, у. о.	0,339 ± 0,017	1,940 ± 0,100 [#]	0,538 ± 0,027 [#]	1,940 ± 0,110 [#]	0,390 ± 0,019*
MMP-8/TIMP-2, у. о.	0,519 ± 0,026	2,930 ± 0,150 [#]	0,812 ± 0,041 [#]	2,990 ± 0,150 [#]	0,581 ± 0,029*
MMP-9/TIMP-2, у. о.	0,406 ± 0,020	2,340 ± 0,120 [#]	0,701 ± 0,035 [#]	2,330 ± 0,110 [#]	0,543 ± 0,027**

*: р розраховано щодо показників контрольної групи, р < 0,001; #: р розраховано щодо референтної норми, р < 0,001.

Таблиця 2. Вплив комбінації антигерпетичних антитіл і німесуліді на систему матриксних металопротеїназ і тканинних інгібіторів матриксних металопротеїназ у сироватці крові у хворих на герпетичний кератокон'юнктивіт у динаміці хвороби

Показники, одиниці вимірювання	Референтна норма, n = 38	Контрольна група хворих на ГКК, n = 32		Основна група хворих на ГКК, n = 33	
		Гостра фаза ГКК, n = 32	Фаза реконвалесценції, n = 32	Гостра фаза ГКК, n = 33	Фаза реконвалесценції, n = 33
MMP-1, нг/мл	17,8 ± 0,9	21,4 ± 1,1 [#]	18,3 ± 0,9	21,3 ± 1,1 [#]	15,6 ± 0,8*
MMP-8, нг/мл	24,5 ± 1,3	31,3 ± 1,6 ^{##}	25,4 ± 1,3	31,2 ± 1,5 ^{##}	21,8 ± 1,1*
MMP-9, нг/мл	41,7 ± 2,1	53,2 ± 2,7 ^{##}	43,5 ± 2,2	53,1 ± 2,8 ^{##}	37,1 ± 1,9*
TIMP-1, нг/мл	72,2 ± 3,6	75,0 ± 3,8	71,6 ± 3,6	74,7 ± 3,6	66,8 ± 3,6
TIMP-2, нг/мл	56,9 ± 2,9	62,5 ± 3,1	58,2 ± 2,9	62,4 ± 3,0	53,4 ± 2,7
MMP-1/TIMP-1, у. о.	0,247 ± 0,012	0,285 ± 0,014 [#]	0,244 ± 0,012	0,285 ± 0,013 [#]	0,234 ± 0,011
MMP-8/TIMP-1, у. о.	0,339 ± 0,017	0,417 ± 0,021 ^{##}	0,355 ± 0,018	0,417 ± 0,020 ^{##}	0,326 ± 0,016
MMP-9/TIMP-1, у. о.	0,578 ± 0,029	0,709 ± 0,035 ^{##}	0,608 ± 0,030	0,711 ± 0,036 ^{##}	0,555 ± 0,028
MMP-1/TIMP-2, у. о.	0,313 ± 0,016	0,342 ± 0,017	0,314 ± 0,016	0,341 ± 0,017	0,292 ± 0,015
MMP-8/TIMP-2, у. о.	0,431 ± 0,021	0,501 ± 0,025 [#]	0,436 ± 0,022	0,500 ± 0,025 [#]	0,408 ± 0,020
MMP-9/TIMP-2, у. о.	0,732 ± 0,037	0,851 ± 0,043 [#]	0,747 ± 0,037	0,850 ± 0,042 [#]	0,695 ± 0,035

*: р розраховано щодо показників контрольної групи, р < 0,05; #: розраховано щодо референтної норми, р < 0,05; ##: розраховано щодо референтної норми, р < 0,01.

Використання комбінації протигерпетичних антитіл і німесуліді додатково до базисної терапії хворих на ГКК ВПГ-1 етіології позитивно впливало на клінічні показники. Тривалість запалення в ураженому оці пацієнтів контрольної групи становила 17,3 ± 0,9 доби, в основній групі – 12,6 ± 0,7 доби (зменшення в 1,37 раза, р < 0,001).

Повне відновлення гостроти зору в ураженому оці в основній групі відбувалось на 3–4 доби раніше, ніж у контрольній групі. Тривалість перебування на лікуванні у стаціонарі в пацієнтів основної групи була меншою, ніж у контрольній групі на 4,8 доби, тобто в 1,31 раза (15,7 ± 0,8 і 20,5 ± 1,0 доби відповідно, р < 0,001).

Обговорення

Отже, в гострому періоді ГКК, що викликаний ВПГ-1, запалення супроводжується деструкцією рогики, кон'юнктиви ока, в якому бере участь низка матриксних металопротеїназ (MMP-1, MMP-8, MMP-9) та їхніх тканинних інгібіторів (TIMP-1, TIMP-2). Про це свідчить збільшення концентрацій названих речовин у сльозовій рідині та сироватці крові хворих на ГКК. Результати дослідження збігаються з результатами досліджень інших науковців.

В експерименті на тваринах епітеліальний ВПГ-кератит супроводжувався збільшенням експресії та активності в рогиці MMP-2, MMP-8, MMP-9 і TIMP-2 [34]. Припустили, що MMPs, вироблені резидентними клітинами рогики, відіграють певну роль у ранньому епітеліальному кератиті та виразковому процесі в пізній фазі після інфікування рогики ВПГ-1, а співвідношення MMP і TIMP може бути важливим для перебігу некротичного ВПГ-кератиту, бо TIMP може брати участь у процесі ремоделювання.

Підвищення експресії MMP-2 і MMP-9 в рогиці мишей при експериментальному ВПГ-кератиті зареєстрували в досліджах [35,36]. Крім того, в дослідженні [36] отримали докази, що TNF-α стимулює активність MMP-2 і MMP-9 через активацію сигналізації FAK/ERK у клітинах епітелію рогики людини.

Активність MMPs чітко регулюється протеолітичною активацією та інгібуванням через їхні природні інгібітори – TIMPs, і дисбаланс активації та інгібування відповідальний за прогресування або інгібування низки захворювань [37].

Збільшену активність MMP-9 і MMP-13 визначили при кератоконусі [38], а збільшення активності MMP2 і MMP-9 – при дії на рогику сірчанним іпритом [39], MMP-2 і MMP-9 – у сльозовій рідині пацієнтів із плавленням рогики й ерозією рогики, що рецидивує [40].

Загалом MMPs і TIMPs відіграють важливу роль у патогенезі ГКК, що спричинений ВПГ-1.

Позитивний вплив комплексної терапії хворих на ГКК ВПГ-1 етіології, що включала комбінацію антигерпетичних антитіл і німесулідів, на стан MMPs і TIMPs, імовірно, зумовлений якісною інактивациєю ВПГ-1 і селективним інгібуванням циклооксигенази-2, яка відповідає за синтез простагландинів. Це зменшує ураження тканин рогівки і кон'юнктиви, блокує продукцію запальних цитокінів, позитивно впливає на метаболізм MMPs, TIMPs та їхній баланс.

Висновки

1. Запалення, що виникає при ГКК ВПГ-1 етіології в кератокон'юнктиві ураженого ока, в гострій фазі хвороби супроводжується збільшенням концентрацій матричних металопротеїназ MMP-1, MMP-8, MMP-9 у сльозовій рідині (у 3,94, 3,89 і 3,98 раза відповідно) та сироватці крові хворих (в 1,20 раза для MMP-1 і 1,28 раза для MMP-8 і MMP-9); зменшенням у сльозовій рідині концентрації TIMP-1 (в 1,36 раза) і TIMP-2 (в 1,45 раза) при майже не змінених рівнях цих сполук у сироватці крові; порушенням балансу у відповідних системах MMPs/TIMPс у бік MMPс у 5,0–5,8 раза.

2. Тільки базисна терапія у хворих на ГКК ВПГ-1 етіології спричинила зменшення в сльозовій рідині концентрації MMP-1 у 2,2 раза, MMP-8 у 2,3 раза, MMP-9 у 2,1 раза, збільшення концентрації TIMP-1 і TIMP-2 в 1,6 раза, покращення співвідношень у системах MMPs/TIMPс без повної нормалізації цих показників для сльозової рідини та повною нормалізацією в сироватці крові.

3. Використання комбінації протигерпетичного імуноглобуліну та німесулідів у складі базисного лікування хворих на ГКК ВПГ-1 етіології супроводжувалось зменшенням у сльозовій рідині концентрації MMP-1 у 3,4 раза, MMP-8 у 3,5 раза, MMP-9 у 2,9 раза, збільшенням концентрації TIMP-1 і TIMP-2 в 1,5 раза, покращенням співвідношень у системах MMPs/TIMPс при повній нормалізації всіх цих показників у сльозовій рідині та сироватці крові.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення віддалених результатів лікування.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 21.12.2020

Після доопрацювання / Revised: 01.03.2021

Прийнято до друку / Accepted: 09.03.2021

Відомості про авторів:

Пантелеєв П. Г., аспірант каф. нормальної фізіології та патофізіології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне; лікар-офтальмолог офтальмологічного відділення, КНП «Северодонецька міська багатопрофільна лікарня» СМР, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8744-0580](https://orcid.org/0000-0002-8744-0580)

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:

Pantelieiev P. H., Postgraduate Student of the Department of Normal Physiology and Pathophysiology, State Institution "Luhansk State Medical University", Rubizhne; Ophthalmologist of the Department of Ophthalmology, Non-Profit Enterprise "Severodonetsk city Multidisciplinary Hospital" Severodonetsk City Council, 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 Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

Сведения об авторах:

Пантелеев П. Г., аспирант каф. нормальной физиологии и патофизиологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное; врач-офтальмолог офтальмологического отделения, КНП «Северодонецкая городская многопрофильная больница» СГС, 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] Pflipsen M., Massaquoi M., Wolf S. Evaluation of the Painful Eye. *American family physician*. 2016. Vol. 93, Iss. 12. P. 991-998.
- [2] Сакович В. Н., Никитчина Т. С., Щербakov Б. Д. Герпетический кератит: этиология, патогенез, диагностика, лечение. *Офтальмологический журнал*. 2014. № 5. С. 70-80.
- [3] Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany / H. F. Rabenau, S. Buxbaum, W. Preiser et al. *Medical microbiology and immunology*. 2002. Vol. 190, Iss. 4. P. 153-160. <https://doi.org/10.1007/s00430-001-0102-1>
- [4] Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States / F. Xu, M. R. Sternberg, B. J. Kottiri et al. *JAMA*. 2006. Vol. 296, Iss. 8. P. 964-973. <https://doi.org/10.1001/jama.296.8.964>
- [5] Incidence Rate of Herpes Zoster Ophthalmicus: A Retrospective Cohort Study from 1994 through 2018 / C. L. Kong, R. R. Thompson, T. C. Porco et al. *Ophthalmology*. 2020. Vol. 127, Iss. 3. P. 324-330. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.10.001>
- [6] Davies E. C., Pavan-Langston D., Chodosh J. Herpes zoster ophthalmicus: declining age at presentation. *The British journal of ophthalmology*. 2016. Vol. 100, Iss. 3. P. 312-314. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307157>
- [7] Дрожжина Г. И., Гайдамака Т. Б. Особенности клинического течения и лечения кератита, вызванного вирусом Varicella Zoster. *Офтальмологический журнал*. 2012. № 1. С. 9-13.
- [8] Дрожжина Г. И., Гайдамака Т. Б., Величко Л. Н. Содержание интерферонов в слезной жидкости под влиянием индуктора интерферона у больных аденовирусным кератоконъюнктивитом. *Офтальмологический журнал*. 2013. № 5. С. 5-8.
- [9] Особенности состояния вегетативной нервной системы и ее влияние на регионарную гемодинамику глаза у больных с различным характером течения рецидивирующего герпетического кератита / Н. И. Храменко, В. С. Пономарчук, Т. Б. Гайдамака, Г. И. Дрожжина. *Офтальмологический журнал*. 2013. № 6. С. 5-12.
- [10] Гайдаш І. С., Пантелеєв П. Г. Активність перекисного окислення ліпидів і антиоксидантної системи в слезній рідині та сироватці крові хворих на офтальмогерпес. *Медицина сьогодні і завтра*. 2016. № 2-3. С. 68-70.
- [11] Взаимосвязь клинико-функциональных проявлений и патоморфологических изменений роговицы у больных герпетическим кератитом / Т. Б. Гайдамака, Г. И. Дрожжина, Н. И. Храменко, Н. Е. Думброва. *Офтальмологический журнал*. 2010. № 5. С. 12-16.
- [12] Van Doren S. R. Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin. *Matrix Biology*. 2015. Vol. 44-46. P. 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.005>
- [13] Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs) / С. Kapoor, S. Vaidya, V. Wadhwan et al. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2016. Vol. 12, Iss. 1. P. 28-35. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.157337>


- [14] Cui N., Hu M., Khalil R. A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Progress in molecular biology and translational science*. 2017. Vol. 147. P. 1-73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>
- [15] Nissinen L., Kähäri V. M. Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochimica et biophysica acta*. 2014. Vol. 1840, Iss. 8. P. 2571-2580. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.03.007>
- [16] Metalloproteinases in chronic and acute wounds: A systematic review and meta-analysis / A. Tardáguila-García, E. García-Morales, J. M. García-Alamino et al. *Wound repair and regeneration*. 2019. Vol. 27, Iss. 4. P. 415-420. <https://doi.org/10.1111/wrr.12717>
- [17] Fingleton B. Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*. 2017. Vol. 1864, Iss. 11, Pt. A. P. 2036-2042. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.05.010>
- [18] Arpino V., Brock M., Gill S. E. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix biology*. 2015. Vol. 44-46. P. 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.03.005>
- [19] Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – Novel strategies bring new prospects / M. Levin, Y. Udi, I. Solomonov, I. Sagi. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*. 2017. Vol. 1864, Iss. 11, Pt. A. P. 1927-1939. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>
- [20] Disturbed Yin-Yang balance: stress increases the susceptibility to primary and recurrent infections of herpes simplex virus type 1 / C. Yan, Z. Luo, W. Li et al. *Acta pharmaceutica Sinica. B*. 2020. Vol. 10, Iss. 3. P. 383-398. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.06.005>
- [21] Lobo A. M., Agelidis A. M., Shukla D. Pathogenesis of herpes simplex keratitis: The host cell response and ocular surface sequelae to infection and inflammation. *The ocular surface*. 2019. Vol. 17, Iss. 1. P. 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2018.10.002>
- [22] Clinical translation of recommendations from randomized trials for management of herpes simplex virus keratitis / M. Cabrera-Aguas, D. Robaei, P. McCluskey, S. Watson. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2018. Vol. 46, Iss. 9. P. 1008-1016. <https://doi.org/10.1111/ceo.13319>
- [23] Seitz B., Heiligenhaus A. The Chameleon of Herpetic keratitis – diagnosis and therapy [The Chameleon of Herpetic Keratitis – Diagnosis and Therapy]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2015. Vol. 232, Iss. 6. P. 745-753. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1545975>
- [24] Carter S. B., Cohen E. J. Development of Herpes simplex virus infectious epithelial keratitis during oral acyclovir therapy and response to topical antivirals. *Cornea*. 2016. Vol. 35, Iss. 5. P. 692-695. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000806>
- [25] Common and new acyclovir resistant herpes simplex virus-1 mutants causing bilateral recurrent herpetic keratitis in an immunocompetent patient / D. Pan, S. B. Kaye, M. Hopkins et al. *The Journal of infectious diseases*. 2014. Vol. 209, Iss. 3. P. 345-349. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit437>
- [26] Farooq A. V. Herpes simplex virus keratitis and resistance to acyclovir. *Cornea*. 2017. Vol. 36, Iss. 2. P. e4-e5. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001100>
- [27] Oral antivirals for preventing recurrent herpes simplex keratitis in people with corneal grafts / U. K. Bhatt, M. N. Abdul Karim, M. N. Prydal et al. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2016. Vol. 11, Iss. 11. CD007824. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007824.pub2>
- [28] Roozbahani M., Hammersmith K. M. Management of herpes simplex virus epithelial keratitis. *Current opinion in ophthalmology*. 2018. Vol. 29, Iss. 4. P. 360-364. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000483>
- [29] Unilateral posterior interstitial keratitis as a clinical presentation of Herpes simplex virus disease / A. V. Farooq, G. L. Paley, A. J. Lubniewski et al. *Cornea*. 2018. Vol. 37, Iss. 3. P. 375-378. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001499>
- [30] Гайдаш І. С., Пантелеєв П. Г. Цитокіновий профіль сыворотки крові і слізної рідини у больних офтальмогерпесом. *Медицина сьогодні і завтра*. 2017. № 3-4. С. 25-29.
- [31] Гаммалін іммуноглобулін людини проти вірусу герпеса простого I типу (Gammalinum immunoglobulinum humanum contra herpes virus simplex typus 1) // *Компендіум Лікарські препарати*. <https://compendium.com.ua/info/168223/gammalin-immunoglobulin-cheloveka-protiv-virusa-gerpesa-prostogo-i-tipa/>
- [32] Гаммалін (Гамалін) Іммуноглобулін проти вірусу герпеса простого I типу людини / Gammalin human immunoglobulin against herpes simplex virus type 1 // Лікиторія. URL: <https://likitoriya.com/goods/gammalin-immunoglobulin-protiv-virusa-gerpesa-prostogo.html>
- [33] Нимесил® (Nimesil) інструкція по використанню // *Vidal. Справочник лекарственных средств*. URL : https://www.vidal.ru/drugs/nimesil_2208
- [34] Matrix metalloproteinases (MMP-2 and 9) and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1 and 2) during the course of experimental necrotizing herpetic keratitis / Y. N. Yang, D. Bauer, S. Wasmuth et al. *Experimental Eye Research*. 2003. Vol. 77, Iss. 2. P. 227-237. [https://doi.org/10.1016/S0014-4835\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(03)00112-X)
- [35] Modulation of Corneal FAK/P13K/Akt Signaling Expression and of Metalloproteinase-2 and Metalloproteinase-9 during the Development of Herpes Simplex Keratitis / L. Ke, Y. Yang, J. W. Li et al. *BioMed research international*. 2019. Vol. 2019. P. 4143981. <https://doi.org/10.1155/2019/4143981>
- [36] TNF- α stimulates MMP-2 and MMP-9 activities in human corneal epithelial cells via the activation of FAK/ERK signaling / Y. N. Yang, F. Wang, W. Zhou et al. *Ophthalmic research*. 2012. Vol. 48, Iss. 4. P. 165-170. <https://doi.org/10.1159/000338819>
- [37] Raeeszadeh-Sarmazdeh M., Do L. D., Hritz B. G. Metalloproteinases and their inhibitors: potential for the development of new therapeutics. *Cells*. 2020. Vol. 9, Iss. 5. P. 1313. <https://doi.org/10.3390/cells9051313>
- [38] Keratoconus: an inflammatory disorder? / V. Galvis, T. Sherwin, F. Tello et al. *Eye*. 2015. Vol. 29, Iss. 7. P. 843-859. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.63>
- [39] The beneficial effects of doxycycline, an inhibitor of matrix metalloproteinases, on sulfur mustard-induced ocular pathologies depend on the injury stage / V. Horwitz, S. Dachir, M. Cohen et al. *Current eye research*. 2014. Vol. 39, Iss. 8. P. 803-812. <https://doi.org/10.3109/02713683.2013.874443>
- [40] Sakimoto T., Sawa M. Metalloproteinases in corneal diseases: degradation and processing. *Cornea*. 2012. Vol. 31, Suppl. 1. P. S50-S56. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e318269ccdd>

References

- [1] Pflipsen, M., Massaquoi, M., & Wolf, S. (2016). Evaluation of the Painful Eye. *American family physician*, 93(12), 991-998.
- [2] Sakovich, V. N., Nikitchina, T. S., & Shcherbakov, B. D. (2014). Gerpeticheskii keratit: etiologiya, patogenez, diagnostika, lechenie [Herpetic keratitis: etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment]. *Oftal'mologicheskii zhurnal*, (5), 70-80. [in Russian].
- [3] Rabenau, H. F., Buxbaum, S., Preiser, W., Weber, B., & Doerr, H. W. (2002). Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany. *Medical microbiology and immunology*, 190(4), 153-160. <https://doi.org/10.1007/s00430-001-0102-1>
- [4] Xu, F., Sternberg, M. R., Kottiri, B. J., McQuillan, G. M., Lee, F. K., Nahmias, A. J., Berman, S. M., & Markowitz, L. E. (2006). Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*, 296(8), 964-973. <https://doi.org/10.1001/jama.296.8.964>
- [5] Kong, C. L., Thompson, R. R., Porco, T. C., Kim, E., & Acharya, N. R. (2020). Incidence Rate of Herpes Zoster Ophthalmicus: A Retrospective Cohort Study from 1994 through 2018. *Ophthalmology*, 127(3), 324-330. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.10.001>
- [6] Davies, E. C., Pavan-Langston, D., & Chodosh, J. (2016). Herpes zoster ophthalmicus: declining age at presentation. *The British journal of ophthalmology*, 100(3), 312-314. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307157>
- [7] Drozhzhina G. I., Gaidamaka T. B. (2012). Osobennosti klinicheskogo techeniya i lecheniya keratita, vyzvanogo virusom Varicellazoster [The peculiarities of the clinical course and treatment of herpes zoster keratitis]. *Oftal'mologicheskii zhurnal*, (1), 9-13. [in Russian].
- [8] Drozhzhina, G. I., Gaidamaka, T. B., & Velichko, L. N. (2013). Soderzhanie interferonov v slезnoy zhidkosti pod vliyaniem induktora interferona u bol'nykh adenovirnyum keratokon'yunktivitom [A content of interferons in the tear fluid under the influence of the interferon inducer in patients with adenoviral keratoconjunctivitis]. *Oftal'mologicheskii zhurnal*, (5), 5-8. [in Russian].
- [9] Khramenko, N. I., Ponomarchuk, V. S., Gajdamaka, T. B., & Drozhzhina, G. I. (2013). Osobennosti sostoyaniya vegetativnoy nervnoy sistemy i ee vliyaniye na regionarnuyu gemodinamiku glaza u bol'nykh s razlichnym kharakterom techeniya retsidiviruyushchego gerpeticheskogo keratita [Peculiarities of the condition of the vegetative nervous system and its influence on the eye regional hemodynamics in patients with various character of recurrent herpetic keratitis course]. *Oftal'mologicheskii zhurnal*, (6), 5-12. [in Russian].
- [10] Gaydash, I. S., & Panteliev, P. G. (2016). Aktivnost' perekisnogo oksileniya lipidov i antioksidantnoy sistemy v slезnoy zhidkosti i sыворотке крови bol'nyh oftal'mogerpesom [Activity of lipid peroxidation and antioxidant system in the tear fluid and serum of patients with ophthalmic herpes]. *Medytsyna sohodni i zavtra*, (2-3), 68-70. [in Russian].
- [11] Gaidamaka, T. B., Drozhzhina, G. I., Khramenko, N. I., & Dumbrova, N. E. (2010). Vzaimosvjaz' kliniko-funkcional'nyh pojavlenij i patomorfologicheskijh izmenenij rogovicy u bol'nyh gerpeticheskim keratitom [Interrelation of clinical and functional manifestations and pathomorphological changes of the cornea in patients with herpetic keratitis]. *Oftal'mologicheskii zhurnal*, (5), 12-16. [in Russian].
- [12] Van Doren S. R. (2015). Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin. *Matrix biology*, 44-46, 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.005>
- [13] Kapoor, C., Vaidya, S., Wadhwan, V., Hitesh, Kaur, G., & Pathak, A. (2016). Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs).

- Journal of cancer research and therapeutics*, 12(1), 28-35. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.157337>
- [14] Cui, N., Hu, M., & Khalil, R. A. (2017). Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Progress in molecular biology and translational science*, 147, 1-73. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>
- [15] Nissinen, L., & Kähäri, V. M. (2014). Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochimica et biophysica acta*, 1840(8), 2571-2580. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.03.007>
- [16] Tardáguila-García, A., García-Morales, E., García-Alamino, J. M., Álvaro-Afonso, F. J., Molines-Barroso, R. J., & Lázaro-Martínez, J. L. (2019). Metalloproteinases in chronic and acute wounds: A systematic review and meta-analysis. *Wound repair and regeneration*, 27(4), 415-420. <https://doi.org/10.1111/wrr.12717>
- [17] Fingleton B. (2017). Matrix metalloproteinases as regulators of inflammatory processes. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1864(11 Pt A), 2036-2042. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.05.010>
- [18] Arpino, V., Brock, M., & Gill, S. E. (2015). The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix biology*, 44-46, 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.03.005>
- [19] Levin, M., Udi, Y., Solomonov, I., & Sagi, I. (2017). Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – Novel strategies bring new prospects. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1864(11 Pt A), 1927-1939. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009>
- [20] Yan, C., Luo, Z., Li, W., Li, X., Dallmann, R., Kurihara, H., Li, Y. F., & He, R. R. (2020). Disturbed Yin-Yang balance: stress increases the susceptibility to primary and recurrent infections of herpes simplex virus type 1. *Acta pharmaceutica Sinica. B*, 10(3), 383-398. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.06.005>
- [21] Lobo, A. M., Agelidis, A. M., & Shukla, D. (2019). Pathogenesis of herpes simplex keratitis: The host cell response and ocular surface sequelae to infection and inflammation. *The ocular surface*, 17(1), 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2018.10.002>
- [22] Cabrera-Aguas, M., Robaei, D., McCluskey, P., & Watson, S. (2018). Clinical translation of recommendations from randomized trials for management of herpes simplex virus keratitis. *Clinical & experimental ophthalmology*, 46(9), 1008-1016. <https://doi.org/10.1111/ceo.13319>
- [23] Seitz, B., & Heiligenhaus, A. (2015). Das Chamäleon der Keratitis herpetischer Genese – Diagnose und Therapie [The Chameleon of Herpetic Keratitis – Diagnosis and Therapy]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 232(6), 745-753. [in German]. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1545975>
- [24] Carter, S. B., & Cohen, E. J. (2016). Development of Herpes Simplex Virus Infectious Epithelial Keratitis During Oral Acyclovir Therapy and Response to Topical Antivirals. *Cornea*, 35(5), 692-695. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000806>
- [25] Pan, D., Kaye, S. B., Hopkins, M., Kirwan, R., Hart, I. J., & Coen, D. M. (2014). Common and new acyclovir resistant herpes simplex virus-1 mutants causing bilateral recurrent herpetic keratitis in an immunocompetent patient. *The Journal of infectious diseases*, 209(3), 345-349. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit437>
- [26] Farooq A. V. (2017). Herpes Simplex Virus Keratitis and Resistance to Acyclovir. *Cornea*, 36(2), e4-e5. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001100>
- [27] Bhatt, U. K., Abdul Karim, M. N., Prydal, J. I., Maharajan, S. V., & Fares, U. (2016). Oral antivirals for preventing recurrent herpes simplex keratitis in people with corneal grafts. *The Cochrane database of systematic reviews*, 11(11), CD007824. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007824.pub2>
- [28] Roobahani, M., & Hammersmith, K. M. (2018). Management of herpes simplex virus epithelial keratitis. *Current opinion in ophthalmology*, 29(4), 360-364. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000483>
- [29] Farooq, A. V., Paley, G. L., Lubniewski, A. J., Gonzales, J. A., & Margolis, T. P. (2018). Unilateral Posterior Interstitial Keratitis as a Clinical Presentation of Herpes Simplex Virus Disease. *Cornea*, 37(3), 375-378. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001499>
- [30] Gaidash, I. S., & Panteleev, P. G. (2017). Tsitokinoviy profil' syvorotki krovi i sleznoi zhidkosti u bol'nykh oftal'mogerpesom [Cytokine profile of blood serum and tear fluid in patients with ophthalmoherpes]. *Medytsyna sohodni i zavtra*, (3-4), 25-29. [in Russian].
- [31] Morion. (n.d.). *Gammalin immunoglobulin cheloveka protiv virusa gerpesa prostogo 1 tipa* [Gammalinum immunoglobulinum humanum contra herpes virus simplex typus 1]. Compendium. Medicines. <https://compendium.com.ua/info/168223/gammalin-immunoglobulin-cheloveka-protiv-virusa-gerpesa-prostogo-i-tipa/>
- [32] Likitoriya. (n.d.). *Gammalin (Gamalin) Immunoglobulin protiv virusa gerpesa prostogo 1 tipa cheloveka* [Gammalin human immunoglobulin against herpes simplex virus type 1]. https://likitoriya.com/goods/gammalin-immunoglobulin_protiv_virusa_gerpesa_prostogo.html
- [33] Directory Vidal "Medicines in Russia". (n.d.). *Nimesil® (Nimesil) instruksiya po primeneniyu* [Nimesil® (Nimesil) instructions for use].
- Vidal. Directory of medicines.* [in Russian]. https://www.vidal.ru/drugs/nimesil_2208
- [34] Yang, Y. N., Bauer, D., Wasmuth, S., Steuhl, K. P., & Heiligenhaus, A. (2003). Matrix metalloproteinases (MMP-2 and 9) and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1 and 2) during the course of experimental necrotizing herpetic keratitis. *Experimental Eye Research*, 77(2), 227-237. [https://doi.org/10.1016/S0014-4835\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(03)00112-X)
- [35] Ke, L., Yang, Y., Li, J. W., Wang, B., Wang, Y., Yang, W., & Yan, J. (2019). Modulation of Corneal FAK/PI3K/Akt Signaling Expression and of Metalloproteinase-2 and Metalloproteinase-9 during the Development of Herpes Simplex Keratitis. *BioMed Research international*, 2019, 4143981. <https://doi.org/10.1155/2019/4143981>
- [36] Yang, Y. N., Wang, F., Zhou, W., Wu, Z. Q., & Xing, Y. Q. (2012). TNF- α stimulates MMP-2 and MMP-9 activities in human corneal epithelial cells via the activation of FAK/ERK signaling. *Ophthalmic research*, 48(4), 165-170. <https://doi.org/10.1159/000338819>
- [37] Raeeszadeh-Sarmazdeh, M., Do, L. D., & Hritz, B. G. (2020). Metalloproteinases and Their Inhibitors: Potential for the Development of New Therapeutics. *Cells*, 9(5), 1313. <https://doi.org/10.3390/cells9051313>
- [38] Galvis, V., Sherwin, T., Tello, A., Merayo, J., Barrera, R., & Acera, A. (2015). Keratoconus: an inflammatory disorder?. *Eye (London, England)*, 29(7), 843-859. <https://doi.org/10.1038/eye.2015.63>
- [39] Horwitz, V., Dachir, S., Cohen, M., Gutman, H., Cohen, L., Fishbine, E., Brandeis, R., Turetz, J., Amir, A., Gore, A., & Kadar, T. (2014). The beneficial effects of doxycycline, an inhibitor of matrix metalloproteinases, on sulfur mustard-induced ocular pathologies depend on the injury stage. *Current eye research*, 39(8), 803-812. <https://doi.org/10.3109/02713683.2013.874443>
- [40] Sakimoto, T., & Sawa, M. (2012). Metalloproteinases in corneal diseases: degradation and processing. *Cornea*, 31 Suppl 1, S50-S56. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e318269ccd0>

Зміни експресії NLRP3 інфламасоми та IL-1 β при розвитку індукованого оксазолоном коліту в щурів і на тлі введень симвастатину та антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 β

О. С. Жеребят'єв  *A,B,C,F, Н. М. Поліщук  D,E

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:

колiт, NLRP3
інфламасома, IL-1 β .

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 58-65

*E-mail:
a.zherebatiyev@gmail.com

Мета роботи – вивчити експресію мРНК інфламасоми NLRP3 і прозапального цитокіну IL-1 β у запаленій товстій кишці щурів з експериментальним оксазолоновим колітом і на тлі введень симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1.

Матеріали та методи. Експерименти виконали на самцях щурів лінії Wistar віком 8 місяців (маса тіла – 120–150 г). Зразки тканин отримували від щурів з експериментальним індукованим оксазолоном колітом (n = 20), щурів з індукованим оксазолоном колітом, яким вводили симвастатин (n = 20), щурів з індукованим оксазолоном колітом, яким вводили антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (n = 20), та контрольних тварин (n = 10). Клінічні ознаки коліту оцінювали за клінічним індексом активності захворювання за такими параметрами: втрата ваги, консистенція випорожнень, поведінка тварин. Для макроскопічного оцінювання розвитку коліту досліджували ділянки запалення та виразки у товстому кишечнику. Для гістологічного оцінювання уражень ділянки кишечника забарвлювали гематоксиліном та еозином, вивчали клітинні запальні інфільтрати, гіперплазію епітелію, виразки та втрату кишкових залоз. Експресію мРНК цитокіну IL-1 β і NLRP3 аналізували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу.

Результати. У тварин, яким вводили оксазолон, швидко розвинувся коліт, спостерігали втрату ваги та діарею, що досягла піку на другу добу після введення оксазолону та призвела до загибелі 40 % щурів на четверту добу. Гістологічне дослідження показало запальну інфільтрацію клітин, включаючи поліморфно-ядерні лейкоцити та множинні ерозивні ураження товстого кишечника. Встановили, що рівень експресії прозапального цитокіну IL-1 β підвищений у зразках товстої кишки щурів з оксазолоновим колітом. Експресія IL-1 β збільшується у 3,5 раза в запаленій товстій кишці порівняно з незапаленою тканиною. Введення симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 щурам із колітом призвело до зниження рівня експресії IL-1 β у зразках товстої кишки на 30 % і вдвічі. Вивчили також експресію NLRP3 у цих тканинах. Аналіз полімеразної ланцюгової реакції показав 71-разове підвищення експресії мРНК NLRP3 у досліджених зразках товстої кишки. Введення симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 щурам із колітом спричинило зниження рівня експресії мРНК NLRP3 у зразках товстої кишки у 2,5 і 3,0 раза.

Висновки. Рівні експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 інфламасоми підвищені в запаленому товстому кишечнику щурів з експериментальним оксазолоновим колітом. Введення симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на тлі розвитку коліту викликало зменшення рівнів експресії мРНК IL-1 β та NLRP3 у тканинах товстого кишечника. Виявлення аномальної експресії мРНК IL-1 β та NLRP3 може дати розуміння патогенезу хвороби Крона, а також допомогти визначити майбутні потенційні мішені терапевтичних стратегій у людей із запальними захворюваннями кишечника.

Key words:

colitis, NLRP3
protein,
inflammasomes,
IL-1 β .

Pathologia
2021; 18 (1), 58-65

Changes in expression of NLRP3 inflammasome and IL-1 β in the development of oxazolone-induced colitis in rats and on the background of administration of simvastatin and interleukin-1 β receptor antagonist

O. S. Zherebatiyev, N. M. Polishchuk

The aim. To study the expression of mRNA of the NLRP3 inflammasome and proinflammatory cytokine IL-1 β in the inflamed colon of rats with experimental oxazolone-induced colitis and against the background of the introduction of simvastatin and antagonist of interleukin-1 receptors.

Materials and methods. Experiments were carried out on male Wistar rats aged 8 months (body mass 120–150 g). Tissue samples were obtained from rats with experimental oxazolone-induced colitis (n = 20), rats with oxazolone-induced colitis treated with simvastatin (n = 20); rats with oxazolone-induced colitis treated with interleukin-1 receptor antagonist (n = 20) and control animals (n = 10). Clinical signs of colitis were evaluated by the clinical index of disease activity on the following parameters: weight loss, stool consistency and animal behavior. For macroscopic assessment of the development of colitis areas of inflammation and ulceration were investigated. For histological evaluation of lesions, sections of the intestine were stained with hematoxylin and eosin and cellular inflammatory infiltrates, epithelial hyperplasia, ulceration and loss of intestinal glands were studied. IL-1 β and NLRP3 inflammasome mRNA expression was analyzed by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction.

Results. Animals treated with oxazolone rapidly developed colitis marked by weight loss and diarrhea peaking by day 2 after oxazolone administration and leading to death of 40 % of the rats by day 4. The histological observation showed inflammatory

cell infiltration, including polymorphonuclear leukocytes and multiple erosive lesions in the large intestine. We determined that the expression level of the proinflammatory cytokine IL-1 β is increased in colon samples of rats with oxazolone-induced colitis. IL-1 β expression is increased 3.5-fold in inflamed colon compared to uninfamed tissue. Administration of simvastatin and an interleukin-1 receptor antagonist to rats with oxazolone-induced colitis resulted in a 30 % and 2-fold decrease expression of IL-1 β in colon samples. In addition, we examined NLRP3 expression in these tissues. RT-PCR analysis demonstrates a 71-fold increased expression of NLRP3 mRNA expression in colon samples tested. Administration of simvastatin and an interleukin-1 receptor antagonist to rats with oxazolone-induced colitis resulted in a 2.5- to 3.0-fold decrease expression of NLRP3 mRNA in colon samples.

Conclusions. IL-1 β and NLRP3 mRNA expression levels were elevated in the inflamed colon of rats with experimental oxazolone-induced colitis. Administration of simvastatin and an interleukin-1 receptor antagonist against the background of colitis caused a decrease in the expression levels of IL-1 β and NLRP3 mRNA in the tissues of the intestine. Detection of abnormal expression of IL-1 β and NLRP3 mRNA could provide insights into pathogenesis of Crohn's disease, and may help to identify future potential targets for therapeutic strategies in people with inflammatory bowel disease.

Изменения экспрессии NLRP3 инфламмосомы и IL-1 β при развитии индуцированного оксазолоном колита у крыс и на фоне введения симвастатина и антагониста рецепторов интерлейкина-1 β

A. С. Жеребятъев, Н. Н. Полищук

Цель работы – изучить экспрессию мРНК инфламмосомы NLRP3 и провоспалительного цитокина IL-1 β в толстой кишке крыс с экспериментальным оксазолоновым колитом и на фоне введения симвастатина и антагониста рецепторов интерлейкина-1.

Материалы и методы. Эксперимент провели на самцах крыс линии Wistar в возрасте 8 месяцев (масса тела – 120–150 г). Образцы тканей получали от крыс с экспериментальным индуцированным оксазолоном колитом (n = 20), крыс с индуцированным оксазолоном колитом, которым вводили симвастатин (n = 20), крыс с индуцированным оксазолоном колитом, которым вводили антагонист рецепторов интерлейкина-1 (n = 20), и контрольных животных (n = 10). Клинические признаки колита оценивали по клиническому индексу активности заболевания по таким параметрам: потеря веса, консистенция стула, поведение животных. Для макроскопической оценки развития колита исследовали участки воспаления и язвы в толстом кишечнике. Для гистологической оценки поражений участки кишечника окрашивали гематоксилином и эозином, изучали клеточные воспалительные инфильтраты, гиперплазию эпителия, язвы и потерю кишечных желез. Экспрессию мРНК цитокина IL-1 β и NLRP3 инфламмосомы анализировали с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

Результаты. У животных, которым вводили оксазолон, быстро развивался колит, отмечали потерю веса и диарею, которая достигла пика на вторые сутки после введения оксазолона и привела к гибели 40 % крыс на четвертые сутки. Гистологическое исследование показало воспалительную инфильтрацию клеток, включая полиморфно-ядерные лейкоциты и множественные эрозивные поражения толстого кишечника. Установили, что уровень экспрессии провоспалительного цитокина IL-1 β повышен в образцах толстой кишки крыс с оксазолоновым колитом. Экспрессия IL-1 β увеличивается в 3,5 раза в воспаленной толстой кишке по сравнению с невоспаленной тканью. Введение симвастатина и антагониста рецепторов интерлейкина-1 крысам с колитом привело к снижению уровня экспрессии IL-1 β в образцах толстой кишки на 30 % и в 2 раза. Кроме того, исследовали экспрессию NLRP3 в этих тканях. Анализ полимеразной цепной реакции показал 71-кратное повышение экспрессии мРНК NLRP3 в исследованных образцах толстой кишки. Введение симвастатина и антагониста рецепторов интерлейкина-1 крысам с колитом привело к снижению уровня экспрессии мРНК NLRP3 в образцах толстой кишки в 2,5 и 3,0 раза.

Выводы. Уровни экспрессии мРНК IL-1 β и NLRP3 инфламмосомы повышены в воспаленной толстой кишке крыс с экспериментальным оксазолоновым колитом. Введение симвастатина и антагониста рецепторов интерлейкина-1 на фоне развития колита вызвало уменьшение уровней экспрессии мРНК IL-1 β и NLRP3 в тканях толстого кишечника. Обнаружение аномальной экспрессии мРНК IL-1 β и NLRP3 может дать понимание патогенеза болезни Крона, а также помочь определить будущие потенциальные мишени терапевтических стратегий у людей с воспалительными заболеваниями кишечника.

Ключевые слова:
колит, NLRP3
инфламмосомы,
IL-1 β .

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 58-65

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) – хронічні, рецидивні захворювання, що виникають унаслідок хронічної дисрегуляції імунної системи слизової оболонки у шлунково-кишковому тракті. Основними типами ЗЗК є виразковий коліт і хвороба Крона. Патогенез ЗЗК до кінця не зрозумілий, але відомо, що в ньому задіяні генетичні й екологічні фактори.

Експериментальні моделі ілеїту та коліту в щурів розроблені для дослідження молекулярних і клітинних механізмів, що спричиняють виникнення ЗЗК, і ці моделі часто використовують для розроблення нових протизапальних препаратів [1]. Модель індукованого

оксазолоном коліту в щурів викликає запалення товстої кишки, що характеризується діареєю, кров'янистими випорожненнями, втратою ваги, гистологічною картиною запалення, утворенням виразок, які спостерігають під час ЗЗК у людини. Модель гострої запальної реакції, що викликана оксазолоном, корисна для вивчення ролі механізмів вродженого імунітету в запаленні кишечника.

Сімейство NLR (nucleotide-binding domain and leucine-rich repeat containing) включає групу рецепторів, що розпізнають молекулярні структури, пов'язані з патогенами. NOD2 і NLRP3 – два найкраще

вивчених рецептори NLR, і мутації цих рецепторів пов'язані з хворобою Крона. NOD2 може розпізнавати бактеріальну молекулу мураміддипептиду (MDP) й активує ядерний фактор-кВ (NF-кВ) для наступної індукції запальних шляхів [2]. Мутації гена NOD2 асоційовані з хворобою Крона. NLRP3, також відома як кріопірин, утворює інфламасому, в якій відбувається утворення з попередників про-IL-1 β і про-IL-18 їхніх активних форм. Мутації NLRP3 призводять до хронічних аутозапальних синдромів. Повідомляли, що деякі окремі нуклеотидні поліморфізми гена NLRP3 пов'язані з хворобою Крона [3]. Розуміння патофізіологічних механізмів запалення в кишечнику дає змогу адресно впливати на основні ланки патогенезу і не діяти на органи та системи, що не залучені в цей процес.

Як засіб фармакологічної корекції обрали симвастатин, що, крім зниження рівня холестерину, чинить різні плейотропні ефекти, зокрема імуномодельовальні та протизапальні. Дослідження, здійснені на тваринних моделях, свідчать: статини інгібують і гостре, і хронічне запалення холестерин-незалежним способом [4]. Підвищений рівень прозапальних цитокінів, включаючи IL-1, IL-6, IL-18 і фактор некрозу пухлини альфа (TNF α), виявляють при ЗЗК, він корелює з тяжкістю запалення. Оскільки дія IL-1 – універсальна відповідь організму на пошкодження, потенційно антагоніст рецепторів IL-1 можна використовувати для лікування захворювань, у патогенезі яких цей цитокін відіграє важливу роль, наприклад ЗЗК.

Нашу увагу привернув оригінальний рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1), мішенню якого є рецептори до цитокінів, як-от прозапальний IL-1 β . У фаховій літературі описано наявність в АРІЛ-1 потужних церебропротекторних, анксиолітичних, антидепресивних і ноотропних властивостей, фригопротекторної, протизапальної, хондропротекторної, кардіо-, нефро- та гепатопротекторної активностей, а також гіпоурикемічної та гіполіпідемічної дій [5,6]. Це експериментально обґрунтовує доцільність розширення показань до застосування АРІЛ-1, особливо при ЗЗК. Усе це підтверджує актуальність експериментального вивчення дії АРІЛ-1.

Мета роботи

Вивчити експресію мРНК інфламасоми NLRP3 і прозапального цитокіну IL-1 β у запаленій товстій кишці щурів з експериментальним оксазолоновим колітом і на тлі введень симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1.

Матеріали і методи дослідження

Восьмимісячних самців щурів лінії Wistar вагою 120–150 г на початку експерименту отримали з Інституту молекулярної біології та генетики НАН України (м. Київ), а потім розмістили індивідуально в кімнаті з контрольованою температурою (22 \pm 1 °C) з 12-годинним циклом світло-темрява, що починається о 8:00 ранку, та контрольованою вологістю (60–80 %). Їжа та вода були у вільному доступі тварин.

Усі експерименти на тваринах виконали згідно з міжнародними принципами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 18.03.1986) та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

Для макроскопічного спостереження товсту кишки розтинали в повздовжньому напрямі. Макроскопічні прояви запалення оцінювали, як описано в методиці спеціально для індукованого оксазолоном коліту [7].

Щурів поділили на експериментальні групи: 1 – контрольні тварини (10 щурів), яким інтраректально вводили 50 % розчин етанолу; 2 – тварини з індукованим оксазолоном колітом (20 щурів); 3 – тварини з індукованим оксазолоном колітом, яким вводили симвастатин (20 щурів); 4 група – тварини з індукованим оксазолоном колітом, яким вводили АРІЛ-1 (20 щурів).

Оксазолон (4-етоксиметилен-2-феніл-2-оксазолін-5-он) отримували від компанії Sigma-Aldrich (Сент-Луїс, Міссурі). Для попередньої сенсibilізації щурам голили ділянку шкіри живота розміром 2 \times 2 см і наносили 200 мкл 3 % розчину оксазолону в 100 % етанолі. Через 7 днів після сенсibilізації щурам у пряму кишку вводили 0,1 % розчин оксазолону в 50 % етанолі в дозі 1,5 мг/кг маси тіла за допомогою поліуретанового катетера. Щурів утримували в положенні головою вниз протягом 30 с, а потім повертали у клітки. Етанол використовують, щоб допомогти оксазолону пройти через епітеліальний бар'єр кишечника [8].

Симвастатин вводили внутрішньочеревно в дозі 20 мг/кг із розрахунку 5 мл/кг маси. Введення здійснювали один раз на добу через 24 години після моделювання патології протягом 5 днів. Субстанцію АРІЛ-1 отримали у формі розчину для ін'єкцій (50 мг/мл) від Державного науково-дослідного інституту особливо чистих біопрепаратів Федерального медико-біологічного агентства Росії «ДНДІ ОЧБ» (м. Санкт-Петербург, РФ) на час дослідження на підставі договорів про науково-технічне співробітництво. Субстанція АРІЛ-1 – ліофільно висушений білок ІЛ-1 β , який отримали за допомогою генно-інженерних технологій із бактерії *E. coli* TG1 (pTAC-hIL-1 β) і складається зі 153 амінокислот із молекулярною масою 17906 кДа. АРІЛ-1 розчиняли у фізіологічному розчині, щоб отримати 0,03 % розчин (0,6 мл АРІЛ-1 у 99,4 мл фізіологічного розчину) та вводили підшкірно в дозі 3 мг/кг із розрахунку 10 мл/кг маси, тобто одній тварині вагою 150 г вводили 1,5 мл розчину. Вибір доз для введення визначали на підставі експериментальних даних, що наведені в літературі з дослідження цього препарату у тварин [5,9]. Оскільки дія АРІЛ-1 є залежність «ефект – доза», то обрали низьку дозу препарату, коли АРІЛ-1 діє як селективний блокатор IL-1 β . Введення здійснювали один раз на добу через 24 години після моделювання патології протягом 5 днів.

Щурів евтаназували передозуванням ефіру через 6 днів після індукції коліту й видаляли тканини товстого кишечника. Після видалення тканини промивали холодним сольовим розчином, забуференим фосфатом і поміщали в розчин Буена на 4–5 годин. Після фіксації

зразки зневоднювали, інкубували у ксилолі, заливали в парафін, надалі – за стандартними гістологічними протоколами. РНК вилучали зі зрізів фіксованих у розчині Буена тканин завтовшки 15 мкм [10].

Клінічні ознаки коліту оцінювали, обраховуючи клінічний індекс активності захворювання (disease activity index – DAI) за такими параметрами: втрата маси тіла, консистенція випорожнень, поведінка тварин [11]. Для макроскопічного оцінювання розвитку коліту кишечник щурів розрізали в поздовжньому напрямі й досліджували, враховуючи ділянки запалення та утворення виразок [12]. Для гістологічного оцінювання уражень зрізи кишечника забарвлювали гематоксиліном, еозином і досліджували, враховуючи наявність клітинних запальних інфільтратів, епітеліальну гіперплазію, утворення виразок і втрату кишкових залоз.

Загальну РНК виділяли з тканини товстої кишки за допомогою Trizol RNA Prep 100 (Isogen, РФ) за інструкціями виробника, кількісно визначали та піддавали реакції полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР) у режимі реального часу. Для цього використовували систему CFX96™ (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Усі необхідні праймери розроблені з використанням програмного забезпечення для проектування Primer-BLAST (NIH, США), синтезовані фірмою Metabion (ФРН). ЗТ-ПЛР здійснювали за параметрами: після початкової денатурації протягом 10 хв при 95 °С виконували 45–50 циклів послідовних етапів денатурації при 95 °С протягом 15 с, віджиг праймерів при 64 °С протягом 1 хв, елонгація при 72 °С протягом 30 с. Результати нормалізували за допомогою ампліфікації з еталонними генами GAPDH (гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназа). Результат ПЛР-аналізу наведений як відносна нормалізована експресія цієї мРНК.

Усі експериментальні дані опрацьовані на персональному комп'ютері з використанням прикладних і статистичних програм: Excel з пакета MS Office 2010 (Microsoft Corp., США), Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J), GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної (M), її дисперсії та помилки середньої (m). Порівнюючи дані, використовували параметричний t-критерій Стюдента та непараметричний U-критерій Манна-Вітні, після цього визначали вірогідність різниці вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. Статистичний аналіз даних ЗТ-ПЛР виконали за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ (Bio-Rad, США) Для вираження відносного рівня експресії генів використовували порівняльний Ct метод (ΔΔCt метод) [13].

Результати

У тварин, яким інтраректально вводили оксазолон, швидко розвивається коліт, який супроводжується втратою маси тіла, діареєю та високим DAI, а також призводить до загибелі 40 % щурів на четвертий день захворювання (DAI – 9,1 бала). (рис. 1).

У тварин, яким вводили оксазолон, швидко розвивався коліт, спостерігали втрату ваги та діарею, що досягла піку до другого дня після введення оксазолону та призвела до загибелі 40 % щурів до четвертого

дня. Макроскопічне дослідження показало, що ділянки запалення та утворення виразок визначали передусім у дистальному відділі кишечника. Гістологічне спостереження показало запальну інфільтрацію клітин, включаючи поліморфно-ядерні лейкоцити та множинні ерозивні ураження в товстому кишечнику. Іноді у слизовій оболонці товстої кишки виявляли абсцес крипти та регенований епітелій (рис. 2).

У контрольних щурів, яким інтраректально вводили 50 % розчин етанолу, не розвивається патологія, і вони мали здоровий вигляд.

Введення симвастатину й АРІЛ-1 щурам із колітом призвело до істотного зниження клінічних параметрів коліту (DAI становив 5,7 та 5,1 бала відповідно). Також введення препаратів істотно поліпшувало макроскопічні й мікроскопічні ознаки експериментального коліту (рис. 1).

Дослідження ЗТ-ПЛР показало, що рівень експресії прозапального цитокіну IL-1β підвищений у зразках товстої кишки щурів із колітом. Експресія IL-1β збільшується у 3,5 раза (p < 0,05) порівняно з контрольними тваринами. Введення симвастатину та АРІЛ-1 щурам із колітом спричинило зниження рівня експресії прозапального цитокіну IL-1β у зразках товстої кишки на 30 % та вдвічі (p < 0,05). Крім того, дослідження експресії NLRP3 у цих тканинах показало 71-разове (p < 0,05) підвищення експресії мРНК NLRP3 у зразках товстої кишки щурів із колітом порівняно з контрольними тваринами. Введення симвастатину та АРІЛ-1 щурам із колітом призвело до зниження рівня експресії мРНК NLRP3 у зразках товстої кишки у 2,5 і 3,0 раза (p < 0,05).

Обговорення

У цьому дослідженні вивчали експресію мРНК IL-1β і NLRP3 на експериментальній моделі запалення товстого кишечника. Надмірну експресію цих маркерів спостерігали в разі індукованого оксазолоном коліту в щурів. Дані, отримані від людини і на тваринних моделях коліту, свідчать: надмірна експресія IL-1β відіграє ключову роль у патогенезі ЗЗК [14].

Bersudsky M. et al., вивчаючи роль агоністів IL-1, IL-1α, який асоціюється передусім із клітинами, порівняно з IL-1β, що здебільшого секретується, при запаленні товстої кишки, показали: IL-1β бере участь у відновленні клітин епітелію кишечника та відновленні епітеліального бар'єра під час розвитку коліту [15]. У нашому дослідженні експресія IL-1β збільшилась у 3,5 раза в запаленій тканині товстої кишки порівняно з нормальною тканиною. Це свідчить, що зміни експресії IL-1β відіграють певну роль у патофізіології хвороби Крона.

Цитокін IL-1β з'являється одним із перших під час запалення кишечника, а його проформи переробляються через мультипротеїновий комплекс – інфламасому NLRP3, що активує каспазу-1. Однак роль інфламасоми в гострому запаленні кишечника залишається суперечливою, а їхня участь в опосередкованому IL-1β запаленні при хронічному коліті недостатньо вивчена. Через здатність викликати прозапальну реакцію та завдавати шкоди організму

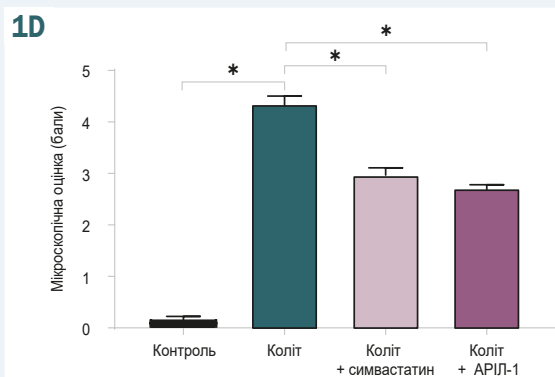
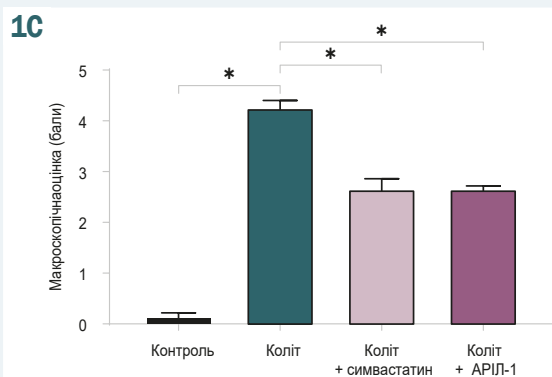
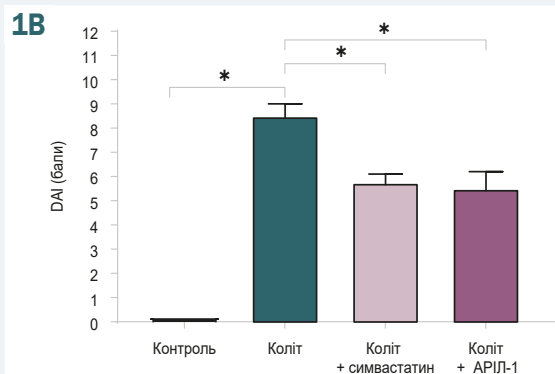
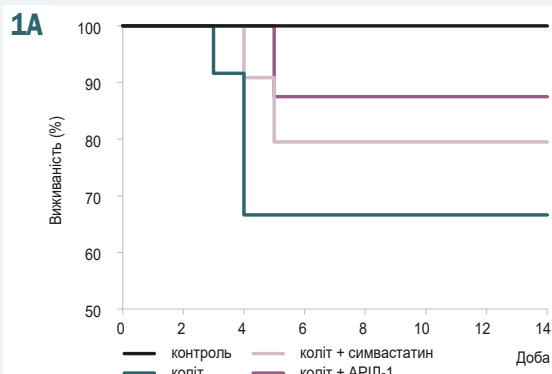


Рис. 1. Вживаність тварин (А), індекс активності захворювання (В), макроскопічне (С) та мікроскопічне (D) оцінювання змін у товстому кишечнику під час розвитку експериментального коліту та після введення симвастатину й АРІІ-1 експериментальним тваринам. *: $p < 0,05$. Для порівняння груп застосований U-критерій Манна-Вітні.

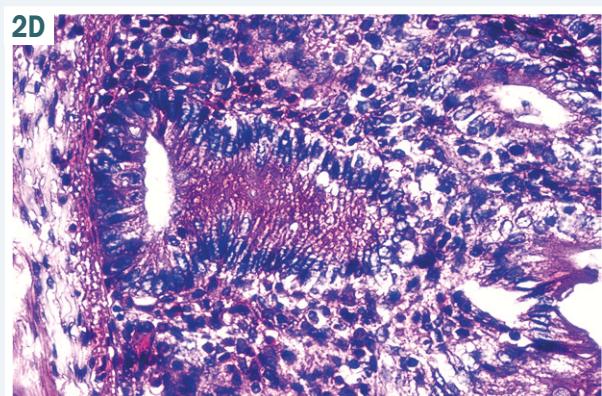
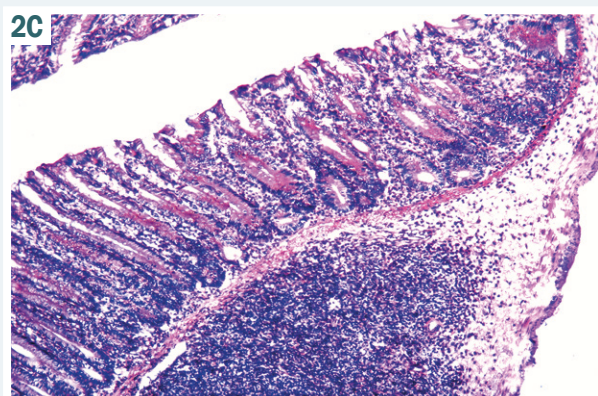
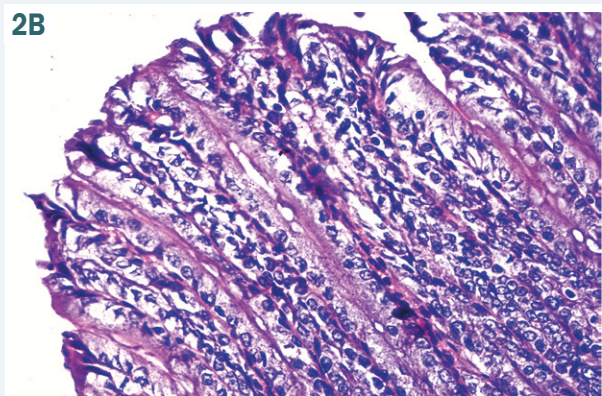
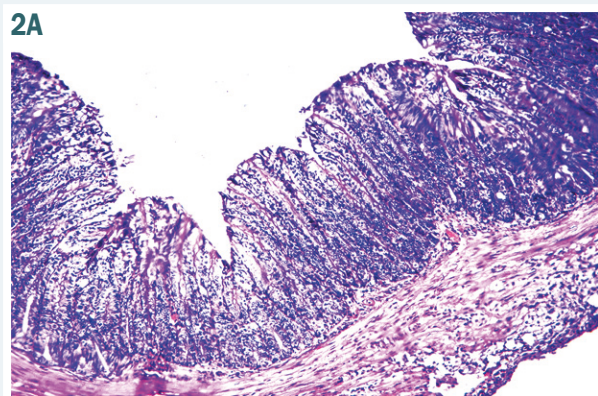


Рис. 2. Мікроскопічні зміни у проксимальному (А, В) та дистальному відділах (С, D) товстого кишечника щурів під час розвитку експериментального коліту. Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб.: $\times 100$ (А, С), $\times 400$ (В, D).

продукція IL-1 β контролюється на багатьох рівнях. Для отримання зрілого цитокіну IL-1 β потрібні принаймні два сигнали: перший сигнал ініціюється лігандами TLR або ендогенними молекулами, які індукують експресію гена pro-IL-1 β ; другий сигнал включає різні подразники, що активують запальний процес, спричиняючи дозрівання IL-1 β [16].

Інфламасоми – багатомолекулярний комплекс, що складається з білка NLR і каспази-1, який контролює обробку прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-18. Кілька досліджень показують: миші, в яких є дефіцит запальних компонентів, включаючи NLRP3 і каспазу 1, сприйнятливі до гострого коліту, що індукований декстраном сульфатом натрію. Але в одній роботі виявили протилежні результати: дефекти в запаленні, що опосередковане NLRP3, захищають мишей від експериментального коліту [17]. Є розбіжності щодо ролі інфламасоми в імунному захисті слизової оболонки та впливу мікробіоти кишечника, і для розв'язання цього питання необхідні подальші дослідження.

Оскільки ЗЗК – гетерогенне захворювання, можливо, в деяких хворих генетичні мутації чи фактори довкілля можуть спричинити знижену активацію запального процесу та продукцію IL-1 β , що порушує цілісність епітеліального клітинного бар'єра, робить його проникним до мікробіоти, зумовлюючи запалення кишечника. В інших хворих на ЗЗК генетичні фактори та комасальні мікроорганізми можуть спричинити тривалу або нерегульовану активацію запальних процесів і підвищену продукцію IL-1 β , викликаючи неконтрольоване запалення в кишечнику [18]. Отже, передбачається, що прозапальні цитокіни опосередковують захист організму проти мікробних патогенів і гомеостаз кишечника, а порушення їхньої регуляції може призводити до розвитку ЗЗК. Поглиблення знань про запальний процес може дати уявлення про потенційні терапевтичні цілі для пацієнтів із ЗЗК.

У цьому дослідженні встановили також, що введення симвастатину та антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на тлі розвитку коліту викликало зменшення рівнів експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 у тканинах товстого кишечника. Баланс IL-1 та антагоністів рецепторів інтерлейкіну-1 відіграє важливу роль у регуляції запалення та імунної відповіді. Maeda S. et al. вказали на дисбаланс між IL-1 β та антагоністами рецепторів інтерлейкіну-1, який може відігравати роль у патогенезі ЗЗК [19]. Birgit et al. показали, що блокада IL-1 β шляхом введення тваринам антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (Анакірна) пригнічує розвиток коліту [20].

У багатьох дослідженнях показано, що статини позитивно впливають на перебіг коліту в щурів, проте немає робіт, де акцентовано на вивченні впливу статинів на експресію мРНК IL-1 β і NLRP3 в кишечнику [21,22]. У нашому дослідженні підтвердили, що зниження рівня експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 у кишечнику може відповідати за протизапальну дію статинів та антагоністів рецепторів інтерлейкіну-1. Зробили висновок, що антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 ефективніший при коліті, ніж симвастатин. Цей результат передбачає, що обидві активні речовини можуть бути альтернативною терапевтичною стратегією при ЗЗК.

Висновки

1. Рівні експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 підвищені в запаленому товстому кишечнику щурів з експериментальним оксазолоним колітом.

2. Введення симвастатину й антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на тлі розвитку коліту викликало зменшення рівнів експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 у тканинах товстого кишечника.

3. Введення симвастатину й АПІЛ-1 тваринам з колітом зменшує їхню загибель і суттєво знижує вираженість запальних змін у кишечнику. Ці ефекти вираженіші для антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1, що підтверджує наявність в АПІЛ-1 протизапальних властивостей, що визначаються його здатністю під час запалення кишечника блокувати надлишкові кількості прозапальних IL-1 і його ефекти.

4. Виявлення аномальної експресії мРНК IL-1 β і NLRP3 може мати значення для з'ясування патогенезу хвороби Крона, а також може сприяти визначенню майбутніх потенційних цілей для терапевтичних стратегій у пацієнтів із ЗЗК.

Перспективи подальших досліджень. Плануємо вивчити зміни взаємодії мікробіоти кишечника та клітин ланки набутого імунітету в нормі та в разі розвитку гострого та хронічного ілеїту у тварин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 07.12.2020

Після доопрацювання / Revised: 17.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 23.02.2021

Відомості про авторів:

Жереб'ятьєв О. С., канд. мед. наук, старший викладач каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: [0000-0002-1041-0084](https://orcid.org/0000-0002-1041-0084)

Поліщук Н. М., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: [0000-0002-9791-5818](https://orcid.org/0000-0002-9791-5818)

Information about authors:

Zherebiatiev O. S., MD, PhD, Senior Lecturer of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Polishchuk N. M., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Жереб'ятьев А. С., канд. мед. наук, старший преподаватель каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Полищук Н. Н., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. микробиологии вирусологии, и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Role of NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel diseases / E. Tourkochristou, I. Aggeletopoulou, C. Konstantakis, C. Triantos. *World journal of gastroenterology*. 2019. Vol. 25, Iss. 33. P. 4796-4804. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i33.4796>

[2] A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents / P. K. Randhawa, K. Singh, N. Singh, A. S. Jaggi. *The Korean journal of physiology & pharmacology*. 2014. Vol. 18, Iss. 4. P. 279-288. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.4.279>

[3] Association of NLRP3 single nucleotide polymorphisms with ulcerative colitis: A case-control study / S. Hanaei, M. Sadr, A. Rezaei et al. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2018. Vol. 42, Iss. 3. P. 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.09.003>

[4] Jain M. K., Ridker P. M. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature reviews. Drug discovery*. 2005. Vol. 4, Iss. 12. P. 977-987. <https://doi.org/10.1038/nrd1901>

[5] IL-1Ra stabilises the thiol-disulfide system in the brain tissues of rats with experimental diabetes and cerebral ischemia / O. Suprun, L. Gromov, I. Belenichev, E. Suprun. *European Neuropsychopharmacology*. 2014. Vol. 24, Suppl. 2. P. S236-S239. [https://doi.org/10.1016/s0924-977x\(14\)70368-2](https://doi.org/10.1016/s0924-977x(14)70368-2)

[6] Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження) : автореф. дис. ... д-ра фармац. наук : 14.03.05 / Нац. фармац. ун-т. Харків, 2011. 38 с.

[7] Chemically induced mouse models of intestinal inflammation / S. Wirtz, C. Neufert, B. Weigmann, M. F. Neurath. *Nature protocols*. 2007. Vol. 2, Iss. 3. P. 541-546. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.41>

[8] Effects of alcohol on intestinal epithelial barrier permeability and expression of tight junction-associated proteins / Y. Wang, J. Tong, B. Chang et al. *Molecular medicine reports*. 2014. Vol. 9, Iss. 6. P. 2352-2356. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2126>

[9] Pharmacological correction of thiol-disulphide imbalance in the rat brain by intranasal form of IL-1b antagonist in a model of chronic cerebral ischemia / I. F. Belenichev, A. M. Ishchenko, A. S. Simbirsev et al. *Neurochemical Journal*. 2021. Vol. 15, Iss. 1. P. 30-36.

[10] Nucleic acid extraction from formalin-fixed paraffin-embedded cancer cell line samples: a trade off between quantity and quality? / C. Seiler, A. Sharpe, J. Barrett et al. *BMC clinical pathology*. 2016. Vol. 16, Iss. 17. P. 30-35. <https://doi.org/10.1186/s12907-016-0039-3>

[11] Nonmyeloablative stem cell therapy enhances microcirculation and tissue regeneration in murine inflammatory bowel disease / P. N. Khalil, V. Weiler, P. J. Nelson et al. *Gastroenterology*. 2007. Vol. 132, Iss. 3. P. 944-954. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.12.029>

[12] Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon / G. P. Morris, P. L. Beck, M. S. Herridge et al. *Gastroenterology*. 1989. Vol. 96, Iss. 3. P. 795-803.

[13] Bustin S. A. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of molecular endocrinology*. 2002. Vol. 29, Iss. 1. P. 23-39. <https://doi.org/10.1677/jme.0.0290023>

[14] Regulation of IL-8 and IL-1beta expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations / J. Li, T. Moran, E. Swanson et al. *Human molecular genetics*. 2004. Vol. 13, Iss. 16. P. 1715-1725. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh182>

[15] Non-redundant properties of IL-1 α and IL-1 β during acute colon inflammation in mice / M. Bersudsky, L. Luski, D. Fishman et al. *Gut*. 2014. Vol. 63, Iss. 4. P. 598-609. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303329>

[16] Latz E., Xiao T. S., Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nature reviews. Immunology*. 2013. Vol. 13, Iss. 6. P. 397-411. <https://doi.org/10.1038/nri3452>

[17] NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis: a possible role in ulcerative colitis / S. Itani, T. Watanabe, Y. Nadatani et al. *Scientific reports*. 2016. Vol. 6. P. 390-395. <https://doi.org/10.1038/srep39075>

[18] Петрина В. О. Ефективність терапії неспецифічного виразкового коліту з урахуванням способу введення лікарських засобів. *Запорозький медичний журнал*. 2017. Т. 19, №. 4. С. 446-450. <http://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.4.105030>

[19] Mucosal imbalance of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease / S. Maeda, K. Ohno, K. Nakamura et al. *Veterinary journal*. 2012. Vol. 194, Iss. 1. P. 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.02.026>

[20] Loss of TLR2 worsens spontaneous colitis in MDR1A deficiency through commensally induced pyroptosis / B. Ey, A. Eyking, M. Klepak et al. *Journal of immunology*. 2013. Vol. 190, Iss. 11. P. 5676-5688. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201592>

[21] Rea W. E., Durrant D. C., Boldy D. A. Ulcerative colitis after statin treatment. *Postgraduate medical journal*. 2002. Vol. 78, Iss. 919. P. 286-287. <https://doi.org/10.1136/pmj.78.919.286>

[22] Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats / R. A. Maheshwari, R. Balaraman, G. U. Sailor, D. B. Sen. *Indian journal of pharmacology*. 2015. Vol. 47, Iss. 1. P. 17-21. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.150311>

References

[1] Tourkochristou, E., Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., & Triantos, C. (2019). Role of NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel diseases. *World journal of gastroenterology*, 25(33), 4796-4804. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i33.4796>

[2] Randhawa, P. K., Singh, K., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2014). A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *The Korean journal of physiology & pharmacology*, 18(4), 279-288. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.4.279>

[3] Hanaei, S., Sadr, M., Rezaei, A., Shahkarami, S., Ebrahimi Daryani, N., Bidoki, A. Z., & Rezaei, N. (2018). Association of NLRP3 single nucleotide polymorphisms with ulcerative colitis: A case-control study. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 42(3), 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.09.003>

[4] Jain, M. K., Ridker, P. M. (2005). Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature reviews. Drug discovery*, 4(12), 977-987. <https://doi.org/10.1038/nrd1901>

[5] Suprun, O., Gromov, L., Belenichev, I., & Suprun, E. (2014). IL-1Ra stabilises the thiol-disulfide system in the brain tissues of rats with experimental diabetes and cerebral ischemia. *European Neuropsychopharmacology*, 24(Suppl 2), S236-S237. [https://doi.org/10.1016/s0924-977x\(14\)70368-2](https://doi.org/10.1016/s0924-977x(14)70368-2)

[6] Shchokina, K. G. (2011). *Orhanotropni efekty rekombinantnoho antahonista retseptoriv interleukinu-1* (eksperymentalne doslidzhennia) [Organotropic effects of recombinant receptor antagonist of interleukin-1 (experimental research) (Doctoral dissertation)]. National Pharmaceutical University. [in Ukrainian].

[7] Wirtz, S., Neufert, C., Weigmann, B., & Neurath, M. F. (2007). Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nature protocols*, 2(3), 541-546. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.41>

[8] Wang, Y., Tong, J., Chang, B., Wang, B., Zhang, D., & Wang, B. (2014). Effects of alcohol on intestinal epithelial barrier permeability and expression of tight junction-associated proteins. *Molecular medicine reports*, 9(6), 2352-2356. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2126>

[9] Belenichev, I. F., Ishchenko, A. M., Simbirsev, A. S., Burlaka, B. S., Bukhtiyarova, N. V. & Suprun, E. V. (2021). Pharmacological correction of thiol-disulphide imbalance in the rat brain by intranasal form of IL-1b antagonist in a model of chronic cerebral ischemia. *Neurochemical Journal*, 15(1), 30-36.

[10] Seiler, C., Sharpe, A., Barrett, J. C., Harrington, E. A., Jones, E. V., & Marshall, G. B. (2016). Nucleic acid extraction from formalin-fixed paraffin-embedded cancer cell line samples: a trade off between quantity and quality?. *BMC clinical pathology*, 16, 17. <https://doi.org/10.1186/s12907-016-0039-3>

[11] Khalil, P. N., Weiler, V., Nelson, P. J., Khalil, M. N., & Moosmann, S. (2007). Nonmyeloablative stem cell therapy enhances microcirculation and tissue regeneration in murine inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 132(3), 944-954. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.12.029>

[12] Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S., Depew, W. T., Szewczuk, M. R., & Wallace, J. L. (1989). Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96(3), 795-803.

[13] Bustin, S. A. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *Journal of molecular endocrinology*, 29(1), 23-39. <https://doi.org/10.1677/jme.0.0290023>

[14] Li, J., Moran, T., Swanson, E., Julian, C., Harris, J., Bonen, D. K., Hedl, M., Nicolae, D. L., Abraham, C., & Cho, J. H. (2004). Regulation of IL-8 and IL-1beta expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations. *Human molecular genetics*, 13(16), 1715-1725. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh182>

[15] Bersudsky, M., Luski, L., Fishman, D., White, R. M., Ziv-Sokolovskaya, N., Dotan, S., Rider, P., Kaplanov, I., Aychek, T., Dinarello, C. A., Apte, R. N., & Voronov, E. (2014). Non-redundant properties of IL-1 α and IL-1 β during acute colon inflammation in mice. *Gut*, 63(4), 598-609. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303329>







[16] Latz, E., Xiao, T. S., & Stutz, A. (2013). Activation and regulation of the inflammasomes. *Nature reviews. Immunology*, 13(6), 397-411. <https://doi.org/10.1038/nri3452>

[17] Itani, S., Watanabe, T., Nadatani, Y., Sugimura, N., Shimada, S., Takeda, S., Otani, K., Hosomi, S., Nagami, Y., Tanaka, F., Kamata, N., Yamagami, H., Tanigawa, T., Shiba, M., Tominaga, K., Fujiwara, Y., & Arakawa, T. (2016). NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis: a possible role in ulcerative colitis. *Scientific reports*, 6, 39075. <https://doi.org/10.1038/srep39075>

[18] Petryna, V. O. (2017). *Efektivnist terapii nespetsyfnogo vyr-azkovoho kolitu z urakhuvanniam sposobu vvedennia likarskykh zasobiv* [The effectiveness of ulcerative colitis treatment depending on the route of medical drug usage]. *Запорозьке медичне журналі*, 19(4), 446-450. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.4.105030>

- [19] Maeda, S., Ohno, K., Nakamura, K., Uchida, K., Nakashima, K., Fukushima, K., Tsukamoto, A., Goto-Koshino, Y., Fujino, Y., & Tsujimoto, H. (2012). Mucosal imbalance of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease. *Veterinary journal*, 194(1), 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.02.026>
- [20] Ey, B., Eyking, A., Klepak, M., Salzman, N. H., Göthert, J. R., Rünzi, M., Schmid, K. W., Gerken, G., Podolsky, D. K., & Cario, E. (2013). Loss of TLR2 worsens spontaneous colitis in MDR1A deficiency through commensally induced pyroptosis. *Journal of immunology*, 190(11), 5676-5688. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201592>
- [21] Rea, W. E., Durrant, D. C., & Boldy, D. A. (2002). Ulcerative colitis after statin treatment. *Postgraduate medical journal*, 78(919), 286-287. <https://doi.org/10.1136/pmj.78.919.286>
- [22] Maheshwari, R. A., Balaraman, R., Sailor, G. U., & Sen, D. B. (2015). Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Indian journal of pharmacology*, 47(1), 17-21. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.150311>

Цитокиновий профіль пацієнтів із коровою інфекцією різного ступеня тяжкості

К. А. Веклич  *1,A,B,C,D, М. М. Попов  1,E,F, Т. І. Лядова  1,E,F, О. В. Мартиненко  1,C,
О. Г. Сорокіна  1,A, В. В. Саркіс-Іванова  2,A

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна, ²Харківський національний 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:
кір, цитокини,
інтерферон.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 66-71

*E-mail:
k.veklitch@karazin.ua

Мета роботи – визначення характеру цитокинової реакції пацієнтів із кором різного ступеня тяжкості з ускладненнями та без них.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 65 пацієнтів, які перебували на стаціонарному лікуванні у КЗОЗ КНП ХОР ОКІЛ у 2017–2019 рр. Хворих поділили на 4 групи залежно від тяжкості перебігу захворювання та наявності ускладнень. Усім пацієнтам, яких залучили в дослідження, в день надходження та на 10 день перебування у стаціонарі визначили концентрацію про- і протизапальних цитокинів, інтерферонів альфа та гамма в сироватці крові. Дослідження виконали методом твердофазного імуноферментного аналізу за допомогою наборів реагентів АТ «Вектор-Бест» (РФ) згідно з інструкцією виробника. Статистичне опрацювання даних виконали за допомогою пакета програм IBM SPSS Statistics 22.0.

Результати. Дослідження про- і протизапальних цитокинів у динаміці показало зниження їхніх рівнів на 10 день перебування у стаціонарі в пацієнтів, які не мали ускладнень, і підвищення у хворих, в яких захворювання супроводжувалося розвитком пневмонії. Рівні ІНФа та ІНФу в динаміці підвищились у пацієнтів усіх груп. Вірогідні зміни групи співвідношення про- і протизапальних цитокинів щодо контрольної в динаміці спостерігали тільки в осіб, які мали дисоціативний тип цитокинового реагування. У хворих цієї групи в 1 і 10 день перебування у стаціонарі індекс співвідношення ІЛ-6/ІЛ-10 зрушений у бік суттєвого переважаєння прозапальних цитокинів.

Висновки. Дослідження показує у пацієнтів із кором різних ступенів тяжкості наявність трьох можливих варіантів цитокинового реагування: нормореактивного, дисоціативного, гіпореактивного. Кожний тип притаманний окремій групі пацієнтів і впливає на клінічний перебіг кору та розвиток ускладнень, що асоціюється з динамікою підвищення рівнів про- і протизапальних цитокинів, підвищення рівнів ІНФа та ІНФу в сироватці крові. Динаміка збільшення цих факторів при тяжкому перебігу захворювання нижча, ніж при середньому ступені. Беручи до уваги результати дослідження, можна припустити, що у процесі формування протиінфекційного імунітету у відповідь на корову інфекцію важливого значення набуває превалювання Th-1 імунної відповіді над Th-2 відповіддю.

Key words:
measles, cytokines,
interferon.

Pathologia
2021; 18 (1), 66-71

Cytokine profile of patients with the measles infection of varying severity

K. A. Veklych, M. M. Popov, T. I. Liadova, O. V. Martynenko, O. H. Sorokina, V. V. Sarkis-Ivanova

Aim: to determine the nature of the cytokine response in patients with measles infection of varying severity, both with and without complications.

Materials and methods. 65 patients who were treated in the Kharkiv regional infectious hospital from 2017 to 2019 were included in the study. All patients were divided into 4 groups depending on the severity of the disease and the presence of complications. All patients included in the study on the day of admission to the hospital and on the 10th day of hospital stay were examined for serum concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines as well as interferons alpha and gamma, which was carried out by solid-phase enzyme immunoassay using kits manufactured by "Vector-best" company (RF) according to the manufacturer's instructions. Statistical processing of the obtained data was carried out using the IBM SPSS Statistics 22.0 software package.

Results. The study of the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in dynamics showed a decrease in their levels on the 10th day of hospital stay in patients who did not have complications, and their increase in patients whose illness was accompanied by the development of pneumonia. Levels of INFα and INFγ in dynamics increased in all groups of patients. Significant changes in relation to the control group in the ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines in the dynamics were observed only in patients with a dissociative type of cytokine response. In patients of this group on the 1st and 10th days of hospital stay the ratio index of IL-6/IL-10 was shifted towards a significant predominance of proinflammatory cytokines.

Conclusions. The study demonstrates the presence of three possible types of cytokine response in patients with measles infection of varying severity: normoreactive, dissociative and hyporeactive. Each type was typical to a specific group of patients and influenced the clinical course of the disease and the development of complications, which is associated with the dynamics of increasing levels of pro- and anti-inflammatory cytokines and increasing levels of INFα and INFγ. The dynamics of increase in levels of these factors in severe disease is lower than in moderate disease. Taking into account the obtained data it can be assumed that in process of anti-infectious immunity formation in response to measles infection the prevalence of the Th-1 immune response over the Th-2 response becomes important.

Цитокиновий профіль пацієнтів з коревої інфекцією різної ступеня тяжкості

К. А. Веклич, Н. Н. Попов, Т. И. Лядова, О. Г. Сорокіна, А. В. Мартыненко, В. В. Саркіс-Іванова

Цель работы – определение характера цитокиновой реакции пациентов с коревой инфекцией различной степени тяжести с осложнениями и без них.

Материалы и методы. В исследование включены 65 пациентов, находившихся на стационарном лечении в КЗО ХОС ОКИБ в 2017–2019 гг. Пациентов распределили на 4 группы в зависимости от тяжести течения заболевания, наличия осложнений. Всем пациентам, включенным в исследование, в день поступления и на 10 день пребывания в стационаре определяли концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов, интерферонов альфа и гамма в сыворотке крови. Исследование проведено методом твердофазного иммуноферментного анализа при помощи наборов АО «Вектор-Бест» (РФ) согласно инструкции производителя. Статистическая обработка полученных данных выполнена при помощи пакета программ IBM SPSS Statistics 22.0.

Результаты. Исследование уровней про- и противовоспалительных цитокинов в динамике показало снижение их уровней на 10 день пребывания в стационаре у пациентов, не имевших осложнений, и повышение у больных, у которых заболевание сопровождалось развитием пневмонии. Уровни ИНФа и ИНФу в динамике повысились у пациентов всех групп. Достоверные изменения соотношении про- и противовоспалительных цитокинов в динамике по отношению к контрольной группе наблюдали только у пациентов с диссоциативным типом цитокинового реагирования. У больных этой группы в 1 и 10 день пребывания в стационаре индекс соотношения ИЛ-6/ИЛ-10 смещен в сторону значительного преобладания провоспалительных цитокинов.

Выводы. Исследование показало у пациентов с коревой инфекцией различной степени тяжести наличие трех возможных типов цитокинового реагирования: нормореактивного, диссоциативного и гипореактивного. Каждый тип специфичен определенной группе пациентов и влиял на клиническое течение заболевания и развитие осложнений, что ассоциируется с динамикой повышения уровней про- и противовоспалительных цитокинов и прироста уровней ИНФа и ИНФу. Динамика прироста этих факторов при тяжелом течении заболевания ниже, чем при заболевании средней степени тяжести. Принимая во внимание результаты исследования, можно предположить, что в процессе формирования противоинфекционного иммунитета в ответ на коревую инфекцию важное значение приобретает превалирование Th-1 иммунного ответа над Th-2 ответом.

Ключевые слова:
корь, цитокины,
интерферон.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 66-71

У період 2017–2019 рр. служба охорони здоров'я України спостерігала спалах кору і серед дитячого, і дорослого населення України загалом та в Харківській області зокрема. Так, у 2017 р. інтенсивний показник захворюваності на кір на 100 тисяч населення становив 7,94, що в 43,3 раза більше, ніж у 2016 р., коли інтенсивний показник становив 0,18 [1]. Швидке поширення кору серед різних верств населення зумовлене високим індексом контагіозності вірусу (90 %), зниженням охоплення імунізацією населення, порушенням імунної відповіді пацієнтів, можливою зміною генетичної структури вірусу [2].

Кір – висококонтагіозне інфекційне захворювання, що спричинене РНК-вмісним вірусом сімейства *Paramyxoviridae* роду *Morbillivirus*. Ці віруси антропонозні, що унеможливають передачу вірусу від тварин до людей або навпаки [3,4]. Механізм передачі кору – аерогенний, вхідними воротами для вірусу є верхні дихальні шляхи та кон'юнктива. Вірус кору має високий тропізм до лімфоїдної тканини, уражає альвеолярні макрофаги, дендритні клітини, Т- і В-клітини лімфоїдних структур нижніх дихальних шляхів. Вірус також характеризується здатністю до реплікації в ендотеліальних, епітеліальних клітинах. Перебіг кору в імунологічному аспекті характеризується тривалою імуносупресією та підвищенням сприйнятливості до інших інфекційних агентів; це зумовлює розвиток ускладнень, зокрема бактеріальних суперінфекцій: отитів, пневмоній, менінгоенцефалітів тощо [3–7].

Важливу роль у виникненні та розвитку імунної відповіді на інфекцію відіграють про- і протизапальні цитокини, а також інтерферони альфа (ИНФа) та гамма (ИНФу), що впливають на клінічний перебіг захворювання та розвиток ускладнень [8–10].

Спектр і рівень цитокинів, що синтезуються в організмі, пов'язані з природою етіологічного фактора, тяжкістю та поширеністю патологічного процесу. Незважаючи на достатню кількість інформації щодо значення цитокинів у клінічному перебігу різних захворювань, роль цитокинів у тяжкості клінічного перебігу кору та їхній вплив на розвиток ускладнень цього захворювання, як-от пневмонії, не досліджені.

Мета роботи

Визначення характеру цитокинової реакції пацієнтів із кором різного ступеня тяжкості з ускладненнями та без них.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили пацієнтів із кором, які перебували на лікуванні у КЗОЗ КНП ХОР ОКІЛ у 2017–2019 рр. Клінічний діагноз кору встановили на підставі клінічних симптомів захворювання (інтоксикаційний, катаральний синдром, синдром ураження очей, наявність плям Філатова–Копліка, синдром екзантеми з типовою стадійною появою та зникненням висипу), епідеміологічних даних (контакт з особами, в яких діагностовано кір), а також за результатами клінічного дослідження крові. Пацієнти з легким ступенем тяжкості або не зверталися за госпіталізацією, або відмовлялися від госпіталізації у приймальню відділенні лікарні. Розвиток пневмонії підтверджували за допомогою рентгенологічного дослідження органів грудної клітки.

Критерій залучення в дослідження – діагностований кір різного ступеня тяжкості з розвитком ускладнень і без них. Критерії виключення: наявність супутніх

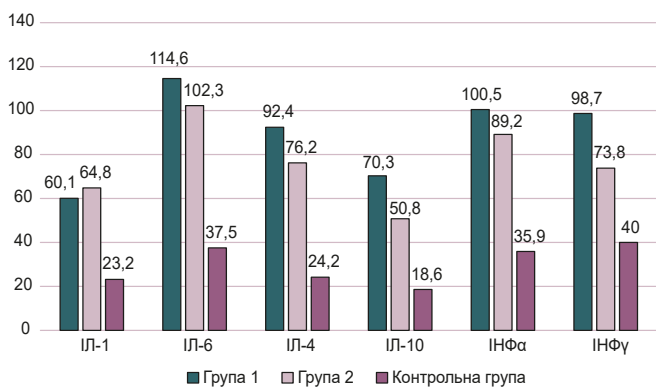


Рис. 1. Показники цитокинового профілю в пацієнтів 1 та 2 груп у день надходження у стаціонар.

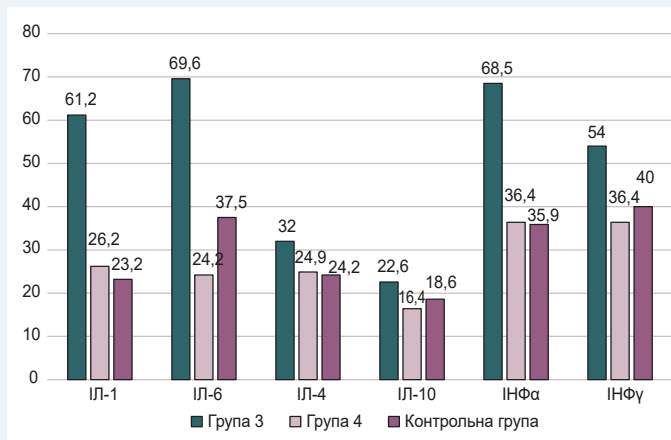


Рис. 2. Показники цитокинового профілю в пацієнтів 3 і 4 груп у день надходження у стаціонар.

гострих і хронічних захворювань у стадії загострення, суб- та/або декомпенсації, імуносупресивні й аутоімунні захворювання, приймання імуносупресивних препаратів, оперативні втручання за 6 місяців до госпіталізації з приводу кору, пологи за 6 місяців до госпіталізації з приводу кору.

У дослідження залучили 65 хворих, яких поділили на 4 групи: 1 – пацієнти з кором середнього ступеня тяжкості без ускладнень, які перебували на лікуванні в загальному відділенні ($n = 20$); 2 – пацієнти з кором середнього ступеня тяжкості, які мали ускладнення – позагоспітальну пневмонію, перебували на лікуванні в загальному відділенні ($n = 20$); 3 – пацієнти з кором важкого ступеня, які не мали ускладнень і лікувалися у відділенні реанімації та інтенсивної терапії ($n = 16$); 4 група – пацієнти з кором важкого ступеня, які мали ускладнення – позагоспітальну пневмонію, перебували на лікуванні у відділенні реанімації та інтенсивної терапії ($n = 9$). З-поміж пацієнтів – 48 % жінок, 52 % чоловіків, середній вік – $36,16 \pm 1,59$ року. Хворі зверталися у стаціонар на $5,18 \pm 0,15$ дня від початку захворювання та $4,29 \pm 0,12$ дня від появи висипу.

Контрольна група – 20 добровільних донорів, які на час узяття зразків крові не мали клінічних ознак кору, не контактували з хворими на кір і не мали критеріїв виключення, що наведені.

Усім пацієнтам, які залучені в дослідження, в день надходження і на 10 день перебування у стаціонарі визначили концентрацію про- і протизапальних цитокинів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4, ІЛ-10), інтерферонів альфа та гамма в сироватці крові. Дослідження виконали методом твердофазного імуоферментного аналізу за допомогою наборів реагентів АТ «Вектор-Бест» (РФ) згідно з інструкцією виробника.

Статистичне опрацювання даних здійснили за допомогою пакета програм IBM SPSS Statistics 22.0 (Faculty Pack L/N: L-GLBC-99H6WQ). Дані перевірені на нормальність розподілу за критерієм Шапіро-Вілкі та наведені як середнє арифметичне (M) \pm середня помилка середнього арифметичного (m), коли вони відповідали нормальному закону розподілу. У разі відхилення розподілу від нормального дані наведено як медіана (Me) та міжквартильний інтервал ($Q25$ %; $Q75$ %). Під час інтерпретації значущості різниці між незалежними групами використовували U-критерій Манна-Вітні, для залежних груп – критерій Вілкоксона, критичною величиною рівня значущості вважали $p < 0,05$.

Результати

Досліджуючи рівні про- і протизапальних цитокинів, ІНФа та ІНФу в сироватці крові в день надходження у стаціонар, встановили підвищення показників у всіх групах пацієнтів порівняно з особами контрольної групи. У пацієнтів 1 групи медіана ІЛ-1 та ІЛ-6 у сироватці крові вища у 2,6 і 3,1 раза відповідно, ІНФа – у 2,8 раза, ІНФу – у 2,5 раза, ІЛ-4 та ІЛ-10 – у 3,8 та 3,8 раза відповідно; у пацієнтів 2 групи ці показники вищі у 2,8, 2,7, 2,5, 1,8, 3,1 та 2,7 раза відповідно (рис. 1). У пацієнтів 3 групи рівень ІЛ-1 підвищився у 2,6 раза, ІЛ-6 – в 1,9 раза, ІНФа – в 1,9 раза, ІНФу – 1,4 раза, ІЛ-4 – 1,3 раза, ІЛ-10 – 1,2 раза. У пацієнтів 4 групи рівні ІЛ-1, ІНФа та ІЛ-4 підвищилися у 1,1, 1,01 та 1,03 раза відповідно; рівні ІЛ-6, ІЛ-10 та ІНФу у пацієнтів цієї групи були нижчими, ніж в осіб контрольної групи в 1,5, 1,1 та 1,1 раза відповідно (рис. 2).

На 10 день перебування у стаціонарі в пацієнтів 1 групи рівень ІЛ-1 зменшився у 2,0 раза, ІЛ-6 – в 1,7 раза, ІЛ-4 – в 1,5 раза, ІЛ-10 – в 1,9 раза; у групі 3 показники знизилися в 1,4, 1,0, 1,2 та 1,2 раза відповідно (табл. 1). У пацієнтів 2 групи на 10 день перебування у стаціонарі рівень ІЛ-1 збільшився в 1,5 раза, ІЛ-6 – в 1,2 раза, ІЛ-4 – в 1,3 раза, ІЛ-10 – в 1,5 раза. У пацієнтів 4 групи ці показники підвищилися в 1,1, 1,1, 1,0, 1,1 раза відповідно (табл. 1).

Аналіз динаміки змін рівнів інтерферонів альфа та гамма на 10 день перебування у стаціонарі показав підвищення їхніх рівнів у всіх групах дослідження. Так, у пацієнтів 1 групи рівень ІНФа збільшився у 2,2 раза, а ІНФу – у 2,8 раза; у хворих 2 групи – в 1,8 та 1,8 раза; в осіб 3 групи – в 1,3 та 1,8 раза; в пацієнтів 4 групи – в 1,1 та 1,2 раза відповідно (табл. 1).

Дослідження змін співвідношення про- і протизапальних цитокинів на 1 та 10 день перебування у стаціонарі щодо показників контрольної групи показало вірогідні зрушення в пацієнтів 3 і 4 груп: у 3 групі цей показник менший, ніж у контрольній, а в 4 групі – вищий (табл. 2).

Таблиця 1. Цитокиновий профіль пацієнтів 1–4 груп на 1 і 10 день перебування у стаціонарі, Ме (Q25 %; Q75 %)

Групи	День перебування у стаціонарі	ІНФа, пг/л	ІНФу, пг/л	ІЛ-1, пг/мл	ІЛ-6, пг/мл	ІЛ-4, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Група 1 (n = 20)	День 1	100,5 (92,0; 109,8)*	98,7 (90,2; 116,2)*	60,1 (42,1; 101,8)*	114,6 (76,8; 188,4)*	92,4 (74,6; 108,7)*	70,3 (50,2; 81,3)*
	День 10	222,4 (200,0; 302,9)**	274,9 (188,8; 416,0)**	30,8 (25,6; 49,2)**	67,6 (42,8; 82,8)**	60,4 (42,8; 86,4)**	37,5 (22,1; 50,6)**
Група 2 (n = 20)	День 1	89,2 (86,0; 99,2)*†	73,8 (57,5; 82,7)*†	64,8 (43,4; 114,4)*	102,3 (75,1; 171,5)*	76,2 (48,7; 93,7)*†	50,8 (43,2; 59,1)*†
	День 10	162,6 (129,8; 214,5)**‡	133,7 (104,3; 205,5)**‡	100,3 (93,1; 147,6)**‡	118,2 (100,1; 196,4)‡	97,6 (79,1; 104,2)**‡	77,7 (67,3; 87,0)**‡
Група 3 (n = 16)	День 1	68,5 (62,7; 77,6)*	54,0 (45,0; 56,9)*	61,2 (54,2; 84,0)*	69,6 (44,1; 94,7)*	32,0 (22,2; 42,3)*	22,6 (13,5; 27,6)
	День 10	92,3 (88,0; 100,6)**	97,6 (88,0; 103,4)**	42,3 (30,6; 87,3)**	68,5 (36,6; 87,3)	25,8 (22,0; 31,8)	19,4 (14,5; 23,9)
Група 4 (n = 9)	День 1	36,4 (29,9; 41,7)°	36,4 (30,3; 39,0)°	26,2 (23,1; 29,3)°	24,2 (14,9; 58,2)°	24,9 (14,9; 27,6)°	16,4 (13,9; 25,7)°
	День 10	41,7 (32,3; 49,3)°	44,5 (42,0; 49,3)°	29,7 (26,1; 33,2)°	27,3 (16,7; 62,3)°	25,1 (24,7; 27,8)	18,3 (16,6; 27,0)
Контрольна група (n = 20)		35,9 (31,0; 45,8)	40,0 (32,0; 49,5)	23,2 (18,8; 30,4)	37,5 (33,1; 39,8)	24,2 (19,9; 27,7)	18,6 (12,3; 23,3)

*: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів із груп дослідження і контрольної групи в 1 день перебування у стаціонарі; **: $p < 0,05$ між показниками на 1 і 10 день перебування у стаціонарі; †: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів 1 і 2 груп у 1 день перебування у стаціонарі; ‡: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів 1 і 2 груп на 10 день перебування у стаціонарі; °: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів 3 і 4 груп у 1 день перебування у стаціонарі; °: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів 3 і 4 груп на 10 день перебування у стаціонарі

Аналіз динаміки співвідношення рівнів ІЛ-4 і ІНФу показав зрушення в бік превалювання ІНФу над ІЛ-4 на 10 день перебування у стаціонарі в усіх групах пацієнтів (табл. 3).

Обговорення

Вивчення цитокинового профілю хворих на кір виявило три типи цитокинового реагування на інфекційний процес: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний. Нормореактивний тип цитокинового реагування притаманний пацієнтам 1 і 2 груп, в яких захворювання мало середньої тяжкості перебіг, характеризувався статистично значущим ($p \leq 0,05$) підвищенням рівнів про- і протизапальних цитокинів та інтерферонів порівняно з відповідними показниками контрольної групи. У пацієнтів 3 групи, в яких захворювання мало тяжкий перебіг і не супроводжувалося розвитком ускладнень, виявили дисоціативний тип цитокинового реагування, який характеризувався значущим підвищенням рівнів прозапальних цитокинів і низьким рівнем протизапальних цитокинів та ІНФа, ІНФу. Пацієнти 4 групи, в яких захворювання мало тяжкий перебіг і супроводжувалося розвитком пневмонії, мали гіпореактивний тип цитокинового реагування, що характеризувався низькими рівнями про- і протизапальних цитокинів, концентрації яких дещо вищі за рівень осіб контрольної групи, та інтерферонів, рівні яких нижчі за показники контрольної групи.

Дослідження про- і протизапальних цитокинів у динаміці показало зниження їхніх рівнів на 10 день перебування у стаціонарі в пацієнтів 1 і 3 груп, у яких захворювання не супроводжувалося розвитком ускладнень з боку респіраторного тракту. У пацієнтів 3 групи, стан яких на початку захворювання оцінено як тяжкий, зниження було вірогідно менш значущим, ніж у пацієнтів 1 групи, які мали середньотяжкий перебіг захворювання. Але рівні досліджуваних про- і протизапальних цитокинів у пацієнтів 1 і 3 груп на 10 день перебування у стаціонарі були вищими, ніж в осіб контрольної групи.

Це збігається з даними, що наведені в дослідженні Diane E. Griffin, де встановлено підвищення рівнів ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові пацієнтів із кором, що

Таблиця 2. Співвідношення прозапальних і протизапальних цитокинів 1–4 груп на 1 і 10 день перебування у стаціонарі

	День перебування у стаціонарі	ІЛ-10 : ІЛ-6, М \pm m
Група 1 (n = 20)	День 1	0,74 \pm 0,14
	День 10	0,72 \pm 0,13
Група 2 (n = 20)	День 1	0,63 \pm 0,11
	День 10	0,61 \pm 0,06
Група 3 (n = 16)	День 1	0,39 \pm 0,07*
	День 10	0,38 \pm 0,06*
Група 4 (n = 9)	День 1	0,89 \pm 0,25*
	День 10	0,94 \pm 0,25*
Контрольна група (n = 20)		0,53 \pm 0,05

*: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів груп дослідження та контрольної групи.

Таблиця 3. Співвідношення інтерлейкіну-4 та інтерферону гамма 1–4 груп на 1 і 10 день перебування у стаціонарі

	День перебування у стаціонарі	ІНФу : ІЛ-4, М \pm m
Група 1 (n = 20)	День 1	1,20 \pm 0,11*
	День 10	6,34 \pm 1,07**
Група 2 (n = 20)	День 1	1,22 \pm 0,15*
	День 10	1,90 \pm 0,26**
Група 3 (n = 16)	День 1	1,81 \pm 0,25
	День 10	3,69 \pm 0,37**
Група 4 (n = 9)	День 1	1,93 \pm 0,43
	День 10	1,87 \pm 0,27
Контрольна група (n = 20)		1,90 \pm 0,21

*: $p < 0,05$ між показниками пацієнтів груп дослідження і контрольної групи в 1 день перебування у стаціонарі; **: $p < 0,05$ між показниками на 1 і 10 день перебування у стаціонарі.

зберігається і після зникнення висипу [6]. У пацієнтів 2 і 4 груп, в яких захворювання супроводжувалося розвитком ускладнень (пневмонія), на 10 день перебування у стаціонарі спостерігали підвищення рівнів про- і протизапальних цитокинів порівняно з показниками в день госпіталізації. У пацієнтів 4 групи, перебіг захворювання котрих у день госпіталізації оцінили як тяжкий, динаміка підвищення рівнів про- і протизапальних цитокинів менш виражена порівняно з показниками пацієнтів 2 групи, які мали середньотяжкий перебіг захворювання.

Відомо, що цитокіни разом із клітинами-продуцентами та клітинами-ацепторами формують мережу, що регулює та контролює взаємодію між великою кількістю клітин лімфомієлоїдного комплексу та клітинами інших систем організму. Так, наприклад, ІЛ-1 є стимулятором Th-клітин, разом з антигеном активує Т-лімфоцити та індукує їхню проліферацію, стимулює вироблення Т-клітинами цитокінів, є кофактором активації та проліферації В-клітин, активує NK-клітини тощо. Інтерлейкін-6 – індуктор дозрівання В-клітин у плазматичні клітини та продукції ними антитіл. Інтерлейкін-10, що є представником протизапальних цитокінів, має супресорну активність щодо Т-клітин, NK-клітин і прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП, ІНФγ), а також важливий ендогенний регулятор імунних і запальних процесів у легенях.

Як показали Є. В. Маркелова та співавт., гіперактивація клітин імунної системи у процесі запалення, що супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів, призводить до активації каскаду індукованих ними медіаторів запалення: підвищується продукція оксиду азоту, реактивних метаболітів кисню, перокси-нітриту [9]. Встановлено також, що гіперактивація системи цитокінів корелює з порушеннями тромборецистентності ендотелію судин, що, ймовірно, зумовлено прокоагулянтною активністю ІЛ-1 та ІЛ-6. Автори показали, що цитокіни залучаються в інфекційно-запальний процес на рівні власне імунних механізмів та ефекторної ланки, запускаючи послідовний ланцюг реакцій: порушення мікроциркуляції, виникнення тканинної гіпоксії, альвеолярного та інтерстеціального набряку, ураження метаболічної функції органів – певною мірою це визначає напрям, тяжкість і результат патологічного процесу [9]. Враховуючи супресорну активність ІЛ-10, індукторну функцію ІЛ-6 щодо В-клітин, продукція яким специфічних імуноглобулінів є важливим етапом протівірусного захисту, а також їхню певну роль у тяжкості перебігу захворювання, вирішили дослідити співвідношення цих цитокінів у сироватці периферійної крові пацієнтів із короною інфекцією різних ступенів тяжкості з ускладненнями та без них.

Дисоціативний тип цитокінового реагування, виявлений у пацієнтів 3 групи, стан яких у день госпіталізації оцінили як важкий, характеризувався превалюванням прозапальних цитокінів. Це підтверджується вірогідними відмінностями від показників контрольної групи осіб за співвідношенням про- і протизапальних цитокінів на 1 і 10 день перебування у стаціонарі, що спостерігали в пацієнтів цієї групи. Індекс співвідношення ІЛ-6/ІЛ-10 у цих пацієнтів зрушений у бік істотного переважання ІЛ-6 над ІЛ-10. У хворих 1, 2, 4 груп, які мали нормореактивний і гіпореактивний тип цитокінового реагування, превалювання прозапальних цитокінів над протизапальними менш істотне.

Аналіз динаміки співвідношення ІЛ-4 і ІНФγ, що продукуються Т-хелперами 2 та 1 типу відповідно, показав: вони є опосередкованими показниками активності відповідних Т-хелперів. У процесі формування протівірусного імунітету набуває значущості превалювання Th-1 імунної відповіді над Th-2 відповіддю. Це підтверджується суттєвішим превалюванням рівнів ІНФγ над ІЛ-4 у пацієнтів 1 і 3 груп, які не мали

ускладнень, порівняно зі змінами, що реєстрували в пацієнтів 2 і 4 груп, в яких захворювання супроводжувалось розвитком пневмонії. Дані, що одержали, збігаються з результатами дослідження Diane E. Griffin: переважання цитокінів Th-2 після зникнення висипу створює середовище, що сприяє дозріванню В-клітин, а отже розвитку адекватної гуморальної пам'яті, що є необхідною для захисту організму від реінфікування; але поряд із тим пригнічує індукцію Th-1 відповіді, що є необхідною ланкою в боротьбі з можливим приєднанням або активацією вторинної флори [5].

Аналогічні результати отримали K. N. Fantetti et al., які на моделі собак з ураженням мозку, що викликане вірусом кору, довели: відсутність або суттєва нестача ІНФγ призводить до тяжкого ураження нервових стовбурових клітин і незрілих нейронних клітин [10].

Дослідження показало, що розвиток ускладнень і тяжкість перебігу захворювання при коровій інфекції асоціюється з динамікою підвищення рівнів про- і протизапальних цитокінів та динамікою приросту рівнів ІНФα та ІНФγ у сироватці крові. Динаміка збільшення цих факторів у разі тяжкого перебігу захворювання нижча, ніж при середньому ступені тяжкості.

Висновки

1. За результатами дослідження в пацієнтів із кором розрізняли три типи цитокінового реагування: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний, – кожен із них характеризується різним характером реакції цитокінової мережі на корову інфекцію та має прямий зв'язок із тяжкістю перебігу захворювання, ризиком розвитку ускладнень.

2. Розвиток ускладнень, як-от пневмонії, у хворих на кір асоціюється з низькою динамікою підвищення ІНФα та ІНФγ в сироватці крові.

3. У результаті дослідження можна припустити, що у процесі формування протівірусного імунітету важливого значення набуває превалювання Th-1 імунної відповіді над Th-2 відповіддю.

4. Відкритим залишається питання щодо причин розвитку ускладнень, зокрема позагоспітальної пневмонії, в пацієнтів 2 групи, які мали нормореактивний тип цитокінового реагування. Розв'язання цього питання потребує глибшого дослідження стану імунної системи пацієнтів цієї групи.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення типу цитокінового реагування кожного конкретного пацієнта з короною інфекцією може бути корисним для запобігання розвитку тяжкого перебігу захворювання та його ускладнень, а також для вчасного призначення імунокорегувальної терапії.

Фінансування

Робота виконана в рамках НДР Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Роль імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі інфекційного процесу, що викликаний бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та оптимізація засобів лікування» (№ держреєстрації 0117U004874)

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 03.10.2020

Після доопрацювання / Revised: 01.03.2021

Прийнято до друку / Accepted: 05.03.2021

Відомості про авторів:

Веклич К. А., асистент каф. загальної і клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-9826-3316](https://orcid.org/0000-0001-9826-3316)

Попов М. М., д-р мед. наук, професор каф. загальної і клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5759-9654](https://orcid.org/0000-0002-5759-9654)

Лядова Т. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної і клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5892-2599](https://orcid.org/0000-0002-5892-2599)

Мартиненко О. В., д-р фіз.-мат. наук, професор каф. гігієни та соціальної медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-0609-2220](https://orcid.org/0000-0002-0609-2220)

Сорокіна О. Г., канд. мед. наук, доцент каф. загальної і клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6646-544X](https://orcid.org/0000-0001-6646-544X)

Саркіс-Іванова В. В., канд. мед. наук, асистент каф. гігієни та екології № 1, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3953-550X](https://orcid.org/0000-0002-3953-550X)

Information about authors:

Veklych K. A., Assistant of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Popov M. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Liadova T. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Martynenko O. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Hygiene and Social Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Sorokina O. H., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine.

Sarkis-Ivanova V. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Hygiene and Ecology № 1, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Веклич К. А., ассистент каф. общей и клинической иммунологии и алергологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Попов Н. М., д-р мед. наук, профессор каф. общей и клинической иммунологии и алергологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Лядова Т. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. общей и клинической иммунологии и алергологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Мартыненко А. В., д-р физ.-мат. наук, профессор каф. гигиены и социальной медицины, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Сорокина О. Г., канд. мед. наук, доцент каф. общей и клинической иммунологии и алергологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Саркис-Иванова В. В., канд. мед. наук, ассистент каф. гигиены и экологии № 1, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Центр громадського здоров'я МОЗ України. URL : <https://phc.org.ua/search/content?keys=%D0%BA%D1%96%D1%80>
- [2] Measles Virus Host Invasion and Pathogenesis / B. M. Laksono, R. D. de Vries, S. McQuaid et al. *Viruses*. 2016. Vol. 8, Iss. 8. P. 210. <https://doi.org/10.3390/v8080210>
- [3] Naim H. Y. Measles virus: A pathogen, vaccine and a vector. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2015. Vol. 11, Iss. 1. P. 21-26. <https://doi.org/10.4161/hv.34298>
- [4] Корь. Современные представления о возбудителе, клиника, диагностика, профилактика / А. П. Агафонов, Г. М. Игнат'ев, С. А. Пьянков, М. В. Лосев. Новосибирск, 2002. 38 с.
- [5] Griffin D. E. The Immune Response in Measles: Virus Control, Clearance and Protective Immunity. *Viruses*. 2016. Vol. 8, Iss. 10. P. 282. <https://doi.org/10.3390/v8100282>
- [6] Griffin D. E. Measles virus-induced suppression of immune responses. *Immunological reviews*. 2010. Vol. 236. P. 176-189. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00925.x>
- [7] Соловьева А. С. Противовирусный иммунитет. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2015. № 56. С. 113-118.
- [8] Studies into the mechanism of measles-associated immune suppression during a measles outbreak in the Netherlands / B. M. Laksono, R. D. de Vries, R. J. Verburgh et al. *Nature communications*. 2018. Vol. 9, Iss. 1. P. 4944. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07515-0>
- [9] Маркелова Е., Костюшко А., Красников В. Патогенетическая роль нарушенной в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2008. № 3. С. 24-29.
- [10] Interferon gamma protects neonatal neural stem/progenitor cells during measles virus infection of the brain / K. N. Fantetti, E. L. Gray, P. Ganesan et al. *Journal of neuroinflammation*. 2016. Vol. 13, Iss. 1. P. 107. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0571-1>

References

- [1] Ministry of Health of Ukraine. (n.d.). Tsentr hromadskoho zdorovia MOZ Ukrainy [Public Health Center of the Ministry of Health of Ukraine]. <https://phc.org.ua/search/content?keys=%D0%BA%D1%96%D1%80>
- [2] Laksono, B. M., de Vries, R. D., McQuaid, S., Duprex, W. P., & de Swart, R. L. (2016). Measles Virus Host Invasion and Pathogenesis. *Viruses*, 8(8), 210. <https://doi.org/10.3390/v8080210>
- [3] Naim H. Y. (2015). Measles virus. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 11(1), 21-26. <https://doi.org/10.4161/hv.34298>
- [4] Agafonov, A. P., Ignat'ev, G. M., P'yankov, S. A., & Losev, M. V. (2002). Kor'. *Sovremennye predstavleniya o vozбудителе, klinika, diagnostika, profilaktika* [Measles. Modern ideas about the pathogen, clinic, diagnostics, prevention]. Novosibirsk. [in Russian].
- [5] Griffin, D. E. (2016). The Immune Response in Measles: Virus Control, Clearance and Protective Immunity. *Viruses*, 8(10), 282. <https://doi.org/10.3390/v8100282>
- [6] Griffin, D. E. (2010). Measles virus-induced suppression of immune responses. *Immunological reviews*, 236, 176-189. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00925.x>
- [7] Solovieva, S. A. (2015). Protivovirusnyi immunitet [Antiviral immunity]. *Biulleten fiziologii i patologii dykhanii*, (56), 113-118. [in Russian].
- [8] Laksono, B. M., de Vries, R. D., Verburgh, R. J., Visser, E. G., de Jong, A., Fraaij, P., Ruijs, W., Nieuwenhuijse, D. F., van den Ham, H. J., Koopmans, M., van Zelm, M. C., Osterhaus, A., & de Swart, R. L. (2018). Studies into the mechanism of measles-associated immune suppression during a measles outbreak in the Netherlands. *Nature communications*, 9(1), 4944. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07515-0>
- [9] Markelova, E., Kostyushko, A., & Krasnikov, V. (2008). Patogeneticheskaya rol' narushenii v sisteme tsitokinov pri infektsionno-vospalitel'nykh zabolevaniyakh [Pathogenetic role of the in cytokine system changes at infectious and inflammatory diseases]. *Pacific Medical Journal*, (3), 24-29. [in Russian].
- [10] Fantetti, K. N., Gray, E. L., Ganesan, P., Kulkarni, A., & O'Donnell, L. A. (2016). Interferon gamma protects neonatal neural stem/progenitor cells during measles virus infection of the brain. *Journal of neuroinflammation*, 13(1), 107. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0571-1>

Лабораторні ознаки мальабсорбції вуглеводів у дітей раннього віку з ротавірусною інфекцією

Н. В. Воробйова *^{B,C,D}, О. В. Усачова ^{A,E,F}

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:

ротавірусна інфекція, синдром мальабсорбції вуглеводів, мальабсорбція лактози, діти раннього віку.

Патологія. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 72-79

*E-mail:

Natahich1981988@gmail.com

Мета роботи – з'ясувати лабораторні прояви синдрому мальабсорбції вуглеводів у динаміці ротавірусної інфекції (РВІ) в дітей раннього віку та виявити фактори, що впливають на його виразність.

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 60 дітей віком 1–24 місяці з ротавірусною інфекцією при грудному вигодовуванні, яким на 2–3, 5, 7, 10 добу хвороби виконали рН-метрію калу, напівкількісно визначили загальний рівень вуглеводів (методом Бенедикта), лактози (методом Мальфатті) та глюкози (тест-системами Глюкофан) у фекаліях.

Результати. Синдром мальабсорбції вуглеводів виявили у 98,3 % пацієнтів. Рівень вуглеводів калу, підвищуючись уже на 2–3 добу до клінічно значущого 0,50 [0,20; 1,50] %, досягав максимальних показників у розпал хвороби – з 5 до 7 доби (0,75 [0,50; 1,65] % та 0,87 [0,40; 1,65] % відповідно) і знижувався в період реконвалесценції до 0,50 [0,20; 1,50] % ($p < 0,05$ щодо 10 доби), але залишався підвищеним у 81,7 % хворих ($p < 0,05$ щодо здорових). Протягом усього періоду РВІ спостерігали лактазну недостатність і мальабсорбцію глюкози ($p < 0,05$ щодо здорових). На всіх етапах РВІ визначали сильний прямий кореляційний зв'язок між загальним рівнем вуглеводів і лактозою у фекаліях (на 2–3, 5, 7 та 10 добу $r = 0,91$, $r = 0,86$, $r = 0,91$, $r = 0,89$ відповідно). Встановили вікову залежність виразності лабораторних показників мальабсорбції вуглеводів. Діти перших 6 місяців життя мали найвищі максимальні рівні вуглеводів і лактози калу – 1,75 [1,00; 2,00] % і 3,50 [2,00; 4,00] + відповідно ($p < 0,05$ щодо дітей віком 12–24 міс.) та вірогідно вищі значення цих показників у динаміці ротавірусної інфекції ($p < 0,05$ щодо показників дітей віком 12–24 місяці на 2–3, 5 та 10 добу). Діти з супутньою харчовою алергією, атопічним дерматитом і залізодефіцитною анемією мали вищі у 2,0 та 1,5 рази ($p < 0,05$) максимальні рівні вуглеводів і лактози в калі, а також більші значення цих показників у динаміці хвороби – на 3 та 5 добу ($p < 0,05$).

Висновки. Абсолютна більшість хворих раннього віку з ротавірусною інфекцією має синдром мальабсорбції вуглеводів, що виникає з перших діб хвороби та має максимальну виразність на 5–7 добу ($p < 0,05$ щодо 10 доби), реалізуючись передусім шляхом лактазної недостатності. Найвиразніший синдром мальабсорбції вуглеводів і лактазну недостатність в динаміці хвороби мають діти перших 6 місяців життя. Факторами, що збільшують виразність мальабсорбції вуглеводів шляхом вторинної лактазної недостатності в гострий період ротавірусної інфекції, є супутня харчова алергія, атопічний дерматит і залізодефіцитна анемія.

Key words:

rotavirus infection, carbohydrate malabsorption syndrome, lactase intolerance, early age children.

Pathologia 2021; 18 (1), 72-79

Laboratory signs of carbohydrate malabsorption in early age children with rotavirus infection

N. V. Vorobiova, O. V. Usachova

The aim – to determine the laboratory manifestations of carbohydrate malabsorption syndrome in the dynamics of rotavirus infection in early age children and to identify the factors that influence its severity.

Materials and methods. The study included 60 breastfed children aged 1–24 months with rotavirus infection, who underwent pH-metry of feces, semi-quantitative determination of total carbohydrates (Benedict's method), lactose (Malfatti method) and glucose (test systems Glucophan) in feces on the 2nd, 3rd, 5th, 7th and 10th days of the disease.

Results. Carbohydrate malabsorption syndrome was observed in 98.3% of patients. The level of fecal carbohydrates increased on the second-third day to a clinically significant 0.50 [0.20; 1.50] %, reached its maximum in the midst of the disease – from the fifth to the seventh day (0.75 [0.50; 1.65] % and 0.87 [0.40; 1.65] %, respectively), decreasing during convalescence to 0.50 [0.20; 1.50] % ($P < 0.05$ relative to the 10th day), but remained elevated in 81.7 % of patients ($P < 0.05$ relative to healthy children). Lactase deficiency and glucose malabsorption ($P < 0.05$ relative to healthy children) were observed throughout the RVI period. At all stages of RVI there was a strong direct correlation between the total level of carbohydrates and lactose in the feces (on the second, third, fifth, seventh and tenth days $r = 0.91$; $r = 0.86$; $r = 0.91$; $r = 0.89$, respectively). The age dependence of the severity of laboratory indicators of carbohydrate malabsorption was established. Children in the first 6 months had the highest maximum levels of carbohydrates and fecal lactose – 1.75 [1.00; 2.00] % and 3.50 [2.00; 4.00] + respectively ($P < 0.05$ relative to 12–24 months children) and significantly higher values of these indicators in the dynamics of RVI ($P < 0.05$ relative to 12–24 months children) for the second-third, fifth and the tenth day). Children with concomitant food allergies, atopic dermatitis and iron deficiency anemia had 2.0 and 1.5 times higher maximum levels of carbohydrates and lactose in the stool, respectively ($P < 0.05$), as well as higher values of these indicators in the dynamics of the disease – on the third and fifth days ($P < 0.05$).

Conclusions. The vast majority of young patients with rotavirus infection have carbohydrate malabsorption syndrome, which occurs from the first days of the disease and is most pronounced on the fifth to seventh day ($P < 0.05$ relative to the 10th

day), realized mainly due to lactase deficiency. The most pronounced carbohydrate malabsorption syndrome and lactase deficiency in the dynamics of the disease are present in children of the first six months of life. Factors that increase the severity of carbohydrate malabsorption due to secondary lactase deficiency in the acute period of rotavirus infection are concomitant food allergies, atopic dermatitis and iron deficiency anemia.

Лабораторные признаки мальабсорбции углеводов у детей раннего возраста с ротавирусной инфекцией

Н. В. Воробьёва, Е. В. Усачёва

Цель работы – выяснить лабораторные проявления синдрома мальабсорбции углеводов в динамике ротавирусной инфекции (РВИ) у детей раннего возраста и определить факторы, влияющие на его выраженность.

Материалы и методы. В исследование включили 60 детей в возрасте 1–24 месяца с ротавирусной инфекцией при грудном вскармливании, которым на 2–3, 5, 7, 10 сутки болезни провели рН-метрию кала, полуколичественное определение общего уровня углеводов (методом Бенедикта), лактозы (методом Мальфатти) и глюкозы (тест-системами Глюкофан) в кале.

Результаты. Синдром мальабсорбции углеводов отмечен у 98,3 % пациентов. Уровень углеводов кала, повышаясь уже на 2–3 сутки до клинически значимого 0,50 [0,20; 1,50] %, достигал максимальных показателей в разгар болезни – с 5 по 7 сутки (0,75 [0,50; 1,65] % и 0,87 [0,40; 1,65] % соответственно) и снижался в период реконвалесценции до 0,50 [0,20; 1,50] % ($p < 0,05$ относительно 10 дня), однако оставался повышенным у 81,7 % больных ($p < 0,05$ относительно здоровых). В течение всего периода РВИ отмечали лактазную недостаточность и мальабсорбцию глюкозы ($p < 0,05$ относительно здоровых). На всех этапах РВИ отмечена сильная прямая корреляционная связь между общим уровнем углеводов и лактозой в кале (на 2–3, 5, 7, 10 сутки $r = 0,91$, $r = 0,86$, $r = 0,91$, $r = 0,89$ соответственно). Установлена возрастная зависимость выраженности лабораторных показателей мальабсорбции углеводов. Дети первых 6 месяцев жизни имели наивысшие максимальные уровни углеводов и лактозы в кале – 1,75 [1,00; 2,00] % и 3,50 [2,00; 4,00] + соответственно ($p < 0,05$ относительно детей в возрасте 12–24 месяца) и достоверно более высокие значения этих показателей в динамике РВИ ($p < 0,05$ относительно детей в возрасте 12–24 месяца на 2–3, 5 и 10 сутки). Дети с сопутствующей пищевой аллергией, атопическим дерматитом и железодефицитной анемией имели в 2,0 и 1,5 раза более высокие максимальные уровни углеводов и лактозы в кале ($p < 0,05$), а также более высокие значения этих показателей в динамике болезни – на 3 и 5 сутки ($p < 0,05$).

Выводы. У абсолютного большинства детей раннего возраста с ротавирусной инфекцией отмечен синдром мальабсорбции углеводов, возникающий с первых суток болезни и максимально выраженный на 5–7 сутки ($p < 0,05$ относительно 10 дня), который реализуется в большей мере за счет лактазной недостаточности. Наиболее выраженный синдром мальабсорбции углеводов и лактазную недостаточность в динамике болезни имеют дети первых 6 месяцев жизни. Факторы, усугубляющие мальабсорбцию углеводов за счет вторичной лактазной недостаточности в острый период ротавирусной инфекции, – сопутствующие пищевая аллергия, атопический дерматит и железодефицитная анемия.

Ключевые слова: ротавирусная инфекция, синдром мальабсорбции углеводов, мальабсорбция лактозы, дети раннего возраста.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 72-79

Діарейні захворювання – серйозна проблема для системи охорони здоров'я та провідна причина дитячої смертності, особливо у країнах із низьким рівнем доходів, становлячи у світі 8 % усіх смертей дітей до п'яти років життя [1,2].

Ротавірусна інфекція (РВІ) – основна причина тяжких дегідратувальних гастроентеритів у дітей раннього віку [3,5]. Незважаючи на впровадження вакцинації проти ротавірусу, за даними ВООЗ, призводить до понад 200 000 смертей щороку [4].

Діарея, що викликана ротавірусом, має незапальний характер і включає два патогенетичні механізми розвитку: осмотичний і секреторний [6]. Секреторний компонент реалізується індукцією NSP4-ентеротоксину ротавірусу фосфоліпази С, що спричиняє підвищення рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+} , активує кальцій-залежні хлоридні канали на мембрані ентероциту, викликаючи надмірну секрецію Cl^- і Na^+ у просвіт кишечника, а також NSP4-індукованою секрецією 5-гідрокситриптаміну (5-HT) ентероендокринними клітинами ворсинок, який, посилюючи перистальтику кишечника, стимулює вивільнення вазоактивного кишкового пептиду (VIP), що зумовлює розвиток секреторної діареї через підвищення рівня цАМФ і секреції $NaCl$, води у просвіт кишківника [6,7].

Осмолярний механізм ротавірусної діареї пов'язаний із розвитком синдрому вторинної мальабсорбції вуглеводів, що складається з двох компонентів: дисахаридазної недостатності та порушення абсорбції моносахаридів у тонкому кишечнику. Дисахаридазна недостатність виникає через інгібування NSP4-протеїном ротавірусу ферменту лактази-флоризин гідролази щіткової облямівки ентероцитів, який гідролізує лактозу до моносахаридів (глюкози та галактози) та пригнічення функціональної активності сахарозо-ізомальтазного комплексу, що врешті призводить до накопичення дисахаридів у просвіті кишечника [6]. В основі зниження абсорбційної функції кишкового епітелію лежать такі механізми: втрата інфікованих ентероцитів ворсинок та опосередковане NSP4-протеїном зниження активності симпортерів, пов'язаних із натрієм, які беруть участь у реабсорбції великих об'ємів води у фізіологічних умовах (головним чином, SGLT-1 ко-транспортера Na^+ -D-глюкози). Отже, відбувається накопичення олігосахаридів у кишковому люмені, а це призводить до осмолярної діареї [6,8].

Зважаючи на високу поширеність і здебільшого тяжкий перебіг ротавірусного гастроентериту в дітей раннього віку, виникає необхідність поглибленого

вивчення його патогенетичних механізмів. Особливої уваги потребує вивчення синдрому мальабсорбції вуглеводів у дітей цієї вікової категорії, оскільки молоко та молочні продукти – основа їхнього раціону. Дисахарид лактози становить 80–85 % грудного молока та є найважливішим нутрієнтом у ранньому віці [9]. У сучасних фахових літературних джерелах, присвячених вивченню лактазної недостатності та синдрому мальабсорбції вуглеводів на тлі РВІ в дітей раннього віку, є доволі суперечливі дані щодо частоти його виникнення [10,11].

Деякі вітчизняні вчені досліджували особливості перебігу РВІ в дітей раннього віку залежно від варіанта алельного поліморфізму С > Т 13910 гена лактази, але без визначення основних лабораторних параметрів мальабсорбції вуглеводів і лактазної недостатності (загальна кількість вуглеводів, лактози у фекаліях, рН фекалій) [12,13]. Крім того, в жодній доступній роботі не знайшли опису ступеня виразності порушення метаболізму вуглеводів у кишечнику в динаміці РВІ та тривалості цих порушень. На нашу думку, дослідження саме цих аспектів РВІ в дітей раннього віку є дуже важливим і актуальним, оскільки дасть змогу визначити оптимальну патогенетичну терапію.

Мета роботи

З'ясувати лабораторні прояви синдрому мальабсорбції вуглеводів у динаміці ротавірусної інфекції в дітей раннього віку та виявити фактори, що впливають на його виразність.

Матеріали і методи дослідження

У відкрите проспективне дослідження залучили 90 дітей віком 1–24 місяці, які були на грудному вигодуванні. Малюків поділили на основну групу та групу порівняння.

В основну групу включили 60 дітей із РВІ, які протягом перших трьох діб від початку хвороби госпіталізовані в дитяче кишкове відділення КНП «Обласна інфекційна клінічна лікарня» ЗОР, де отримували стаціонарне лікування. РВІ підтверджено виявленням антигена ротавірусу у фекаліях імунохроматографічним методом із використанням тест-систем СІТО TEST ROTA.

Критерії виключення пацієнтів із дослідження: вік дітей до 1 місяця та понад 24 місяці, госпіталізація пізніше третьої доби хвороби, наявність вродженої та/чи хронічної патології шлунково-кишкового тракту, наявність вродженого та набутого імунодефіциту, виділення з фекалій патогенної кишкової флори, відсутність інформованої згоди батьків на участь у дослідженні.

За віком дітей поділили на три підгрупи: до 6 місяців ($n = 14, 23,3 \%$), 6–12 місяців ($n = 18, 30,0 \%$) та 12–24 місяці ($n = 28, 46,7 \%$). Хлопці становили 63,3 % ($n = 38$), дівчата – 36,7 % ($n = 22$).

Тяжкість перебігу ротавірусного гастроентериту в дітей визначали за шкалою Везикарі, за якою 70,0 % дітей мали тяжкий перебіг хвороби, 23,3 % – середньої тяжкості, 6,7 % – легкий.

Серед коморбідних патологій фіксували залізодефіцитну анемію (ЗДА) легкого та середнього ступенів тяжкості (у 27 дітей), харчову алергію (ХА), atopічний дерматит (АД) (у 20 дітей), білково-енергетичну недостатність (БЕН) легкого ступеня (у 2 дітей), ГРЗ протягом останніх двох місяців (8 дітей) і вроджені вади серця (в 4 дітей).

У групу порівняння включили репрезентативних за віком і статтю 30 малюків без діареї та інших клінічних ознак синдрому мальабсорбції вуглеводів.

Для реалізації мети дослідження, крім загальноприйнятого клініко-лабораторного обстеження пацієнтів з інфекційною діареєю, всім дітям основної групи в динаміці (на 2–3, 5, 7 та 10 добу хвороби) і дітям групи порівняння одноразово вимірювали рН фекалій і напівкількісно визначали загальний рівень вуглеводів, глюкози та лактози у фекаліях. Показники мальабсорбції вуглеводів визначали в копрофільтратах, що готували зі свіжозібраних чи заморожених фекалій. Визначення рН калу виконали за допомогою універсального іономіра ЭВ-74.

Методом Бенедикта визначили загальний рівень екскретованих вуглеводів, що здатні відновлювати мідь зі стану Cu^{2+} до Cu^+ (глюкоза, галактоза, лактоза, фруктоза, мальтоза). Метод дає змогу визначити сумарне порушення розщеплення дисахаридів та абсорбції моносахаридів ентероцитами тонкого кишківника [14,15].

Для визначення динамічних змін лактазної недостатності та порушень абсорбції моносахаридів визначали рівень лактози та глюкози у фекаліях. Рівень екскретованої лактози встановили за допомогою проби Мальфатті, заснованої на здатності лактози з аміаком у лужному середовищі під час нагрівання утворювати забарвлені речовини. Результат оцінювали за модифікованою кольоровою шкалою, створеною заздалегідь: відсутність зміни кольору «0» – відсутність лактози, світло-жовтий «+» – 0,2–0,4 % лактози, колір кленового сиропу «++» – 0,5–1,0 % лактози; колір червоного бурштину «+++» – 1,1–1,5 %; рубіновий колір «++++» – 2 % і більше лактози. Рівень глюкози визначали за допомогою тест-систем Глюкофан виробництва компанії Erba Lachema (Чеська Республіка).

У терапії малюків додатково не застосовували препарати лактази, жодна дитина не була переведена на низьколактозну чи безлактозну суміш.

Статистичну обробку даних виконали з використанням сформованої бази даних пацієнтів у програмі Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., №JPZ8041382130ARCN10-J). Нормальність розподілу у вибірках визначали з використанням показників ексцесу та асиметрії. Через відхилення від нормального закону розподілу для опрацювання результатів використовували методику непараметричної статистики. Кількісні значення наведені як медіана (Me) та міжквартильний розмах (IQR: $Q_{25}-Q_{75}$). Для оцінювання вірогідності відмінностей між кількісними ознаками у двох незалежних групах використовували критерій Манна–Вітні. Для порівняння понад двох груп застосовували тест Крускала–Волліса. Для порівняння показників у динаміці хвороби використовували критерій Вілкоксона для двох залежних груп. Статистичну

значущість різниці між групами для порівняння частотних характеристик визначали за допомогою критерію χ^2 . Як рівень статистичної вірогідності визначили $p < 0,05$. Для аналізу спрямованості та сили зв'язку між кількісними показниками використовували метод кореляційного аналізу з обчисленням коефіцієнта кореляції Спірмена (ρ).

Результати

Синдром мальабсорбції вуглеводів визначили в абсолютній більшості дітей із РВІ – 98,3 % пацієнтів мали підвищені показники проби Бенедикта протягом хвороби порівняно зі здоровими дітьми відповідного віку. Виразність цього синдрому різна в динаміці захворювання. На *рис. 1* показано, що в загальній групі рівень вуглеводів у фекаліях уже на 2–3 добу хвороби підвищувався до 0,50 [0,20; 1,50] %, у 3,33 раза перевищував показники здорових дітей. Найвищі значення проби Бенедикта фіксували в розпал хвороби, з 5 до 7 доби – 0,75 [0,50; 1,65] % та 0,87 [0,40; 1,65] % відповідно, зниження показників фіксували в періоді реконвалесценції – до 0,50 [0,20; 1,50] %. Відзначимо, що на всіх етапах РВІ діти мали вірогідно вищі рівні екскретованих вуглеводів, ніж здорові ($p < 0,05$). Крім того, навіть на 10 день РВІ у 81,7 % хворих кількість відновлювальних цукрів у фекаліях не досягла нормальних значень, перевищуючи їх більш ніж утричі.

Аналіз концентрації лактози у фекаліях дітей із РВІ (*табл. 1*) показав, що її рівень підвищувався вже в перші дні захворювання та протягом 10 днів залишався вірогідно вищим, ніж у дітей групи порівняння. Це свідчило про ранній розвиток лактазної недостатності та збереження цього синдрому протягом усього періоду хвороби ($p < 0,05$). Лактазна недостатність мала максимальну виразність із 5 до 7 доби РВІ, про що свідчило максимальне підвищення рівня екскретованої лактози в ці терміни – 2,00 [1,00; 3,00] +. У періоді реконвалесценції рівень лактози у фекаліях вірогідно знижувався до 1,00 [1,00; 3,00] +, що еквівалентно 0,2–0,4 % лактози ($p < 0,05$), але залишався підвищеним у 81,7 % дітей щодо показників у здорових. Встановили сильний пряий кореляційний зв'язок між загальним рівнем вуглеводів у фекаліях і рівнем у них лактози на 2–3, 5, 7 та 10 добу хвороби ($r = 0,91$, $r = 0,86$, $r = 0,91$, $r = 0,89$ відповідно).

Протягом усього періоду РВІ не визначали наявності кореляційних зв'язків між рівнем екскретованих цукрів і глюкози в калі. Підвищення рівня глюкози зафіксували в 90 % (50 дітей) основної групи. На початку хвороби її рівень у фекаліях зростав до 2,00 [0,00; 4,00] +, знижувався вдвічі на 5 добу та залишався майже на тому самому рівні протягом усього періоду РВІ без значущої різниці показників у динаміці, але вірогідно перевищував на всіх етапах хвороби рівень екскретованої глюкози у здорових дітей (*табл. 1*).

Кислотність фекалій на всіх етапах РВІ вірогідно нижча щодо показника здорових дітей цього віку ($p < 0,05$ на 3, 5, 7 та 10 добу) (*табл. 1*), набуваючи різко кислих значень у 66,7 % дітей протягом хвороби, максимально знижувалася до 5,25 [4,92; 5,60]. Максимальне зниження рН у кожної дитини з

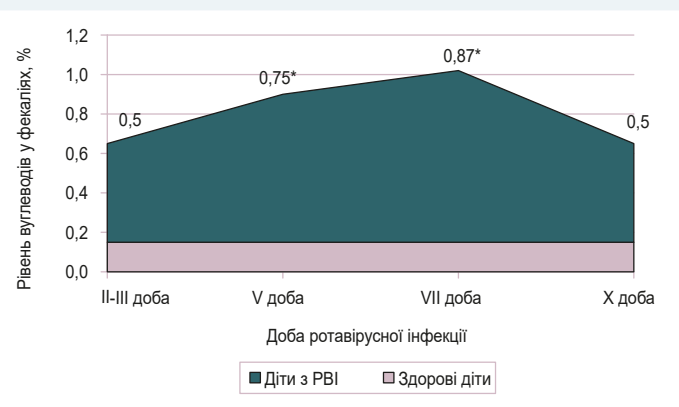


Рис. 1. Динамічні зміни рівня вуглеводів у фекаліях дітей раннього віку з РВІ.

*: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показника за критерієм Вілкоксона щодо 10 доби.

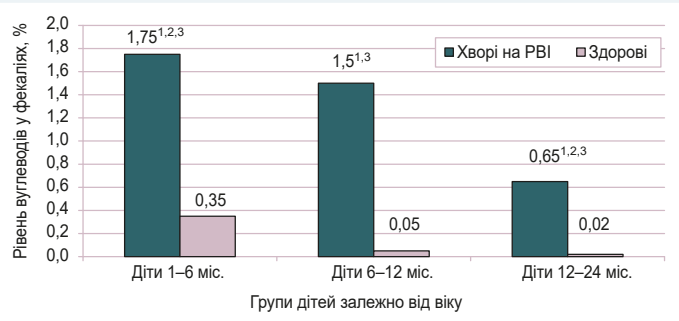


Рис. 2. Порівняльне оцінювання максимального рівня вуглеводів у фекаліях дітей різних вікових груп на тлі РВІ та здорових дітей.

1: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників дітей віком 1–6 місяців, 6–12 місяців і 12–24 місяці за критерієм Крускала–Волліса; 2: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників у групах 1–6 місяців і 12–24 місяці за критерієм Манна–Вітні; 3: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників дітей із РВІ та здорових дітей за критерієм Манна–Вітні.

РВІ відбувалося в різні строки хвороби без значущої різниці показників у динаміці.

Враховуючи відомості про різну вікову фізіологічну забезпеченість лактазою дітей раннього віку, оцінили лабораторні зміни при РВІ в різних вікових групах (*рис. 2*).

Встановили статистично значущі відмінності лабораторних показників мальабсорбції вуглеводів у пацієнтів із РВІ залежно від віку ($p < 0,05$). Так, хворі перших 6 місяців життя мали найвищі максимальні значення проби Бенедикта протягом хвороби, що у 2,7 раза перевищували цей показник у дітей віком 12–24 місяці ($p < 0,05$); максимальні рівні лактози у фекаліях досягали 3,50 [2,00; 4,00] + у цій віковій групі, що в 1,75 раза перевищувало показник дітей другого року життя ($p < 0,05$) (*табл. 2*).

За даними, що наведені в *таблиці 2*, найістотніша різниця показників проби Бенедикта між віковими групами визначена на початку хвороби: діти перших 6 місяців життя мали найвищі рівні екскреції відновлювальних цукрів, що в 1,75 і 3,5 раза були вищими за показники дітей віком 6–12 місяців і понад 1 рік (на 3 добу, $p < 0,01$). У розпал РВІ спостерігали збереження цієї тенденції, але з вірогідною різницею значень тільки у вікових групах 1–6 місяців і 12–24 місяці на

Таблиця 1. Динаміка основних лабораторних показників синдрому мальабсорбції вуглеводів у дітей із РВІ, Ме [Q₂₅; Q₇₅]

Діти з РВІ (n = 60)		рН фекалій	Проба Бенедикта, %	Лактоза фекалій, «+»	Глюкоза фекалій, «+»
Доба хвороби	3 доба	5,75 [5,15; 6,20] ²	0,50 [0,20; 1,50] ²	1,00 [1,00; 3,00] ²	2,00 [0,00; 4,00] ²
	5 доба	5,68 [5,10; 6,20] ²	0,75 [0,50; 1,65] ^{1,2}	2,00 [1,00; 3,00] ^{1,2}	1,00 [0,00; 3,00] ²
	7 доба	5,51 [5,24; 6,70] ²	0,87 [0,40; 1,65] ^{1,2}	2,00 [1,00; 3,00] ^{1,2}	1,50 [1,00; 3,00] ²
	10 доба	5,60 [5,30; 6,01] ²	0,50 [0,20; 1,50] ²	1,00 [1,00; 3,00] ²	1,00 [0,00; 2,00] ²
Здорові діти (n = 30)		5,94 [5,39; 7,20]	0,15 [0,00; 0,20]	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]

¹: p < 0,05 – вірогідна різниця показників за критерієм Вілкоксона щодо 10 доби; ²: p < 0,05 – вірогідна різниця показників за критерієм Манна–Вітні порівняно зі здоровими дітьми.

Таблиця 2. Динамічні зміни рівня вуглеводів і лактози фекалій дітей із РВІ різних вікових груп, Ме [Q₂₅; Q₇₅]

Показник, одиниці вимірювання		Вік		
		1–6 місяців (n = 14)	6–12 місяців (n = 18)	12–24 місяці (n = 28)
Проба Бенедикта, %	3 доба	1,70 [0,95; 2,00] ^{1,2}	1,00 [0,20; 1,50] ¹	0,50 [0,20; 0,75] ^{1,2,4}
	5 доба	1,50 [0,50; 1,75] ²	1,00 [0,50; 1,65]	0,50 [0,50; 1,00] ^{2,4}
	7 доба	1,25 [0,70; 1,70]	1,00 [0,40; 1,65] ⁴	0,40 [0,20; 1,65]
	10 доба	1,00 [0,50; 1,50] ^{1,2}	0,62 [0,40; 1,50] ^{1,4}	0,40 [0,20; 0,65] ^{1,2}
	Макс.	1,75 [1,00; 2,00] ^{1,2}	1,50 [0,50; 1,65] ¹	0,65 [0,50; 1,65] ^{1,2}
	Здорові діти	0,35 [0,15; 0,50]	0,05 [0,00; 0,20]	0,02 [0,00; 0,15]
Лактоза фекалій, «+»	3 доба	4,00 [2,00; 4,00] ^{1,2}	2,00 [1,00; 3,00] ¹	1,00 [0,00; 2,00] ^{1,2,4}
	5 доба	2,00 [1,00; 4,00] ¹	2,50 [1,00; 4,00] ^{1,3}	1,00 [1,00; 2,00] ^{1,3,4}
	7 доба	2,50 [1,50; 4,00]	2,00 [1,00; 3,00]	1,00 [1,00; 2,00]
	10 доба	2,00 [1,00; 3,00]	2,00 [1,00; 3,00]	1,00 [1,00; 2,00]
	Макс.	3,50 [2,00; 4,00] ^{1,2}	3,00 [2,00; 4,00] ^{1,3}	2,00 [1,00; 3,00] ^{1,2,3}
	Здорові діти	0,00 [0,00; 1,00]	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]

1: p < 0,05 – вірогідна різниця показників дітей віком 1–6 місяців, 6–12 місяців і 12–24 місяці за критерієм Крускала–Волліса; **2:** p < 0,05 – вірогідна різниця показників дітей віком 1–6 місяців і 12–24 місяці за критерієм Манна–Вітні; **3:** p < 0,05 – вірогідна різниця показників дітей віком 6–12 місяців і 12–24 місяці за критерієм Манна–Вітні; **4:** p < 0,05 – вірогідна різниця показників за критерієм Вілкоксона.

5 добу (p < 0,05). У реконвалесцентному періоді в жодній дитині перших 6 місяців життя нормалізацію показника проби Бенедикта не зафіксували, на 10 добу хвороби він залишався на високому рівні та становив 1,0 [0,5; 1,5] проти 0,6 [0,4; 1,5] % і 0,4 [0,2; 0,7] % у дітей віком 6–12 місяців і другого року життя відповідно (p < 0,05 на 10 добу).

Таку закономірність визначили і для рівня екскретованої лактози, який був вищим у дітей, які молодші за віком. Так, у гострому періоді РВІ фіксували вірогідну різницю показників нерозщепленої лактози в калі дітей названих вікових груп (p < 0,01 і p < 0,05 на 3 та 5 добу відповідно). У період реконвалесценції рівень екскретованої лактози в дітей першого року життя вдвічі вищий, ніж у дітей другого року та становив 2,00 [1,00; 3,00;] + проти 1,00 [1,00; 2,00;] + відповідно, але без статистично значущої різниці (табл. 2). Протягом усього періоду хвороби загальна кількість вуглеводів, лактози та глюкози в калі в усіх вікових групах дітей вірогідно перевищувала відповідні показники здорових дітей, репрезентативних за віком.

Характеризуючи динаміку виразності мальабсорбції вуглеводів у пацієнтів різних вікових категорій, треба відзначити, що діти перших 6 місяців життя саме на початку РВІ мали найвищі показники проби Бенедикта (1,70 [0,95; 2,00] %), що поступово знижувалися протягом усього періоду хвороби і становили 1,00 [0,50; 1,50] % на 10 добу, але без статистично значущої різниці (рис. 3). У дітей другого пів року життя загальна кількість екскретованих вуглеводів становила 1,00 [0,20; 1,50] % у перші дні РВІ, залишаючись на цьому рівні протягом усього тижня та вірогідно знижуючись в 1,6 раза тільки на 10 добу хвороби (p < 0,05), але

перевищувала клінічно значущий поріг у 0,5 %. У дітей віком 12–24 місяці максимальні рівні екскретованих вуглеводів визначили в розпал хвороби – 0,50 [0,50; 1,00] %, поступове зниження до мінімальних значень 0,40 [0,20; 0,65] % визначили на 10 добу. Тобто тільки у групі дітей, які старші від дітей першого року життя, показник проби Бенедикта в реконвалесцентний період набував значень, що менші за клінічно вагомий (≥0,5 %), але залишався вірогідно вищим, ніж у здорових дітей цього віку (p < 0,01).

Проаналізували додаткові фактори ризику порушення метаболізму вуглеводів у кишечнику дітей із РВІ. Виявилось, що хворі з обтяженим преморбідним тлом мали виразніші зміни лабораторних показників синдрому мальабсорбції в динаміці хвороби. Найбільший вплив мали такі коморбідні патології, як ЗДА, ХА та АД (рис. 4). У дітей без цих преморбідних станів максимальний рівень екскретованих вуглеводів становив 0,70 [0,50; 1,50] %, тобто у 2,5 раза менше, ніж у хворих із ЗДА та алергією в анамнезі (p < 0,05). У дітей із ХА та АД встановили вірогідно вищі показники мальабсорбованих цукрів саме в гострий період РВІ (з 3 до 5 доби хвороби) – 1,50 [0,65; 1,87] % та 1,65 [0,62; 1,75] % відповідно, що в 3,0 та 3,3 раза перевищували показники дітей без алергії в анамнезі (p < 0,01; p < 0,05 відповідно). Хворі на ЗДА також мали вірогідно вищі значення проби Бенедикта саме в ці терміни хвороби – 1,00 [0,20; 1,75] % та 1,5 [0,75; 1,65] % проти 0,50 [0,17; 1,00] % та 0,50 [0,40; 1,12] % у хворих без ЗДА (p < 0,01; p < 0,05 відповідно).

Встановили аналогічну закономірність щодо різниці рівнів екскретованої лактози в калі дітей із названими коморбідними патологіями та без них у гострий період

РВІ (табл. 3). Так, за наявності ХА та АД на 3 і 5 добу хвороби значення проби Мальфатті становило 3,00 [1,50; 4,00] + та 2,50 [1,50; 4,00] + в 3,0 і 2,5 рази перевищуючи показник хворих без алергії ($p < 0,01$; $p < 0,05$ відповідно). У дітей із ЗДА в ці терміни РВІ рівень лактози у фекаліях був удвічі та втричі вищий, ніж у хворих без ЗДА – 2,00 [1,0; 4,00] + та 3,00 [2,00; 3,00] + проти 1,00 [0,0; 2,00] + та 1,00 [1,00; 2,00] + відповідно ($p < 0,01$; $p < 0,05$ відповідно). У періоді реконвалесценції хвороби спостерігали тільки тенденцію до підвищення рівня екскретованих цукрів і лактози в калі дітей з обтяженим преморбідним тлом, але без статистично значущої різниці показників. Ступінь екскреції глюкози з калом у пацієнтів із коморбідною патологією та без неї статистично не відрізнявся протягом усього періоду РВІ. Це вказує на відсутність істотного впливу цих факторів ризику на процес абсорбції моносахаридів ентероцитами тонкого кишечника. Підвищення загальної кількості цукрів калу переважно внаслідок збільшення лактози у хворих на ХА, АД і ЗДА вказувало на їхній найбільший вплив саме на лактазну недостатність.

Наведені обтяжливі фактори впливали на виразність синдрому мальабсорбції незалежно один від одного, адже між ними не встановили вірогідний зв'язок (коефіцієнт асоціації $< 0,5$).

Обговорення

У сучасних наукових роботах, присвячених вивченню синдрому мальабсорбції вуглеводів у дітей раннього віку з ротавірусним гастроентеритом, наведені відомості про частоту виявлення цього синдрому, що суттєво відрізняються. Так, за даними О. Р. Мескіної, підвищені рівні вуглеводів у фекаліях мали 63–82 % дітей раннього віку, і тільки хворі з обтяженим преморбідним тлом (кишкові дисфункції в анамнезі, ГРВІ або гостра кишкова інфекція за останні 1–2 місяці та попередня госпіталізація у стаціонар). Діти без таких анамнестичних даних мали нормальні показники проби Бенедикта при РВІ [10]. В іншому дослідженні порушення метаболізму вуглеводів у кишечнику виявили в 91,7 % дітей, але клінічно значущі рівні вуглеводів мали тільки 75,1 % хворих [11]. За нашими даними, мальабсорбцію олігосахаридів при ротавірусному гастроентериті спостерігали майже в усіх хворих – 98,3 %, але з максимальним ступенем виразності лише на 5–7 добу хвороби. На нашу думку, це пояснює нижчі показники в названих дослідженнях, де визначення вуглеводів калу здійснювали одноразово в перші дні РВІ, а їхній рівень може підвищуватися в пізніші терміни хвороби.

Результати, що одержали, майже збігаються з даними Н. Д. Денисюк щодо реалізації мальабсорбції вуглеводів не тільки внаслідок лактазної недостатності, але і через порушення всмоктування моносахаридів ентероцитами тонкої кишки. Більшість (60,5 %) дітей із помірним і виразним порушенням метаболізму вуглеводів у кишечнику мали змішану форму мальабсорбції, 34,8 % – мальабсорбцію внаслідок дисахаридазної недостатності, менше ніж 5 % – тільки порушення всмоктування глюкози [11]. У нашому дослідженні порушення розщеплення лактози (96,7 %) та мальабсорбцію моносахаридів

Таблиця 3. Порівняння максимальних значень показників синдрому мальабсорбції вуглеводів у дітей, що зафіксовані протягом РВІ, залежно від наявності коморбідної патології, Ме [Q₂₅; Q₇₅]

Коморбідна патологія		Загальний рівень вуглеводів калу, «%»	Лактоза фекалій, «+»
ВВС	«+» (n = 6)	1,00 [0,65; 2,00]	2,00 [1,00; 4,00]
	«-» (n = 54)	1,25 [0,50; 1,75]	2,00 [1,00; 3,00]
ГРЗ в анамнезі (за останні 2 міс.)	«+» (n = 8)	1,25 [0,40; 1,70]	2,00 [1,00; 3,00]
	«-» (n = 52)	1,25 [0,50; 2,00]	2,00 [1,00; 4,00]
ХА та АД	«+» (n = 20)	1,75 [1,65; 2,00] ²	3,00 [2,00; 4,00] ¹
	«-» (n = 40)	0,70 [0,50; 1,50]	2,00 [1,00; 3,00]
ЗДА	«+» (n = 27)	1,65 [0,75; 2,00] ¹	3,00 [2,00; 4,00] ²
	«-» (n = 33)	0,65 [0,50; 1,65]	2,00 [1,00; 3,00]

¹: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників порівняно з хворими без цієї коморбідної патології за критерієм Манна–Вітні; ²: $p < 0,01$ – вірогідна різниця показників порівняно з хворими без цієї коморбідної патології за критерієм Манна–Вітні.

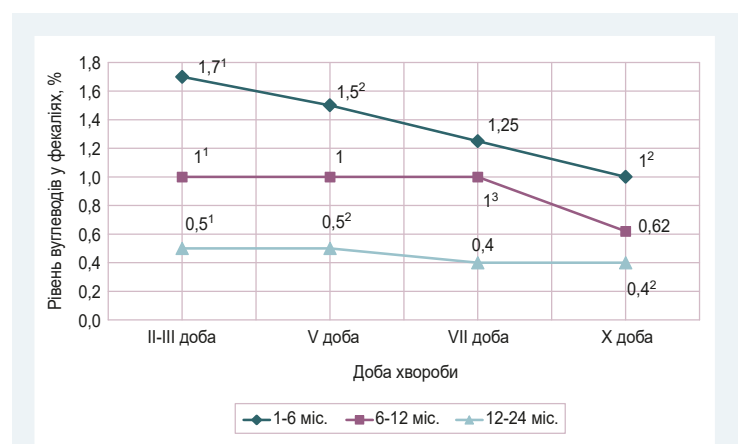


Рис. 3. Зміни загального рівня вуглеводів у фекаліях дітей у динаміці РВІ залежно від віку.

¹: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників дітей віком 1–6 місяців, 6–12 місяців і 12–24 місяці за критерієм Крускала–Волліса; ²: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників дітей віком 1–6 місяців і 12–24 місяці за критерієм Манна–Вітні; ³: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників щодо 10 доби за критерієм Вілкоксона.

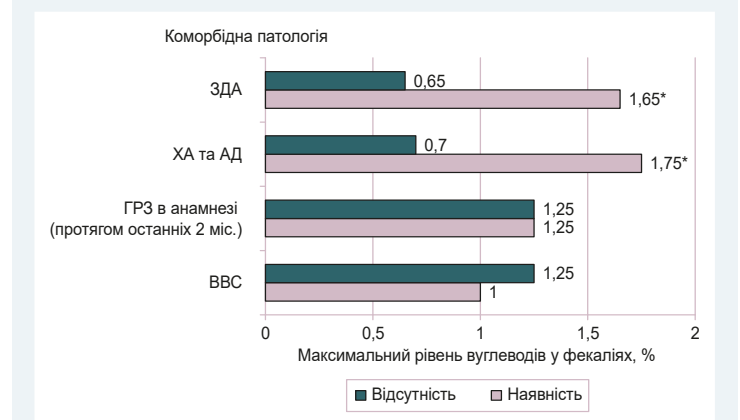


Рис. 4. Максимальний рівень вуглеводів у фекаліях дітей із РВІ залежно від наявності коморбідної патології

*: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників у групах за критерієм Манна–Вітні.

(83,3 %) встановлено в абсолютній більшості дітей, що підтверджує наведені у фаховій літературі механізми викликані ротавірусом осмотичної діареї (порушення NSP4-протеїном ротавірусу вивільнення

ферменту лактази-флоризин гідролази з ентероциту, зниження активності SGLT1-транспортера Na⁺ та глюкози на мембранах ентероцитів ворсинок) [6]. У нашій роботі вперше визначили динамічні закономірності виразності порушень метаболізму олігосахаридів у кишечнику та лактазної недостатності, що полягали в максимальних змінах проби Бенедикта та Мальфатті в період розпалу хвороби (з 5 до 7 доби) без нормалізації в більшості дітей (81,7 %) навіть на 10 добу; на це слід звернути увагу, обираючи тактику лікування дітей раннього віку з РВІ.

На відміну від результатів дослідження [10] щодо відсутності лабораторних проявів мальабсорбції вуглеводів у дітей із необтяженим преморбідним тлом, яку автори пояснюють адекватною реакцією кишкової мікрофлори та повною ферментацією надлишку простих цукрів, ми не визначили різницю за частотою виникнення цих порушень залежно від наявності коморбідної патології. Однак у нашому дослідженні діти з супутньою ХА та АТ, а також ЗДА мали виразнішу мальабсорбцію внаслідок вторинної лактазної недостатності в гострий період хвороби. Вважаємо, що результати мають патогенетичне пояснення. Алергічне запалення слизової оболонки кишечника супроводжується ушкодженням структури ентероцитів і навіть їхнім руйнуванням [15], зважаючи на розташування β-глікозидазного комплексу (лактази) у зрілих ентероцитах верхівок ворсинок, це може призвести до суттєвого зменшення ферменту лактази та збільшення ступеня вторинної лактазної недостатності при РВІ. На наявність цих обтяжливих факторів необхідно зважати, призначаючи патогенетичне лікування РВІ у дітей раннього віку.

Висновки

1. Синдром мальабсорбції вуглеводів виникає при ротавірусній інфекції в абсолютній більшості дітей раннього віку (98,3 % випадків) і досягає максимальної виразності з 5 до 7 доби, що підтверджується найвищими рівнями вуглеводів у фекаліях у ці терміни хвороби до 0,75 [0,50; 1,65] % та 0,87 [0,40; 1,65] % відповідно ($p < 0,05$ щодо 10 доби) без нормалізації показників на 10 добу в 81,7 % хворих ($p < 0,05$ порівняно з показниками здорових дітей).

2. Порушення метаболізму вуглеводів у тонкому кишечнику при РВІ реалізується двома механізмами: лактазною недостатністю та мальабсорбцією глюкози, що проявляється підвищенням рівня ескретованої лактози та глюкози в калі протягом усього періоду хвороби ($p < 0,05$; $p < 0,05$ відповідно щодо здорових дітей).

3. Мальабсорбція вуглеводів у тонкому кишечнику асоціюється передусім із лактазною недостатністю. Про це свідчить сильний прямий кореляційний зв'язок між загальним рівнем вуглеводів і лактози в калі на всіх етапах хвороби ($r = 0,91$; $r = 0,86$; $r = 0,91$; $r = 0,89$, на 3, 5, 7 та 10 добу відповідно).

4. Найбільш виразний синдром мальабсорбції вуглеводів і лактазну недостатність при РВІ мають діти віком 1–6 місяців, в яких максимальні рівні відновлювальних цукрів і лактози в калі становлять 1,75 [1,00; 2,00] % та 3,50 [2,00; 4,00] +, перевищуючи в 1,2

раза показники дітей віком 6–12 місяців, в 2,70 і 1,75 раза відповідно – дітей другого року життя ($p < 0,05$).

5. Харчова алергія, atopічний дерматит і залізодефіцитна анемія – фактори ризику розвитку виразної мальабсорбції вуглеводів унаслідок лактазної недостатності в гострий період РВІ, що підтверджується у 3,0 та 2,5 раза вищими рівнями ескретованої лактози у фекаліях дітей з алергією на 3 і 5 добу хвороби ($p < 0,01$; $p < 0,05$ відповідно), вдвічі та тричі вищим рівнем лактози калу в дітей із залізодефіцитною анемією в терміни РВІ ($p < 0,01$; $p < 0,05$ відповідно).

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу виразності мальабсорбції вуглеводів на клінічні особливості перебігу РВІ в дітей раннього віку та вивчення впливу метаболічної активності кишкової мікрофлори на лабораторні та клінічні прояви синдрому мальабсорбції вуглеводів у дітей із РВІ.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.11.2020

Після доопрацювання / Revised: 21.12.2020

Прийнято до друку / Accepted: 02.02.2021

Відомості про авторів:

Воробйова Н. В., PhD аспірант каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0001-7610-8067](https://orcid.org/0000-0001-7610-8067)

Усачова О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8413-027X](https://orcid.org/0000-0002-8413-027X)

Information about authors:

Vorobiova N. V., PhD student 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.

Сведения об авторах:

Воробьева Н. В., PhD аспирант каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Усачева Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Childhood diarrheal diseases in developing countries / H. U. Ugboko, O. C. Nwinyi, S. U. Oranusi, J. O. Oyewale. *Heliyon*. 2020. Vol. 6, Iss. 4. e03690. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03690>
- [2] Diarrhea. *UNICEF*: Веб-сайт. URL: <http://www.data.unicef.org/topic/child-health/diarrhoeal-disease/>
- [3] Systematic review of the rotavirus infection burden in the WHO-EMRO region / S. Badur, S. Öztürk, P. Pereira et al. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2019. Vol. 15, Iss. 11. P. 2754-2768. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1603984>
- [4] Clinical and Environmental Surveillance of Rotavirus Common Genotypes Showed High Prevalence of Common P Genotypes in Egypt / W. M. El-Senousy, A. Abu Senna, N. A. Mohsen et al. *Food and environmental virology*. 2020. Vol. 12, Iss. 2. P. 99-117. <https://doi.org/10.1007/s12560-020-09426-0>
- [5] Macro- and microelements determination in children with rotavirus infection / O. I. Smiyan, K. O. Smiyan-Horbunova, A. M. Loboda et al. *Zaporozhye medical journal*. 2018. Vol. 20, Iss. 3, P. 371-374. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.3.130456>

- [6] Rotavirus infection / S. E. Crawford, S. Ramani, J. E. Tate et al. *Nature reviews. Disease primers*. 2017. Vol. 3. P. 17083. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- [7] The Contributions of Human Mini-Intestines to the Study of Intestinal Physiology and Pathophysiology / H. Yu, N. M. Hasan, J. G. In et al. *Annual review of physiology*. 2017. Vol. 79. P. 291-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105211>
- [8] Das S., Jayaratne R., Barrett K. E. The Role of Ion Transporters in the Pathophysiology of Infectious Diarrhea. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*. 2018. Vol. 6, Iss. 1. P. 33-45. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.02.009>
- [9] Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management / B. Misselwitz, M. Butter, K. Verbeke et al. *Gut*. 2019. Vol. 68, Iss. 11. P. 2080-2091. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318404>
- [10] Мескина Е. Р. Синдром мальабсорбции углеводов у детей с вирусным гастроэнтеритом. *Альманах клинической медицины*. 2015. № 42. С. 79-86. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2015-42-79-86>
- [11] Денисюк Н. Б. Мальабсорбция углеводов при ротавирусной инфекции у детей раннего возраста : автореф. дис... канд. мед. наук : 14.01.08. Оренбург, 2010. 20 с.
- [12] Забігайло Ю. Ю. Особливості ротавірусної інфекції, що перебігає з дисахаридною недостатністю, у дітей : автореф. дис... канд. мед. наук : 14.01.10. Запоріжжя, 2015. 21 с.
- [13] Незгода І., Науменко О. Перебіг ротавірусної інфекції у дітей з різними варіантами алейного поліморфізму С >Т 13910 гена лактази. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, Iss. 7. P. 566-578. <http://doi.org/10.5281/zenodo.59126>
- [14] Kasirga E. The importance of stool tests in diagnosis and follow-up of gastrointestinal disorders in children. *Turkish Archives of Pediatrics*. 2019. Vol. 54, Iss. 3. P. 141-148. <https://doi.org/10.14744/TurkPediatriArs.2018.00483>
- [15] Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children – common misconceptions revisited / R. G. Heine, F. AlRefaee, P. Bachina et al. *The World Allergy Organization journal*. 2017. Vol. 10, Iss. 1. P. 41. <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0173-0>

References

- [1] Ugboko, H. U., Nwinyi, O. C., Oranusi, S. U., & Oyewale, J. O. (2020). Childhood diarrhoeal diseases in developing countries. *Heliyon*, 6(4), e03690. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03690>
- [2] UNICEF. (2020, October). *Diarrhoea*. <http://www.data.unicef.org/topic/child-health/diarrhoeal-disease/>
- [3] Badur, S., Öztürk, S., Pereira, P., AbdelGhany, M., Khalaf, M., Lagoubi, Y., Ozudogru, O., Hanif, K., & Saha, D. (2019). Systematic review of the rotavirus infection burden in the WHO-EMRO region. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 15(11), 2754-2768. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1603984>
- [4] El-Senousy, W. M., Abu Senna, A., Mohsen, N. A., Hasan, S. F., & Sidkey, N. M. (2020). Clinical and Environmental Surveillance of Rotavirus Common Genotypes Showed High Prevalence of Common P Genotypes in Egypt. *Food and environmental virology*, 12(2), 99-117. <https://doi.org/10.1007/s12560-020-09426-0>
- [5] Smiyan, O. I., Smiyan-Horbunova, K. O., Loboda, A. M., Popov, S. V., Bynda, T. P., Vysotsky, I. Yu., Sichnenko, P. I., Petrashenko, V. O., Man'ko, Yu. A., Kosarchuk, V. V., & Gordienko, O. V. (2018). Macro- and microelements determination in children with rotavirus infection. *Zaporozhye medical journal*, 20(3), 371-374. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.3.130456>
- [6] Crawford, S. E., Ramani, S., Tate, J. E., Parashar, U. D., Svensson, L., Hagbom, M., Franco, M. A., Greenberg, H. B., O'Ryan, M., Kang, G., Desselberger, U., & Estes, M. K. (2017). Rotavirus infection. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17083. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- [7] Yu, H., Hasan, N. M., In, J. G., Estes, M. K., Kovbasnjuk, O., Zachos, N. C., & Donowitz, M. (2017). The Contributions of Human Mini-Intestines to the Study of Intestinal Physiology and Pathophysiology. *Annual review of physiology*, 79, 291-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105211>
- [8] Das, S., Jayaratne, R., & Barrett, K. E. (2018). The Role of Ion Transporters in the Pathophysiology of Infectious Diarrhea. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 6(1), 33-45. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.02.009>
- [9] Misselwitz, B., Butter, M., Verbeke, K., & Fox, M. R. (2019). Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut*, 68(11), 2080-2091. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318404>
- [10] Meskina, E. R. (2015). Синдром мальабсорбции углеводов у детей с вирусным гастроэнтеритом [Carbohydrate malabsorption syndrome in children with viral gastroenteritis]. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*, (42), 79-86. [in Russian]. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2015-42-79-86>
- [11] Denisyuk, N. B. (2010). *Mal'absorbtsiya uglevodov pri rotavirusnoi infektsii u detei rannego vozrasta* [Malabsorption of carbohydrates during rotavirus infection in young children]. Extended abstract of candidate's thesis. Orenburg: Orenburg State Medical Academy. [in Russian].

Relationships between HBeAg status of patients with chronic hepatitis B and changes in serum TNF- α , viral load and severity of morphological changes in the liver according to non-invasive tests

A. B. Khelemendyk^{ID}*^{B,D}, O. V. Riabokon^{ID}^{A,C,F}, Yu. Yu. Riabokon^{ID}^{C,E}, K. V. Kalashnyk^{ID}^{B,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:

chronic hepatitis B, HBeAg, cytokines, liver fibrosis.

Pathologia

2021; 18 (1), 80-85

*E-mail:

amarkova17@gmail.com

Aim – to investigate the relationship between HBeAg status of patients with chronic hepatitis B and the content of TNF- α in the serum, the level of viral load and the severity of morphological changes in the liver according to non-invasive tests.

Material and methods. 70 patients with CHB were examined. Noninvasive methods were used to determine the severity of morphological changes in the liver. The content of HBV-DNA in the blood was determined by PCR, HBeAg, anti-HBe, TNF- α by ELISA. Statistical processing was performed in Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J).

Results. HBeAg-negative patients (78.6 %) with anti-HBe (89.1 %) predominate among patients with CHB. Lower frequency of seroconversion in patients with stages F 2–4, compared with patients with stages F 0–1 (85.7 % vs. 100 %, $P < 0.05$).

The highest level of HBV-DNA in the blood was in HBeAg-positive patients, compared with HBeAg-negative with stages F 0–1 ($P < 0.05$), of whom 83.3 % of patients had HBV-DNA >20000 IU/ml (83.3 % vs. 17.7 %). Viral load in HBeAg-positive patients with activity A 0–1 was the highest ($P < 0.05$), namely 4 times more often HBV-DNA was >20000 IU/ml, compared with HBeAg-negative ($P < 0.05$) A 0–1.

The content of TNF- α in the serum of patients with CHB was higher than in healthy individuals ($P < 0.05$). The highest content of TNF- α in the blood in HBeAg-positive patients with F 2–4, compared with HBeAg-negative with F 2–4 ($P < 0.05$). The severity of liver fibrosis correlated with the level of TNF- α ($r = 0.31$, $P < 0.05$).

Conclusions. HBeAg-negative (78.6 %) predominate among patients with CHB. In the presence of HBeAg-positive patients F 0–1 viral load is highest ($P < 0.05$). HBeAg-negative patients are 2.7 times more likely ($P < 0.05$) to have a viral load of HBV-DNA >20000 IU/ml in the presence of A 2–3 than in A 0–1. The highest content of TNF- α is in the serum of HBeAg-positive patients with F 2–4, compared with HBeAg-negative patients and the corresponding liver fibrosis ($P < 0.05$).

Ключові слова:

хронічний гепатит В, HBeAg-статус, цитокіни, фіброз печінки.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 1(51).

С. 80-85

Взаємозв'язки HBeAg-статусу хворих на хронічний гепатит В зі змінами вмісту TNF- α в сироватці крові, рівнем вірусного навантаження та ступенем виразності морфологічних змін у печінці за даними неінвазивних тестів

А. Б. Хелемендик, О. В. Рябоконець, Ю. Ю. Рябоконець, К. В. Калашник

Мета роботи – дослідити взаємозв'язки HBeAg-статусу хворих на хронічний гепатит В (ХГВ) із вмістом TNF- α в сироватці крові, рівнем вірусного навантаження та ступенем виразності морфологічних змін у печінці за даними неінвазивних тестів.

Матеріали та методи. Обстежили 70 хворих на ХГВ. Під час визначення ступеня виразності морфологічних змін у печінці застосовували неінвазивні методи. Методом ПЛР визначили вміст HBV-DNA в крові, методом ІФА – HBeAg, anti-HBe, TNF- α . Статистичне опрацювання результатів виконали в програмі Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J).

Результати. Серед хворих на ХГВ переважають HBeAg-негативні пацієнти (78,6 %) з наявністю anti-HBe (89,1 %). Частота сероконверсії нижча у хворих зі стадіями F 2–4 порівняно з пацієнтами зі стадіями F 0–1 (85,7 % проти 100,0 %, $p < 0,05$).

Найвищий рівень HBV-DNA в крові встановлено у HBeAg-позитивних пацієнтів порівняно з HBeAg-негативними зі стадіями F 0–1 ($p < 0,05$), серед яких 83,3 % пацієнтів мали HBV-DNA >20000 IU/ml (83,3 % проти 17,7 %). Вірусне навантаження у HBeAg-позитивних хворих з активністю А 0–1 найбільше ($p < 0,05$): в 4 рази частіше HBV-DNA було >20000 IU/ml порівняно з HBeAg-негативними ($p < 0,05$) А 0–1.

Вміст TNF- α в сироватці крові хворих на ХГВ вищий, ніж у здорових ($p < 0,05$). Найвищий вміст TNF- α в крові – у HBeAg-позитивних хворих із F 2–4 порівняно з HBeAg-негативними з F 2–4 ($p < 0,05$). Ступінь виразності фіброзу печінки корелював із рівнем TNF- α ($r = 0,31$, $p < 0,05$).

Висновки. Серед хворих на ХГВ переважають HBeAg-негативні (78,6 %). Якщо у HBeAg-позитивних хворих наявне F 0–1, вірусне навантаження найвище ($p < 0,05$). У HBeAg-негативних пацієнтів у 2,7 рази частіше ($p < 0,05$) вірусне навантаження HBV-DNA >20000 IU/ml у разі А 2–3, ніж при А 0–1. Найвищий вміст TNF- α в сироватці крові – у HBeAg-позитивних хворих із F 2–4 порівняно з HBeAg-негативними пацієнтами та відповідним фіброзом печінки ($p < 0,05$).

Взаимосвязи HBeAg-статуса больных хроническим гепатитом В с изменениями содержания TNF- α в сыворотке крови, уровнем вирусной нагрузки и степенью выраженности морфологических изменений в печени по данным неинвазивных тестов

А. Б. Хелемендик, Е. В. Рябоконе, Ю. Ю. Рябоконе, К. В. Калашник

Цель работы – исследовать взаимосвязи HBeAg-статуса больных хроническим гепатитом В (ХГВ) с содержанием TNF- α в сыворотке крови, уровнем вирусной нагрузки и степенью выраженности морфологических изменений в печени по данным неинвазивных тестов.

Материалы и методы. Обследовали 70 больных ХГВ. При определении степени выраженности морфологических изменений в печени применяли неинвазивные методы. Методом ПЦР определено содержание HBV-DNA в крови, методом ИФА – HBeAg, anti-HBe, TNF- α . Статистическая обработка проведена в программе Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J).

Результаты. Среди больных ХГВ преобладают HBeAg-негативные пациенты (78,6 %) с наличием anti-HBe (89,1 %). Частота сероконверсии ниже у больных со стадиями F 2–4 по сравнению с пациентами со стадиями F 0–1 (85,7 % против 100,0 %, $p < 0,05$).

Самый высокий уровень HBV-DNA в крови определен у HBeAg-положительных пациентов по сравнению с HBeAg-негативными со стадиями F 0–1 ($p < 0,05$), среди которых 83,3 % пациентов имели HBV-DNA >20000 IU/ml (83,3 % против 17,7 %). Вирусная нагрузка у HBeAg-положительных больных с активностью A 0–1 высокая ($p < 0,05$): в 4 раза чаще HBV-DNA было >20000 IU/ml по сравнению с HBeAg-отрицательными ($p < 0,05$) A 0–1.

Содержание TNF- α в сыворотке крови больных ХГВ выше, чем у здоровых ($p < 0,05$). Самое высокое содержание TNF- α в крови – у HBeAg-положительных больных с F 2–4 по сравнению с HBeAg-отрицательными с F 2–4 ($p < 0,05$). Степень выраженности фиброза печени коррелировала с уровнем TNF- α ($r = 0,31$, $p < 0,05$).

Выводы. Среди больных ХГВ преобладают HBeAg-негативные (78,6 %). При наличии у HBeAg-положительных больных F 0–1 вирусная нагрузка самая высокая ($p < 0,05$). У HBeAg-негативных пациентов в 2,7 раза чаще ($p < 0,05$) вирусная нагрузка HBV-DNA >20000 IU/ml при A 2–3, чем при A 0–1. Самое высокое содержание TNF- α в сыворотке крови – у HBeAg-положительных больных с F 2–4 по сравнению с HBeAg-негативными пациентами и соответствующим фиброзом печени ($p < 0,05$).

Ключевые слова:
хронический гепатит В, HBeAg-статус, цитокины, фиброз печени.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 80-85

Chronic hepatitis B (CHB) has a worldwide prevalence of 3.9 % and is a global medical and social problem, causing about 2 million deaths due to the development and progression of HBV-associated liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma [1]. It is known that in the natural course of CHB, the formation of liver cirrhosis in a 5-year cumulative incidence is estimated at 8–20 %. The annual risk of liver decompensation in the presence of cirrhosis and the development of hepatocellular carcinoma varies between 1–5 % [1–4].

The natural course of CHB has significant variability, which makes it difficult to monitor patients [5]. The rate of progression of fibrotic changes in the liver largely depends on the ability of the immune system to control viral load [6,7]. In the process of replication, hepatitis B virus (HBV) antigens can affect the immune response. Of particular note is HBeAg, which plays a significant role in modulating the immune response by reducing the efficiency of the T cell [8]. Existing international recommendations have some differences in the criteria that need to be determined when monitoring patients with CHB to address treatment tactics [4]. Only the recommendations of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) are not only more complex, but also necessarily take into account the HBeAg status of the patient in relation to morphological changes in the liver and viral load [9].

Cytokines play a leading role in the immunopathogenesis of CHB progression, with considerable attention paid to tumor necrosis factor alpha (TNF- α). TNF- α is produced during inflammation by macrophages/monocytes and is responsible for a wide range of signaling events

in cells. It is not only a mediator of hepatotoxicity, but is also considered an inducer of hepatocyte proliferation and liver regeneration. However, in the long course of the disease is involved in the formation and progression of fibrotic changes in the liver [10].

The study of the immunopathogenesis of the progression of morphological changes in the liver in CHB continues, taking into account the relationship between changes in cytokine regulation and viral replication parameters. Liver biopsy is the «gold standard» for assessing the degree of liver fibrosis. However, this study is invasive and is accompanied by pain in 74 % of patients and the development of complications in 5.6 % of patients [11]. Therefore, in modern conditions, non-invasive methods for assessing morphological changes in the liver have emerged, which are based either on biochemical blood tests followed by mathematical modeling (fibrotest, actitest) or imaging methods (elastometry) [12–14]. The choice of non-invasive diagnostic method requires the doctor to take into account a number of factors that may have a negative impact on the informativeness of the data obtained. The use of elastography is limited in patients with abdominal obesity and severe hepatic steatosis, and the use of fibrotest is inappropriate in patients with hyperbilirubinemia and severe intrahepatic cholestasis due to high blood activity of gammaglutamyltranspeptidase [15]. However, the advantage of these methods is their availability, low cost, no side effects for patients during their implementation and the possibility of repeated use to assess the dynamics of change, including to assess the antifibrotic effect of treatment [12,16].

Aim

To investigate the relationship between HBeAg status of patients with chronic hepatitis B with the content of TNF- α in the serum, the level of viral load and the severity of morphological changes in the liver according to non-invasive tests.

Materials and methods

The study included 70 patients with CHB who were under dispensary observation at the non-profit municipal enterprise "Regional Infectious Diseases Clinical Hospital" of the Zaporizhzhia Regional Council. The age of patients ranged from 20 to 78 years. The median age was 44.5 [35.0; 58.0] years. There were 24 women (34.3 %) and 46 men (65.7 %).

All patients were included in the study on a random basis and with informed consent. Non-invasive methods were used to determine the severity of fibrotic and necro-inflammatory changes in the liver. The degree of fibrosis in 52 patients was determined by elastometry, in 18 fibrotest was performed. Necrosis-inflammatory activity in 18 was assessed on the basis of actitect and in 52 patients by the level of elevated serum alanineaminotransferase according to the classification of chronic hepatitis (Los Angeles, 1994).

In all patients, a study of the quantitative content of HBV-DNA in the blood was conducted by polymerase chain reaction. The presence of HBeAg and anti-HBe in the serum, the quantitative content of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (Elabscience, USA) was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Enzyme-linked immunosorbent assays were performed on the basis of the Scientific medical-laboratory center of Zaporizhzhia State Medical University (Head – Prof. A. Abramov). A control group of 30 healthy individuals was formed to assess changes in serum TNF- α levels.

Statistical data processing was performed in Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JP-Z8041382130ARCN10-J). The Mann-Whitney test was used to assess the significant difference between quantitative traits in independent groups, and the χ^2 method was used between qualitative traits. Correlation analysis was performed by the Spearman method.

Results

Analysis of the frequency of HBeAg detection in the serum of patients with CHB showed a predominance of HBeAg-negative patients, part of whom was 78.6 % (55 of 70). HBeAg/anti-HBe seroconversion analysis showed the presence in the serum of the majority of HBeAg-negative anti-HBe patients, namely in 89.1 % (49 of 55). Comparison of the frequency of HBeAg/anti-HBe seroconversion in HBeAg-negative patients with varying degrees of morphological changes in the liver (according to non-invasive tests) found a lower rate of seroconversion in patients with F 2–4 liver fibrosis stages, compared with patients with early liver fibrosis F 0–1 (85.7 % vs. 100.0 %, $\chi^2 = 5.14$, $P < 0.05$). The frequency of anti-HBe detection did not depend on

the severity of necrotic-inflammatory changes in the liver ($P > 0.05$) (Table 1).

According to the results of the studies, it was found that HBeAg-negative patients predominated among patients with CHB, regardless of the liver fibrosis severity ($P > 0.05$). Thus, in the presence of initial liver fibrosis manifestations, the share of HBeAg-negative patients was 85.0 % (34 of 40), and in the presence of F 2–4 fibrosis – 70.0 % (21 of 30).

Analysis of viral load depending on HBeAg status and the severity of fibrotic changes in the liver showed that the highest level of HBV-DNA in the blood was found in HBeAg-positive patients with early liver fibrosis stages, which probably exceeded the same in HBeAg-negative patients with similar liver fibrosis stages ($P < 0.05$). This pattern was confirmed by a greater number of patients with HBV-DNA levels in the blood above 20.000 IU/ml (83.3 % vs. 17.7 %), compared with HBeAg-negative patients with F 0–1 liver fibrosis stages. There were no statistically significant ($P > 0.05$) relationships between the dependence of viral load on HBeAg status in patients with CHB with F 2–4 liver fibrosis stages (Table 2).

Analysis of the frequency of patients detection with CHB with different HBeAg status showed no statistically significant relationship with the severity of necro-inflammatory changes in the liver ($P > 0.05$). In the presence of A 0–1 degree of necro-inflammatory activity in the liver, the share of HBeAg-negative patients was 81.4 % (48 of 59), and in the presence of A 2–3 degree – 63.6 % (7 of 11).

The level of viral load in HBeAg-positive patients with A 0–1 severity of necrosis-inflammatory process was higher ($P < 0.05$), compared not only with HBeAg-negative patients with a similar level of necrosis-inflammatory process, but also compared with HBeAg-positive patients with A 2–3 degree of necro-inflammatory activity ($P < 0.05$). The established pattern is confirmed by almost 4 times more frequent detection of HBV-DNA >20000 IU/ml in HBeAg-positive patients compared with HBeAg-negative (81.8 % vs. 20.8 %, $\chi^2 = 15.24$, $P < 0.05$) in the A 0–1 presence. In HBeAg-negative patients, a significant relationship was found between the frequency of HBV-DNA viral load detection (>20000 IU/ml) with the severity of necro-inflammatory activity, which confirms 2.7 times more frequent viral load detection of this level (57.1 % vs. 20.8 %, $\chi^2 = 4.24$, $P < 0.05$) in the presence of A 2–3 necro-inflammatory activity (Table 3).

According to the results of the analysis of TNF- α content in the serum of patients with CHB, it was found that the content of this cytokine was higher than in healthy individuals ($P < 0.05$), regardless of HBeAg status and the severity of morphological changes in the liver according to noninvasive tests. However, the highest content of TNF- α in blood serum was registered in HBeAg-positive patients with F 2–4 liver fibrosis degrees, compared with HBeAg-negative patients and the corresponding severity of liver fibrosis ($P < 0.05$) (Table 4). The established pattern was confirmed by the detection of a direct correlation by Spearman's method between the severity of liver fibrosis and the level of TNF- α in serum ($r = 0.31$, $P < 0.05$).

Table 1. Frequency of HBeAg/anti-HBe seroconversion in HBeAg-negative patients with varying degrees of morphological changes in the liver according to the results of non-invasive tests, abs (%)

Index	HBeAg-negative patients with CHB (n = 55)			
	Liver fibrosis		Necrotic-inflammatory changes	
	F 0–1 (n = 34)	F 2–4 (n = 21)	A 0–1 (n = 48)	A 2–3 (n = 7)
anti-HBe-positive	34 (100 %)	18 (85.7 %)*	46 (95.8 %)	6 (85.7 %)

*: the difference is significant compared with HBeAg-negative patients with F 0–1 liver fibrosis stages (P < 0.05).

Table 2. Viral load in patients with CHB depending on HBeAg status and the liver fibrosis severity, Me [Q₂₅; Q₇₅] or abs (%)

Index, units	Patients with CHB (n = 70)			
	F 0–1 (n = 40)		F 2–4 (n = 30)	
	HBeAg positive (n = 6)	HBeAg negative (n = 34)	HBeAg positive (n = 9)	HBeAg negative (n = 21)
HBV-DNA, IU/ml	1.5 × 10 ⁶ [6.2 × 10 ⁴ ; 2.0 × 10 ⁷]	1.1 × 10 ³ [1.5 × 10 ² ; 1.0 × 10 ⁴]*	5.6 × 10 ⁴ [5.0 × 10 ¹ ; 5.3 × 10 ⁶]	1.9 × 10 ³ [2.5 × 10 ² ; 7.2 × 10 ⁴]
HBV-DNA <2000 IU/ml, abs (%)	1 (16.6 %)	19 (55.9 %)	3 (33.3 %)	11 (52.4 %)
HBV-DNA 2000–20000 IU/ml, abs (%)	0	9 (26.5 %)	1 (11.1 %)	2 (9.5 %)
HBV-DNA >20000 IU/ml, abs (%)	5 (83.3 %)	6 (17.7 %)	5 (55.6 %)	8 (38.1 %)

*: the difference is significant compared to HBeAg-positive patients with F 0–1 liver fibrosis stages (P < 0.05).

Table 3. Viral load in patients with CHB depending on HBeAg status and the severity of necro-inflammatory changes in the liver, Me [Q₂₅; Q₇₅] or abs (%)

Index, units	Patients with CHB (n = 70)			
	A 0–1 (n = 59)		A 2–3 (n = 11)	
	HBeAg positive (n = 11)	HBeAg negative (n = 48)	HBeAg positive (n = 4)	HBeAg negative (n = 7)
HBV-DNA, IU/ml	2.9 × 10 ⁶ [5.6 × 10 ⁴ ; 2.0 × 10 ⁷]	1.1 × 10 ³ [1.6 × 10 ² ; 1.2 × 10 ⁴]*	6.3 × 10 ³ [5.0 × 10 ¹ ; 4.3 × 10 ⁴]*	4.9 × 10 ⁴ [5.2 × 10 ² ; 9.8 × 10 ⁴]
HBV-DNA <2000 IU/ml, abs (%)	2 (18.2 %)	27 (56.3 %)	2 (50.0 %)	3 (42.9 %)
HBV-DNA 2000–20000 IU/ml, abs (%)	0	11 (22.9 %)	1 (25.0 %)	0
HBV-DNA >20000 IU/ml, abs (%)	9 (81.8 %)	10 (20.8 %)*	1 (25.0 %)	4 (57.1 %)**

*: the difference is significant compared to HBeAg-positive patients with necro-inflammatory activity A 0–1 in the liver (P < 0.05); **: compared with HBeAg-negative patients with necro-inflammatory activity A 0–1 in the liver (P < 0.05).

Table 4. The content of TNF-α in the serum of patients with CHB depending on HBeAg status and the degree of morphological changes in the liver according to non-invasive tests, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Index	Healthy people (n = 30)	Patients with CHB (n = 70)			
The severity of liver fibrosis					
TNF-α, pg/ml	2.6 [0.04; 3.02]	F 0–1 (n = 40)		F 2–4 (n = 30)	
		HBeAg-positive (n = 6)	HBeAg-negative (n = 34)	HBeAg-positive (n = 9)	HBeAg-negative (n = 21)
		4.01 [3.50; 4.46]*	4.42 [3.02; 5.40]*	14.27 [13.35; 18.23]*	4.93 [3.50; 6.37]**
The severity of necro-inflammatory changes in the liver					
TNF-α, pg/ml	2.6 [0.04; 3.02]	A 0–1 (n = 59)		A 2–3 (n = 11)	
		HBeAg-positive (n = 11)	HBeAg-negative (n = 48)	HBeAg-positive (n = 4)	HBeAg-negative (n = 7)
		4.04 [3.50; 14.00]*	4.39 [3.02; 5.89]*	16.25 [13.81; 19.86]*	5.80 [4.43; 14.98]*

*: the difference is significant compared to healthy (p < 0.05); **: the difference is significant compared with HBeAg-positive patients with F 2–4 liver fibrosis stages (P < 0.05).

Discussion

According to modern literature, HBeAg is considered as an antigen of the virus, which when circulating in the blood of patients with CHB, is able to change the immune response. This leads to decrease in the effectiveness of the cellular immune response [17,18]. However, most researchers today note that HBeAg-negative patients predominate among patients with CHB [19,20]. According to the results of our study, it was also recorded that HBeAg-negative patients predominate among the examined patients with CHB, the share of whom is 78.6 % (55 of 70). Such changes in the structure of patients with CHB currently have two main explanations. On the one hand, this is due to the decrease in the number of young people

due to compulsory vaccination. On the other hand, we observe an increase in the proportion of patients in older age groups in whom seroconversion occurred with the appearance of anti-HBe in the long-term natural course of CHB [17,18]. The occurrence of mutations in the pre-core/core region with subsequent loss of HBeAg expression while maintaining high HBV replicative activity is not excluded [17,18,20]. HBeAg-negative CHB may have an unstable course with persistent necro-inflammatory changes in the liver and viral load levels above 2000 IU/ml [21]. The data obtained in our study also to some extent demonstrate the instability of HBeAg-negative CHB, namely in HBeAg-negative patients 2.7 times more often (P < 0.05) was detected viral load above 20000 IU/ml in

the presence of necro-inflammatory activity A 2–3 than in the presence of A 0–1.

Immunopathogenetic mechanisms of morphological changes progression in the liver of patients with CHB today continue to be studied. It is known that in CHB, the immune response to virus antigens is ineffective. This leads to almost continuous necro-inflammatory activity, the appearance of a stable regenerative reaction in the liver. These processes are accompanied by the transformation of stellate liver cells into activated myofibroblasts with excessive production and accumulation of extracellular matrix components, which leads to the progression of fibrotic changes in the liver [22–24]. Cytokines play a leading role in the progression of fibrotic changes in the liver. Particular attention is drawn to cytokines that have pro-inflammatory and profibrogenic properties, in particular TNF- α [24,25]. According to researchers [24,25], the level of increased TNF- α in the serum correlates with severe liver fibrosis and more pronounced inflammation. According to the results of our study, a relationship was found between the level of this cytokine elevation from HBeAg status and the degree of liver fibrosis in patients with CHB. The highest content of TNF- α in blood serum was recorded in HBeAg-positive patients with F 2–4 liver fibrosis stages, compared with HBeAg-negative patients and the corresponding liver fibrosis degree ($P < 0.05$). The established pattern can be explained on the one hand by the negative effect of HBeAg on the cellular immune response [17,18], on the other hand by the increase in activity of stellate cells, which show very high sensitivity to anti-inflammatory cytokines, and the ability of TNF- α to prevent stellate cell apoptosis [26–28].

Conclusions

1. HBeAg-negative patients predominate among patients with CHB in 78.6 % with seroconversion of HBeAg/anti-HBe in 89.1 %. In the presence of HBeAg-negative patients with liver fibrosis F 2–4 degree, the frequency of seroconversion is lower compared with patients with initial stages of liver fibrosis F 0–1 (85.7 % vs. 100.0 %, $\chi^2 = 5.14$, $P < 0.05$).

2. HBeAg-negative patients predominate regardless of the severity of liver fibrosis (85.0 % at F 0–1 and 70.0 % at F 2–4). In the presence of HBeAg-positive patients with CHB in the initial stages of liver fibrosis, the viral load is the highest ($P < 0.05$) due to the higher number of patients with HBV-DNA levels above 20000 IU/ml (83.3 % vs. 17.7 %), compared with HBeAg-negative patients with stages of liver fibrosis F 0–1.

3. HBeAg-negative patients predominate among patients with CHB, regardless of the severity of necro-inflammatory changes in the liver (81.4 % at A 0–1 and 63.6 % at A 2–3). In HBeAg-positive patients with the severity of the necro-inflammatory process A 0–1 viral load is higher ($P < 0.05$), compared with both HBeAg-negative patients with A 0–1 and HBeAg-positive patients with A 2–3 ($P < 0.05$). HBeAg-positive patients have 4 times more often ($P < 0.05$) HBV-DNA level >20000 IU/ml, compared with HBeAg-negative in the presence of A 0–1. HBeAg-negative patients are 2.7 times more likely ($P < 0.05$) to have a viral load of HBV-DNA >20000 IU/

ml in the presence of necro-inflammatory activity A 2–3 than in the presence of A 0–1.

4. In patients with CHB, the content of TNF- α in the serum, regardless of HBeAg status and the severity of morphological changes in the liver according to non-invasive tests is higher than in healthy people ($P < 0.05$). The highest content of TNF- α in blood serum is registered in HBeAg-positive patients with degrees of liver fibrosis F 2–4, compared with HBeAg-negative patients and the corresponding severity of liver fibrosis ($P < 0.05$).

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

Надійшла до редакції / Received: 24.12.2020
Після доопрацювання / Revised: 14.01.2021
Прийнято до друку / Accepted: 22.01.2021

Information about authors:

Khelemendyk A. B., Assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-4724-6465](https://orcid.org/0000-0003-4724-6465)

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

ORCID ID: [0000-0002-7394-4649](https://orcid.org/0000-0002-7394-4649)

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

ORCID ID: [0000-0002-2273-8511](https://orcid.org/0000-0002-2273-8511)

Kalashnyk K. V., Assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4532-8953](https://orcid.org/0000-0002-4532-8953)

Відомості про авторів:

Хелемендик А. Б., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

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

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

Калашник К. В., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Хелемендик А. Б., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Рябоконт Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, профессор каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.



Калашник К. В., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Polaris Observatory Collaborators (2018). Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 3(6), 383–403. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30056-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30056-6)
- [2] Zhang, Y., Zhang, H., Elizabeth, A., & Liu, X. Q. (2013). Epidemiology of hepatitis B and associated liver diseases in china. *Chinese medical sciences journal*, 27(4), 243–248. [https://doi.org/10.1016/s1001-9294\(13\)60009-7](https://doi.org/10.1016/s1001-9294(13)60009-7)

- [3] World Health Organization. (2020, July 27). *Hepatitis B*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
- [4] Riabokon, O., Khelemendyk, A., & Riabokon, Y. (2018). Monitoring of patients with chronic hepatitis B without liver cirrhosis while determining the tactics of treatment. *Pathologia*, 15(2). <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.2.141428>
- [5] World Health Organization. (2015). *Guidelines for the prevention care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection*. <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>
- [6] Arzumanyan, A., Reis, H., & Feitelson, M. (2013). Pathogenic mechanisms in HBV- and CHB-associated hepatocellular carcinoma. *Nature Reviews Cancer*, 13(2), 123-135. <https://doi.org/10.1038/nrc3449>
- [7] Mitra, B., Thapa, R., Guo, H., & Block, T. (2018). Host functions used by hepatitis B virus to complete its life cycle: Implications for developing host-targeting agents to treat chronic hepatitis B. *Antiviral Research*, 158, 185-198. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.08.014>
- [8] Lang, T., Lo, C., Skinner, N., Locarnini, S., Visvanathan, K., & Mansell, A. (2011). The Hepatitis B e antigen (HBeAg) targets and suppresses activation of the Toll-like receptor signaling pathway. *Journal of Hepatology*, 55(4), 762-769. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.12.042>
- [9] Terrault, N. A., Lok, A., McMahon, B. J., Chang, K. M., Hwang, J. P., Jonas, M. M., Brown, R. S., Jr, Bzowej, N. H., & Wong, J. B. (2018). Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*, 67(4), 1560-1599. <https://doi.org/10.1002/hep.29800>
- [10] Larrubia, J. R., Benito-Martinez, S., Miquel-Plaza, J., Sanz-de-Villalobos, E., González-Mateos, F., & Parra, T. (2009). Cytokines – their pathogenic and therapeutic role in chronic viral hepatitis. *Revista española de enfermedades digestivas*, 101(5), 343-351. <https://doi.org/10.4321/s1130-01082009000500006>
- [11] Chi, H., Hansen, B. E., Tang, W. Y., Schouten, J. N., Sprengers, D., Taimr, P., Janssen, H. L., & de Knegt, R. J. (2017). Multiple biopsy passes and the risk of complications of percutaneous liver biopsy. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 29(1), 36-41. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000731>
- [12] European Association for Study of Liver, & Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado (2015). EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of hepatology*, 63(1), 237-264. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.006>
- [13] European Association for the Study of the Liver. (2017). EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of hepatology*, 67(2), 370-398. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.021>
- [14] Mikolasevic, I., Orlic, L., Franjic, N., Hauser, G., Stimac, D., & Milic, S. (2016). Transient elastography (FibroScan®) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease – Where do we stand?. *World journal of gastroenterology*, 22(32), 7236-7251. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i32.7236>
- [15] Parikh, P., Ryan, J. D., & Tsochatzis, E. A. (2017). Fibrosis assessment in patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. *Annals of translational medicine*, 5(3), 40. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.01.28>
- [16] Jeanu, C. F., Ungureanu, B. S., Săndulescu, D. L., Gheonea, I. A., Tudorașcu, D. R., Ciurea, M. E., & Purcărea, V. L. (2015). Quantification of liver fibrosis in chronic hepatitis B virus infection. *Journal of medicine and life*, 8(3), 285-290.
- [17] Zou, Z. Q., Wang, L., Wang, K., & Yu, J. G. (2016). Innate immune targets of hepatitis B virus infection. *World journal of hepatology*, 8(17), 716-725. <https://doi.org/10.4254/wjh.v8.i17.716>
- [18] Busca, A., & Kumar, A. (2014). Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection. *Virology journal*, 11, 22. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-22>
- [19] Colombatto, P., Barbera, C., Bortolotti, F., Maina, A. M., Moriconi, F., Cavallone, D., Calvo, P., Oliveri, F., Bonino, F., & Brunetto, M. R. (2018). HBV pre-core mutant in genotype-D infected children is selected during HBeAg/anti-HBe seroconversion and leads to HBeAg negative chronic hepatitis B in adulthood. *Journal of medical virology*, 90(7), 1232-1239. <https://doi.org/10.1002/jmv.25068>
- [20] Alexopoulou, A., & Karayiannis, P. (2014). HBeAg negative variants and their role in the natural history of chronic hepatitis B virus infection. *World journal of gastroenterology*, 20(24), 7644-7652. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7644>
- [21] Wang, W. T., Zhao, X. Q., Li, G. P., Chen, Y. Z., Wang, L., Han, M. F., Li, W. N., Chen, T., Chen, G., Xu, D., Ning, Q., & Zhao, X. P. (2019). Immune response pattern varies with the natural history of chronic hepatitis B. *World journal of gastroenterology*, 25(16), 1950-1963. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i16.1950>
- [22] Baiocchini, A., Montaldo, C., Conigliaro, A., Grimaldi, A., Correani, V., Mura, F., Ciccocanti, F., Rotiroli, N., Brenna, A., Montalbano, M., D'Offizi, G., Capobianchi, M. R., Alessandro, R., Piacentini, M., Schininà, M. E., Maras, B., Del Nonno, F., Tripodi, M., & Mancone, C. (2016). Extra-cellular Matrix Molecular Remodeling in Human Liver Fibrosis Evolution. *PloS one*, 11(3), e0151736. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151736>
- [23] Suhail, M., Abdel-Hafiz, H., Ali, A., Fatima, K., Damanhoury, G. A., Azhar, E., Chaudhary, A. G., & Qadri, I. (2014). Potential mechanisms of hepatitis B virus induced liver injury. *World journal of gastroenterology*, 20(35), 12462-12472. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i35.12462>
- [24] Yao, Q. Y., Feng, Y. D., Han, P., Yang, F., & Song, G. Q. (2020). Hepatic microenvironment underlies fibrosis in chronic hepatitis B patients. *World journal of gastroenterology*, 26(27), 3917-3928. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i27.3917>
- [25] Deng, Y. Q., Zhao, H., Ma, A. L., Zhou, J. Y., Xie, S. B., Zhang, X. Q., Zhang, D. Z., Xie, Q., Zhang, G., Shang, J., Cheng, J., Zhao, W. F., Zou, Z. Q., Zhang, M. X., Wang, G. Q., & China HepB Related Fibrosis Assessment Research Group (2015). Selected Cytokines Serve as Potential Biomarkers for Predicting Liver Inflammation and Fibrosis in Chronic Hepatitis B Patients With Normal to Mildly Elevated Aminotransferases. *Medicine*, 94(45), e2003. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002003>
- [26] Lee, U. E., & Friedman, S. L. (2011). Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*, 25(2), 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2011.02.005>
- [27] Liu, C., Chen, X., Yang, L., Kisseleva, T., Brenner, D. A., & Seki, E. (2014). Transcriptional repression of the transforming growth factor β (TGF- β) Pseudoreceptor BMP and activin membrane-bound inhibitor (BAMBI) by Nuclear Factor κ B (NF- κ B) p50 enhances TGF- β signaling in hepatic stellate cells. *The Journal of biological chemistry*, 289(10), 7082-7091. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.543769>
- [28] Tarrats, N., Moles, A., Morales, A., García-Ruiz, C., Fernández-Checa, J. C., & Mari, M. (2011). Critical role of tumor necrosis factor receptor 1, but not 2, in hepatic stellate cell proliferation, extracellular matrix remodeling, and liver fibrogenesis. *Hepatology*, 54(1), 319-327. <https://doi.org/10.1002/hep.24388>

Морфофункціональний стан щитовидної залози плода на тлі материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*

П. С. Талапова *A,B,C,D, І. В. Сорокіна E,F

Харківський національний 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:

щитовидна залоза, плід, щури Вістар, кишкова паличка, золотистий стафілокок, клебсієла пневмонії, материнсько-плодовий обмін, інфекційні ускладнення вагітності.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 86-95

*E-mail:
polina.talapova@gmail.com

Мета роботи – експериментальним шляхом відтворити та визначити морфофункціональний стан щитовидної залози (ЩЗ) плода щура під впливом материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Матеріали та методи. Виконали контрольоване експериментальне дослідження з блоковою рандомізацією на 85 самицях щурів породи Wistar Albino Glaxo, яких залежно від групи (призначали випадково) до вагітності не інфікували чи інфікували *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*. Здійснили патоморфологічне дослідження 37 ЩЗ, що отримані від шурячих плодів, використовуючи комплекс методів: гістологічних (зabarвлення гематоксиліном та еозином, за Маллорі), непрямі імунофлуоресценції з застосуванням МКА до Т4, колагену I і III типів, IL-6 та TNF, морфометрії (вимірювання морфофункціональних показників у програмі ImageJ). Статистичний аналіз виконали у програмному середовищі R із підключенням пакетів «ggplot», «dplyr», «pastecs», «graphics» для виконання тесту Шапіро–Вілків, застосування критерію Бартлетта та методу Бокса–Кокса, для дисперсійного аналізу (ANOVA) та побудови графіків. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду, встановлену як 0,001 ($p < 0,001$).

Результати. У щитовидних залозах плодів від матерів, що інфіковані *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*, порівняно з групою контролю визначали статистично вірогідне збільшення діаметра та площі фолікула, площі колоїду, висоти та площі тироциту, інтенсивності та площі світіння фолікулярних тироцитів і колоїду у препаратах, оброблених МКА до Т4, площі флуоресценції колагену I та III типів, а також зменшення площі ядра щодо площі цитоплазми, що позначилося зменшенням ядерно-цитоплазматичного відношення. Найбільші статистичні відмінності морфофункціональних показників від норми спостерігали у ЩЗ плодів від матерів, інфікованих *S. aureus*.

Висновки. Зміни морфофункціональних параметрів щитовидної залози плодів щурів, що зазнали впливу материнсько-плодових інфекцій, спричинених *E. coli*, *S. aureus* і *K. pneumoniae*, є односпрямованими і статистично вірогідно відрізняються від тих, що реєструють при фізіологічному органогенезі. Вони відповідають підвищенню секреторної активності залози та свідчать про прискорення темпів визрівання органа.

Key words:

thyroid gland, fetus, rats, Wistar, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, maternal-fetal exchange, pregnancy complications, infectious.

Pathologia
2021; 18 (1), 86-95

The morphofunctional state of the fetal thyroid gland in maternal-fetal infections caused by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*

P. S. Talapova, I. V. Sorokina

Aim – experimental modelling and determination of the morphofunctional state of the thyroid gland of a rat fetus in maternal-fetal infections caused by *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*.

Material and methods. We conducted a controlled experimental study with block randomization on 85 female Wistar Albino Glaxo rats, which, depending on the group assigned randomly, were infected or not with *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae* before pregnancy with subsequent pathomorphological examination of 37 thyroid glands obtained from rats' fetuses. The set of methods was applied: histological – HE and Mallory staining; indirect immunofluorescence: moAb to T4, types I and III collagen, IL-6, and TNF; histomorphometry using ImageJ software. Statistical analysis was performed with the R environment and packages “ggplot”, “dplyr”, “pastecs”, “graphics” for Shapiro–Wilk test, Bartlett's test, Box-Cox method, ANOVA, and plotting. The null hypothesis was rejected in cases when an error probability (P) did not exceed the type I error set at 0.001 ($P < 0.001$).

Results. In the thyroid glands of fetuses obtained from mothers infected with *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*, in comparison with the control group, a statistically significant increase in the following morphofunctional parameters was determined: the diameter and area of the follicle, the area of the colloid, the height and area of the thyrocyte, the intensity and area of the fluorescence of the follicular thyrocytes and colloid, in samples labeled MoAb to T4, the intensity of the fluorescence of collagen types I and III; a decrease in the area of the nucleus in relation to the area of the cytoplasm, which was reflected in a decrease in the NCR index. The most pronounced differences in morphological and functional parameters from the norm were found in the thyroid gland of fetuses from mothers infected with *S. aureus*.

Conclusions. The revealed changes in the morphofunctional parameters of the thyroid gland of a rat fetus, which experienced the influence of maternal-fetal infections caused by *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*, are unidirectional and statistically significantly different from those recorded during physiological organogenesis. They correspond to an increase in the gland's secretory activity and indicate the acceleration of organ's maturation.

Морфофункциональное состояние щитовидной железы плода на фоне материнско-плодовых инфекций, вызванных *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*

П. С. Талапова, И. В. Сорокина

Цель работы – экспериментальным путем воспроизвести и определить морфофункциональное состояние щитовидной железы (ЩЖ) плода крысы под влиянием материнско-плодовых инфекций, вызванных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*.

Материалы и методы. Проведено контролируемое экспериментальное исследование с блоковой рандомизацией на 85 самках крыс популяции Wistar Albino Glaxo, которые в зависимости от группы (назначали случайным образом) до беременности подвергались или нет инфицированию *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*. Патоморфологически исследовали 37 ЩЖ, полученных от их плодов, с использованием комплекса методов: гистологических (окраска гематоксилином и эозином, по Маллори), непрямой иммунофлуоресценции с применением МКА к Т4, коллагена I и III типов, IL-6 и TNF, морфометрии (замеры морфофункциональных показателей в программе ImageJ). Статистический анализ выполнен в программной среде R с подключением пакетов «ggplot», «dplyr», «pastecs», «graphics» для проведения теста Шапиро–Уилка, применения критерия Бартлетта и метода Бокса–Кокса, для дисперсионного анализа (ANOVA) и построения графиков. Нулевую гипотезу об отсутствии различий между группами отбрасывали, когда вероятность ошибки (p) не превышала ошибку первого рода, установленную как 0,001 ($p < 0,001$).

Результаты. В щитовидных железах плодов от матерей, инфицированных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, по сравнению с группой контроля определили статистически достоверное увеличение диаметра и площади фолликула, площади коллоида, высоты и площади тироцита, интенсивности и площади свечения фолликулярных тироцитов и коллоида в препаратах, обработанных МКА к Т4, площади флуоресценции коллагенов I и III типов, а также уменьшение площади ядра в отношении площади цитоплазмы, что отразилось в уменьшении ядерно-цитоплазматического отношения. Наиболее выраженные отличия морфофункциональных параметров от нормы обнаружены в ЩЖ плодов от матерей, инфицированных *S. aureus*.

Выводы. Изменения морфофункциональных параметров щитовидной железы плода крысы, испытавшего влияние материнско-плодовых инфекций, вызванных *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*, однонаправлены и статистически достоверно отличаются от зарегистрированных при физиологическом органогенезе. Они соответствуют повышению секреторной активности железы и свидетельствуют об ускорении темпов созревания органа.

Ключевые слова: щитовидная железа, плод, крысы Вистар, кишечная палочка, золотистый стафилококк, клебсиелла пневмонии, материнско-плодовый обмен, инфекционные осложнения беременности.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 86-95

Відомо, що ключовими факторами у процесах розвитку суспільства є покращення здоров'я нащадків, особливо в часи військових конфліктів, глобального потепління, природних катаклізмів і пандемій. Саме тому патологія перинатального періоду викликає чималий інтерес у лікарів. Крім того, вивчення її морфологічного субстрату за тих чи інших умов дає змогу розробляти новітні методи профілактики та своєчасної діагностики різних захворювань у дітей.

Протягом останніх років особливий інтерес науковців і практичних лікарів прикутий до внутрішньоутробних інфекцій (ВУІ), які посідають важливе місце серед причин перинатальної смертності у світі [1]. Вважають, що збудниками ВУІ є здебільшого віруси [2], але останнім часом усе частіше реєструють випадки внутрішньоутробної загибелі плода, що пов'язані з бактеріальними інфекціями, як-от викликаними *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae* [3–5]. Отже, структура перинатальної патології потребує продовження вивчення для зменшення негативних наслідків відсутності діагностичної настороженості серед лікарів щодо хронічних латентних бактеріальних інфекцій у вагітних.

Крім того, через пандемію COVID-19, українською важливо вміти комплексно оцінювати ризики та прогнозувати і ранні, й віддалені наслідки інфікування жінок під час вагітності, що завжди супроводжується імуносупресією [6,7]. Через це істотно підвищується ризик інфікування SARS-CoV-2 з розвитком надалі автоінфекції, що викликана представниками мікробіома людини [8,9]. Розуміння морфологічних наслідків адаптаційно-компенсаторних процесів, що відбуваються в органах і системах плода в цей час, дасть змогу вчасно

вжити необхідних діагностично-профілактичних заходів щодо передчасної інвалідизації та смерті дітей.

У фаховій літературі описані морфофункціональні стани шлунково-кишкової, сечовидільної та адреналової систем за умов материнських інфекцій, що спричинені мікробіотою людини [10–12]. Але щитовидна залоза (ЩЗ), яка відіграє вкрай важливу роль у процесах онтогенезу [13,14], в цьому контексті залишається не вивченою. Доцільність вивчення підтверджується великою кількістю вже виконаних експериментальних досліджень, мета яких полягала у визначенні особливостей гістоархітектоники ЩЗ у різних етіопатогенетичних умовах порівняно з фізіологічним станом [14–17]. Як експериментальних тварин здебільшого використовували щурів, оскільки вони мають геном, що на 95 % подібний до людського [18,19]. Для оцінювання морфофункціонального стану органів і систем людини впродовж перинатального періоду вважають доречним вивчати зміни в органах саме щурячих плодів [20,21].

Мета роботи

Експериментальним шляхом відтворити та визначити морфофункціональний стан щитовидної залози плода щура під впливом материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Матеріали і методи дослідження

На базі експериментальної біологічної клініки та кафедри патологічної анатомії Харківського націо-

нального медичного університету для порівняння структурно-функціональної картини ЩЗ щурячих плодів за необхідних умов здійснили контрольоване експериментальне дослідження з блоковою рандомізацією на лабораторних тваринах – 85 самиць щурів популяції Wistar Albino Glaxo (WAG, м. Харків, Україна). Далі виконали патоморфологічне дослідження 37 ЩЗ від їхніх плодів. Дизайн дослідження базувався на відомих щурячих моделях [10–12,20]. Основа для експериментального дослідження – патент України № 108806 «Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері» [21].

Блокова рандомізація полягала в тому, що всі умови використовували тільки раз, перш ніж будь-яка з них траплялася вдруге, тобто в межах кожного блоку дослідження порядок розташування умов був випадковим; це допомогло виключити можливість передбачення учасниками перебігу подій. Розміри блоків відповідали кількості тварин або об'єктів, з якими відбувалася взаємодія, окремо для кожного етапу експерименту. Для осліплення учасників дослідження та приховування інформації про контрольований вплив під час експерименту поділ тварин за групами відбувався випадковим чином за допомогою мобільного застосування «Генератор випадкових чисел». Кожній клітці, тварині та зразкові аналогічно присвоювали 12-значні цифрові коди, заздалегідь згенеровані за допомогою мови запитів SQL. Крім того, всіх самиць експонували до стресу через ін'єкційний шлях введення суспензії з бактеріальними клітинами або води для ін'єкції. Клітки до і після маніпуляцій випадково позмінно працівники віварію переставляли з місця на місце.

Для участі в експерименті встановили критерії включення тварин: вид – щури популяції WAG; карантин – адаптація після транспортування у груповій ізоляції з використанням бар'єрної системи не менше ніж 10 днів; однакові умови утримання, повноцінний харчовий раціон – комбікорм із йодованим преміксом; передбачуваний мікробіологічний статус – поліпшені конвенційні (Minimal Diseases); температура тіла на момент огляду – 38,5–39,5 °C; вік: для самиць – 8–10 місяців, для самців – 10–12 місяців; вага: для самиць – 210–230 г, для самців – 300–335 г; фізіологічний репродуктивний стан – диференційовані вторинні статеві ознаки, для самиць – естральний цикл тривалістю 4–5 днів, nulligravida; відсутність наявних симптомів відомих захворювань.

Необхідна кількість експериментальних тварин, що відповідали критеріям включення, випадково поділена на 4 групи. Група № 1 (далі – MC, «Mothers, Control»), n = 10) – контрольна, представлена тваринами, яким одноразово підшкірно (0 доба експерименту) та тричі внутрішньоочеревинно вводили воду для ін'єкції у дозі 0,1 мл (10, 20 і 30 доба експерименту). Групи № 2–4 (далі – MEC, «Mothers, *Escherichia coli*», n = 25; MSA, «Mothers, *Staphylococcus aureus*» (n = 25); MKP, «Mothers, *Klebsiella pneumoniae*», (n = 25) – експериментальні групи дослідження, самиці щурів, сенсibilізовані одноразовими підшкірними ін'єкціями суспензії вбитих нагріванням клітин референтних штамів *Escherichia coli* (ATCC 25922

(F50)), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) і *Klebsiella pneumoniae* (NCTC 5055) у дозі 0,1 мл щільністю 1 од., 3 од. та 1 од. за шкалою McFarland відповідно (0 доба експерименту). Після цього тварин кожної групи тричі інтраперитонеально інфікували суспензією з мікробних клітин, розведених у 0,1 мл 20 % розчину маніту, в кількості від 300×10^6 до 1×10^9 для групи MEC, від 200×10^6 до 800×10^6 для групи MSA, від 100×10^6 до 500×10^6 для групи MKP (10, 20 та 30 доби експерименту).

Після цього самиць запліднювали природним шляхом через підсаджування здорових самців у клітки (31–32 доба експерименту). Факт запліднення підтверджували мікроскопією вагінальних мазків. Зовнішні ознаки вагітності фіксували на 15 добу вагітності (46 доба експерименту): зміна поведінки, збільшення округлості живота та молочних залоз самиць. На 20 добу гестаційного періоду (51 доба експерименту) частину тварин виводили з дослідження шляхом введення в бокову хвостову вену 5 % розчину тіопенталу натрію (UA/3916/01/01) з розрахунку 1 мг на 100 г маси тіла тварини та миттєвої декапітації. Окремо для підтвердження факту внутрішньоутробної загибелі шляхом миттєвої декапітації виконували евтаназію плодів, яких вилучали з порожнини матки хірургічним шляхом. Після цього з тіл плодів відсепаровували ЩЗ як шийно-головні тканинні фрагменти, фіксували у 10 % розчині формаліну, промивали, ущільнювали шляхом зневоднення у спиртах концентрації, що зростає, заливали в парафін.

Усі зразки плодів ЩЗ поділили на групи за впливом, що отримувала вагітна матір: група № 1 – контрольна (далі – FC, «Fetuses, Control»), n = 10) включала ЩЗ плодів від матерів із фізіологічною вагітністю; групи № 2–4, або групи дослідження включали ЩЗ плодів, матері яких до вагітності зазнавали впливу *Escherichia coli* (FEC – «Fetuses, *E. coli*»), n = 10), *Staphylococcus aureus* (FSA – «Fetuses, *S. aureus*»), n = 8) та *Klebsiella pneumoniae* (FKP – «Fetuses, *K. pneumoniae*»), n = 9).

Для вивчення морфофункціональних показників ЩЗ плодів використовували комплекс гістологічних, імунофлуоресцентних, морфометричних і статистичних методів дослідження. Парафінові зрізи завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном-еозинном для ідентифікації органа та його основних структур, пікрофуксином за методом ван Гізона та за Маллорі для вивчення сполучних тканин ЩЗ. Виконали оптичну мікроскопію на мікроскопі Carl Zeiss PrimoStar і мікрофотозйомку на камеру Carl Zeiss Axiocam 105 color із програмним забезпеченням ZEN Blue Edition. На знімках виконали електронну морфометрію з використанням спеціалізованої програми для опрацювання зображень, у тому числі біологічних, ImageJ [22–24]. Для кожного зразка на збільшенні $\times 400$ окремо вимірювали діаметр фолікула (120 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), площу колоїду (120 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), висоту й площу тироциту (210 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка), площу ядра та цитоплазми з обрахунком ядерно-цитоплазматичного індексу для клітини (210 вимірювань у 10 полях зору для кожного зразка).

З використанням непрямого методу Кунса частину зрізів обробляли моноклональними антитілами (МКА) до тироксину (Т4) (Chemicon international), колагену I та III типів (Novocastra Laboratories Ltd), інтерлейкіну-6 (IL-6) (Novocastra Laboratories Ltd) та фактора некрозу пухлини (TNF) (Novocastra Laboratories Ltd). Препарати вивчали з використанням люмінесцентного мікроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL з наступним захопленням зображень цифровою камерою CANON A520 й аналізом площ та інтенсивності світіння Т4, колагену I і III типів, IL-6 і TNF у програмі ImageJ за авторською методикою, що викладена далі. Кожне зображення, згідно з рекомендаціями розробників програмного забезпечення [25], конвертували у «weighted RGB» (Edit > Options > Conversions) та калібрували (Analyze > Calibrate), далі за допомогою порогу кольорів і математичного алгоритму максимальної ентропії (Image > Adjust > Threshold Color; надбудови: Thresholding method: MaxEntropy, Brightness – 55, інші параметри – без змін > кнопка «Select») визначали ділянки інтересу (region of interest – ROI), представлені відокремленими ділянками флуоресценції. Далі аналізували частки (Analyze > Analyze Particles, надбудови: Size (pixel ^2): 0-Infinity, Circularity: 0.00 – 1.00, Show: Count Masks, позначки поряд із Display results і Summarize => кнопка «OK») із кількісним визначенням загальної площі зон світіння («Total Area») та оптичної щільності (OD = «Mean Gray Value»). Перед статистичним аналізом результати реплікаційних вимірювань, виконаних на одному зразку впродовж морфометрії та імунофлуоресцентного дослідження, були усереднені до одного значення.

Статистичний аналіз даних виконали у програмному середовищі для статистичних обчислень R (ліцензія: GNU GPL v.2) з використанням пакетів «ggplot2», «dplyr», «pastecs» та «graphics». Бібліотеки цих пакетів використали для визначення ступенів центральної тенденції та мінливості набору даних, виконання тесту Шапіро–Вілкі на нормальність розподілу та перевірки рівності дисперсій кількох вибірок за допомогою критерію Бартлетта. Коли дані не відповідали нормальному розподілу чи однорідності дисперсії, їх нормалізували за методом Бокса–Кокса. Після цього виконували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) для порівняння середніх значень кількісних ознак для кожного показника, апостеріорні порівняння за методом Бонферроні та тесту Тьюкі (95 % рівень вірогідності) для контролю групової ймовірності помилки.

Для всіх статистичних критеріїв помилка першого роду встановлена на рівні 0,001. Нульову гіпотезу про відсутність відмінностей між групами відкидали, коли вірогідність помилки (p) не перевищувала помилку першого роду ($p < 0,001$). Результати наведено як $M \pm SD$, де M – середня арифметична величина, а SD – стандартне квадратичне відхилення.

Утримання, догляд, здійснення експерименту, евтаназію, утилізацію біологічних матеріалів виконали згідно з Директивою Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу «Про захист тварин, яких використовують з науковими цілями» (2010 р.) і стандартів Good Laboratory Practice.

Результати

У всіх групах під час оглядової мікроскопії на збільшенні $\times 40$ визначили, що ЩЗ зовні вкриті сполучнотканинною капсулою та мають дві (інколи – одну) бічні частки і перешийок. Бічні частки прилягають до латеральних поверхонь щитовидного або перснеподібного хрящів трахеї залежно від рівня декапітації. Перешийок знаходиться спереду від трахеї, а дорсально-номедіальні поверхні бічних часток ЩЗ прилягають до стравохідно-трахейних жолобків. До зовнішніх відділів бічних часток залоз прилягають судинно-нервові сплетення шиї. Здебільшого у препаратах ЩЗ виявляли парашитовидні залози.

Гістологічна будова часток чотирьох експериментальних груп однотипна. Так, у часточках, що формуються прошарками сполучнотканинної капсули, є секреторні клітини, які формували структури двох видів: фолікули, стінка яких представлена одним шаром клітин, прилеглих до базальної мембрани, а вміст, якщо визначався, – гомогенним колоїдом; та екстрафолікулярний епітелій, або подушечки Сандерса, – компактні скупчення клітин поза межами фолікулів із базально розташованими ядрами. С-клітини мали овальну форму, кругле базофільне ядро та зернисту цитоплазму.

У контрольній групі (FC), ЩЗ представлена острівцями фолікулярного епітелію, що візуально нагадував десквамативний через щільне розташування тироцитів. Острівці були відокремлені сполучнотканинними прошарками з ледь помітними капілярами. Переважно в периферійних відділах органа спостерігали поодинокі фолікули, заповнені оптично гущішим колоїдом (рис. 1). Тироцити пласкої або кубічної форми, мали великі базально розташовані ядра з дрібними грудочками хроматину й обвід еозинофільної цитоплазми.

У групах дослідження (FEC, FSA, FKP) спостерігали аналогічну одна до одної гістоархітектоніку: великі розвинуті фолікули та візуально невеликі острівці екстрафолікулярного епітелію. Просвіти фолікулів виглядали ширшими, а колоїд з явищами крайової вакуолізації виглядав більш рідким і фокально пінистим, виявляли також одиночі десквамовані тироцити неправильної форми з темним ядром у стані каріорексису або каріопікнозу (рис. 2). Фолікулярний епітелій кубічно-циліндричної форми мав базально розташовані видовжені ядра, що виглядали меншими щодо цитоплазми, ніж у групі контролю.

Морфометрія ЩЗ показала, що в усіх групах дослідження (FEC, FKP, FSA) порівняно з групою контролю (FC) вірогідно збільшились показники: діаметр фолікула, D_{fol} ($17,655 \pm 0,641 \mu\text{m}$, $20,227 \pm 0,169 \mu\text{m}$, $19,284 \pm 0,322 \mu\text{m}$ проти $16,213 \pm 0,661 \mu\text{m}$ відповідно, $p < 0,001$), площа фолікула, S_{fol} ($445,012 \pm 2,313 \mu\text{m}^2$, $491,160 \pm 1,531 \mu\text{m}^2$, $497,304 \pm 2,984 \mu\text{m}^2$ проти $233,804 \pm 2,145 \mu\text{m}^2$, $p < 0,001$), площа колоїду, S_{col} ($117,112 \pm 2,626 \mu\text{m}^2$, $122,716 \pm 2,497 \mu\text{m}^2$, $128,663 \pm 2,141 \mu\text{m}^2$ проти $111,245 \pm 2,963 \mu\text{m}^2$ відповідно, $p < 0,001$), висота тироциту, H_{thy} ($10,353 \pm 0,077 \mu\text{m}$, $11,911 \pm 0,054 \mu\text{m}$, $12,406 \pm 0,056 \mu\text{m}$ проти $5,934 \pm 0,070 \mu\text{m}$ відповідно, $p < 0,001$), площа тироциту, S_{thy} ($56,506 \pm 0,332 \mu\text{m}^2$, $64,581 \pm 0,133 \mu\text{m}^2$, $65,413 \pm 0,199 \mu\text{m}^2$ проти $20,833 \pm 0,587 \mu\text{m}^2$ відповідно, $p < 0,001$). Але

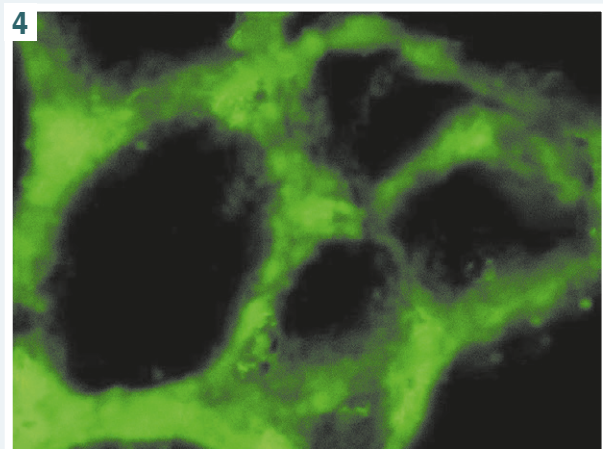
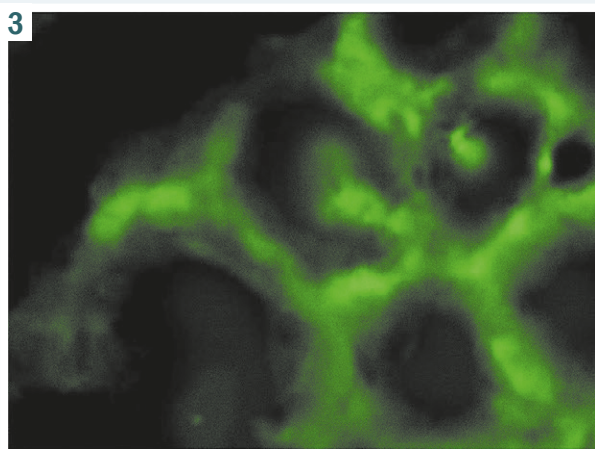
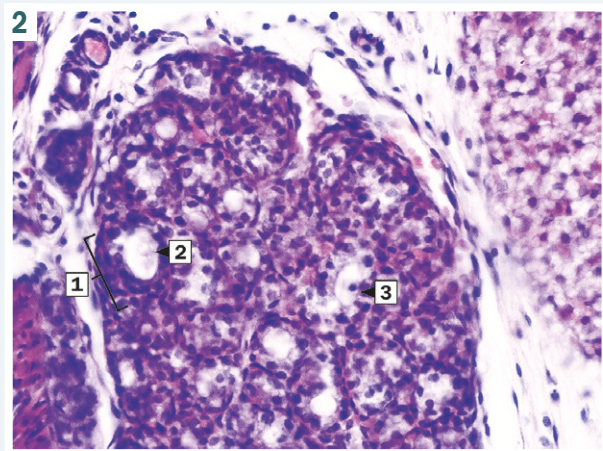
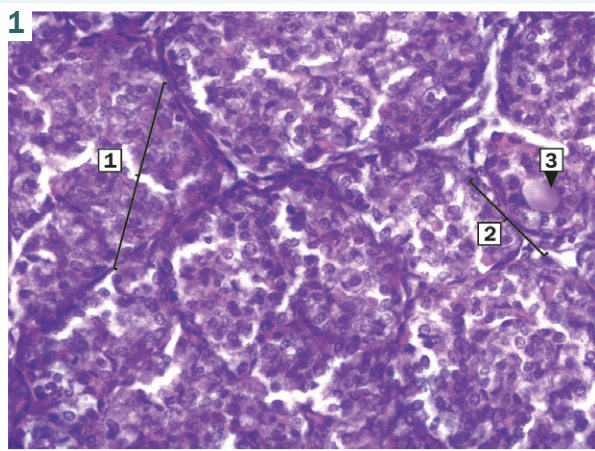


Рис. 1. ЩЗ плода щура групи FC. Острівці щільно розташованих тироцитів, відокремлених сполучнотканинними прошарками (1) і поодиноким розвинутим фолікулом (2) із густим колоїдом (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Рис. 2. ЩЗ плода щура групи FSA. Великий фолікул округлої форми (1), заповнений рідким і фокально пінистим колоїдом з явищами крайової вакуолізації (2); десквамований тироцит неправильної форми (3) з темним ядром у стані каріопікнозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 400$.

Рис. 3. Яскраве світіння тироцитів у препараті ЩЗ плода групи контролю, що оброблений МКА до T4. Непрямий метод Кунса з МКА до T4, $\times 600$.

Рис. 4. Яскраве світіння тироцитів у препараті ЩЗ плода групи FSA, що оброблений МКА до T4. Непрямий метод Кунса з МКА до T4, $\times 600$.

зменшилася площа ядра, $Snuc (22,624 \pm 0,069 \mu m^2, 24,389 \pm 0,080 \mu m^2, 27,388 \pm 0,075 \mu m^2)$ проти $14,404 \pm 0,055 \mu m^2$ відповідно, $p < 0,001$) щодо площі цитоплазми, $Scyt (38,520 \pm 0,175 \mu m^2, 40,761 \pm 0,088 \mu m^2, 41,931 \pm 0,069 \mu m^2)$ проти $12,731 \pm 0,086 \mu m^2$, $p < 0,001$), що позначилося на зменшенні показника ядерно-цитоплазматичного відношення (NCR) ($0,619 \pm 0,096, 0,606 \pm 0,070, 0,651 \pm 0,091$ проти $1,112 \pm 0,067$ відповідно, $p < 0,001$). Найбільші відмінності від групи контролю за параметрами показала група FSA, а найнижчі – FEC.

Імунофлуоресцентне дослідження (ІФД) інтенсивності світіння таких маркерів функціональної активності ЩЗ, як T4, колаген I і III типів, IL-6 і TNF показало результати: середня інтенсивність світіння фолікулярних тироцитів і колоїду у препаратах, що оброблені МКА до T4, OD T4, в контрольній групі висока ($79,820 \pm 0,199$ у. о.) (рис. 3), а у групах FEC, FKP, FSA вона ще вища, різниця статистично значуща ($80,652 \pm 0,217$ у. о., $85,530 \pm 0,132$ у. о.,

$87,084 \pm 0,204$ у. о. відповідно, $p < 0,001$). Крім того, у групах дослідження виявили більші площі зон світіння, S T4, (133377 ± 710 px; 138247 ± 747 px; 169089 ± 792 px проти 129090 ± 544 px, $p < 0,001$) (рис. 4).

ІФД процесів колагеногенезу показало, що у ЩЗ плодів групи контролю спостерігали слабке світіння колагену I і III типів, OD Col 1 і OD Col 3, ($33,842 \pm 0,158$ та $31,522 \pm 0,188$ відповідно) в капсулі, стінках судин і стромі ЩЗ, а у групах FEC, FKP і FSA визначили помірне збільшення площі експресії цих маркерів, S Col 1 та S Col 3 (98339 ± 105 px / 40110 ± 972 px; 97879 ± 101 px / 55148 ± 884 px; 98138 ± 61 px / 59094 ± 1178 px відповідно, $p < 0,001$); світіння у групах FEC і FKP – від слабкого до помірного ($36,505 \pm 0,183$ у. о. / $38,246 \pm 0,336$ у. о.; $40,170 \pm 0,266$ у. о. / $43,150 \pm 0,165$ у. о.). У групі FSA значення оптичної щільності відповідали помірному світінню колагену I та III типів ($51,915 \pm 0,234$ у. о. / $49,673 \pm 0,138$ у. о.).

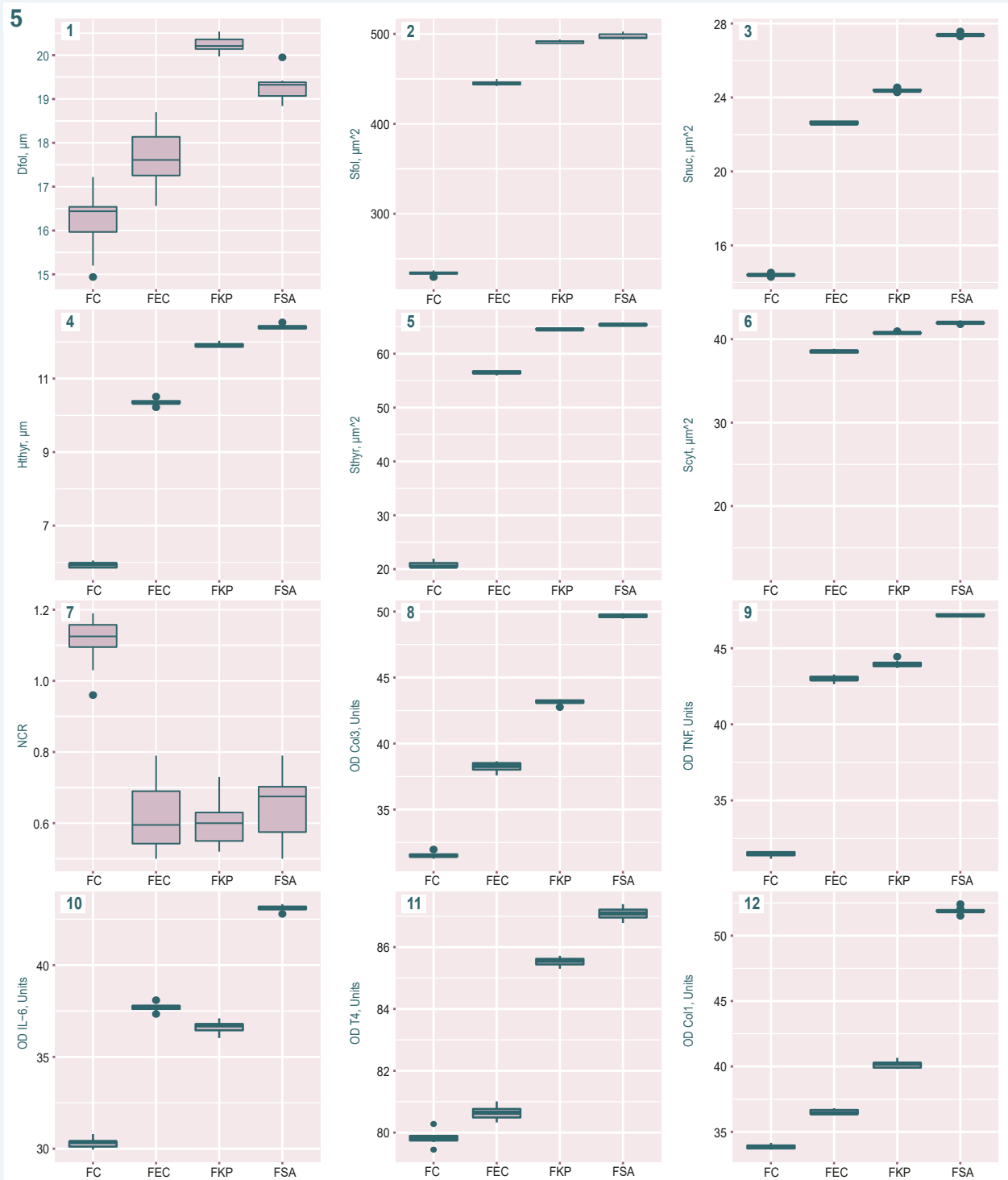


Рис. 5. Середні значення показників морфофункціонального стану ЩЗ плодів щурів. **1:** Dfol – діаметр фолікула; **2:** Sfol – площа фолікула; **3:** Snuc – площа ядра тироциту; **4:** Hthyr – висота ядра тироциту; **5:** Sthyr – площа тироциту; **6:** Scyt – площа цитоплазми тироциту; **7:** NCR – ядерно-цитоплазматичне відношення; **8:** OD Col3 – оптична щільність світіння колагену III типу; **9:** OD TNF – оптична щільність світіння фактора некрозу пухлини; **10:** OD IL-6 – оптична щільність світіння інтерлейкіну-6; **11:** OD T4 – оптична щільність світіння тироксину; **12:** OD Col1 – оптична щільність світіння колагену I типу.

ІФД функціональної активності популяції макрофагів ЩЗ плодів показав, що незалежно від групи експресія маркерів IL-6 і TNF, OD IL-6 і OD TNF залишалася слабкою, але у групі FSA порівняно з іншими групами кількісні показники світіння та IL-6, і TNF вірогідно вищі ($30,316 \pm 0,234$ у. о./ $31,474 \pm$

$0,157$ у. о.; $37,700 \pm 0,190$ у. о./ $42,983 \pm 0,181$ у. о.; $36,633 \pm 0,285$ у. о./ $43,960 \pm 0,222$ у. о. проти $43,096 \pm 0,148$ у. о./ $47,173 \pm 0,083$ у. о., $p < 0,001$). Середні значення основних показників морфофункціональної активності щитовидної залози наведені на рис. 5.

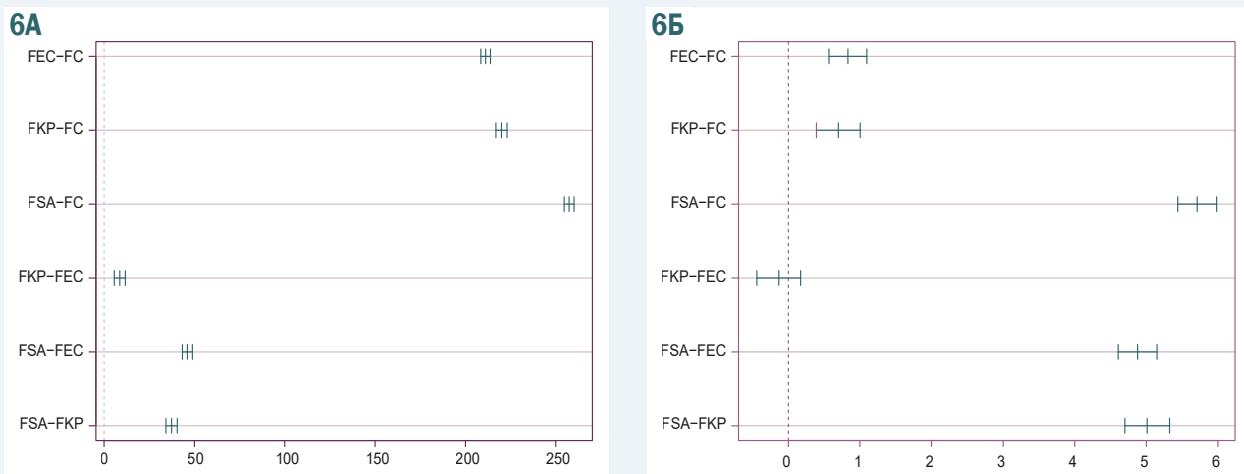


Рис. 6. Різниця середніх значень Sfol (А) та OD T4 (Б).

Обговорення

Морфофункціональні показники всіх груп дослідження (FEC, FSA, FKP) порівняно з групою контролю мали односпрямовані зміни: передусім привернуло увагу зменшення показника NCR на тлі збільшення висоти та площі тироцитів. Це явище завжди вказує на підвищення функціональної активності ЩЗ на час взяття тканини. За відомостями фахової літератури, саме NCR як прояв функціональної активності ядерно-цитоплазматичного апарату тироциту – основний морфометричний параметр для оцінювання функціонального напруження тироїдної паренхіми, а інші параметри є тільки похідними від NCR [26,27].

Цікаво, що в усіх групах дослідження визначили збільшення діаметра фолікула, що є індикатором зниження синтетичної активності органа після народження [28], але в контексті розвитку плодової ЩЗ може вказувати і на прискорення темпів внутрішньоутробного дозрівання фолікулів.

Збільшення інтенсивності світіння тироцитів, коли зразки ЩЗ обробляли МКА до T4, в усіх групах дослідження порівняно з групою контролю свідчить про підвищення секреції, накопичення T4 фолікулярним епітелієм і підтверджує факт функціонального напруження залози. З одного боку, цей стан може бути викликаний активацією гуморального імунітету матері у відповідь на інфекційний процес, а з іншого – безпосередньою дією тироїдних гормонів матері, котрі, як відомо, беруть активну участь у формуванні плодової ЩЗ до третього триместру вагітності, коли гіпофіз плода починає синтезувати тироотропний гормон (ТТГ) [29].

За даними наукової літератури, зазвичай при інфекційній патології у крові спостерігають зниження рівня T3, що індукує проліферацію таргетних до тироїдних гормонів клітин [30,31], як-от тироцитів ЩЗ плода. Це може призвести до прискорення темпів органогенезу ЩЗ і передчасного виснаження адаптивно-компенсаторних резервів.

Результати ІФД із МКА до колагену I і III типів підтвердили помірне посилення процесів колагено-

генезу у ЩЗ плодів, які розвивалися за умов материнсько-плодової інфекції. Порівнюючи результати за групами, виявили: середні значення оптичної щільності та площі імунофлуоресценції колагену I та III типів найвищі у плодів, які розвивалися за умови впливу *S. aureus*. У групах FC, FEC, FKP оптична щільність і площа флуоресценції колагену III типу переважали над флуоресценцією колагену I типу, що корелює з результатами попередніх досліджень, за якими в організмі спочатку розвивається колаген III типу, а згодом визріває колаген I типу [32]. Однак у групі FSA показники світіння колагену I типу – вищі за відповідні показники III типу, що може свідчити про прискорене дозрівання ЩЗ під впливом агресивнішого чинника.

Незначне посилення експресії маркерів IL-6 і TNF при слабкому світінні у групах дослідження вказує на наявність потенціалів імунного запалення, посилення процесів колагеногенезу та, як результат, прискореного дозрівання ЩЗ унаслідок активації окислювального стресу [33,34].

Найбільш виражені морфофункціональні зміни у групах дослідження порівняно з групою контролю визначили у групі плодів, що отримані від матерів, інфікованих *S. aureus*. Це може вказувати на істотніший морфогенетичний вплив цього збудника на систему «мати – плацента – плід». Найменший, але не менш важливий вплив мала материнсько-плодова інфекція, спричинена *E. coli*, проміжне місце належить інфекції, що спричинена *K. pneumoniae* (рис. 6).

Отже, результати дослідження показали, що материнсько-плодова інфекція, спричинена бактеріями-опортуністами, можуть виснажувати адаптивно-компенсаторні механізми ЩЗ плода шляхом індукції проліферативної активності клітин ЩЗ у відповідь на тривалу антигенну стимуляцію та зміну рівня тироїдних гормонів в організмі матері через підгострий інфекційно-запальний процес. Крім того, за даними фахової літератури, постійний вплив ушкоджувального фактора у крові та тканинах плода може призвести до виснаження вродженого імунітету власне щитовидної залози, який у нормі зумовлений запрограмованою здатністю тироцитів і клітин стромы продукувати

прозапальні цитокини через активацію Toll-подібних рецепторів [35].

Морфофункціональні зміни стану щитовидної залози нащадків шурів комплексно можуть бути передвісником передчасного виснаження адаптивно-компенсаторного резерву, що здійснюється шляхом клітинного й молекулярного компонентів вродженої імунної системи щитовидної залози. Отже, можна припустити, що в період постнатального онтогенезу можливий розвиток аутоімунного тиреоїдиту, але ця гіпотеза потребує підтвердження шляхом вивчення надалі морфофункціонального стану щитовидної залози у новонароджених за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Результати цього дослідження можна екстраполювати на людину.

Висновки

1. У щитовидній залозі плода шура, що зазнав впливу материнсько-плодових інфекцій, спричинених *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*, виявили морфофункціональні зміни, які є односпрямованими та вірогідно відрізняються від тих, що реєструють при фізіологічному органогенезі.

2. Ці зміни відповідають підвищенню секреторної активності залози, на це вказує зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу, збільшення висоти та площі тироциту, посилення інтенсивності та збільшення площі флуоресценції Т4 у препаратах, що оброблені відповідними МКА.

3. Наведені тканинні реакції свідчать про прискорення темпів визрівання органа, що позначається збільшенням діаметра фолікула та посиленням інтенсивності флуоресценції колагену III типу в препаратах, оброблених відповідними МКА.

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні вивчення морфофункціонального стану щитовидних залоз новонароджених шурів за умов материнсько-плодових інфекцій, що спричинені *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*, а також хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Харківського національного медичного університету: «Патологічна анатомія плода та новонародженого при материнсько-плодовій інфекції», № держреєстрації 0120U102023.

Подяки

Автори висловлюють подяку Експериментальній біологічній клініці ХНМУ та кафедрі патологічної анатомії ХНМУ, особисто професору М. С. Мирошниченку, лікарці-патологоанатому В. Д. Товажнянській, керівниці віварію О. В. Марченко, лаборантці-гістологу О. В. Виноград, доценту А. С. Шапкіну, професору В. В. Гаргину та професорці Г. І. Губиній-Вакулик за внесок у розділ «Матеріали і методи».

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 16.10.2020

Після доопрацювання / Revised: 26.01.2021

Прийнято до друку / Accepted: 02.02.2021

Відомості про авторів:

Талапова П. С., PhD аспірантка каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4147-1485](https://orcid.org/0000-0003-4147-1485)

Сорокіна І. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5945-2605](https://orcid.org/0000-0002-5945-2605)

Information about authors:

Talapova P. S., PhD student of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Sorokina I. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Талапова П. С., PhD аспирант каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Сорокина И. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Two denominators for one numerator: the example of neonatal mortality. / Q. E. Harmon, O. Basso, C. R. Weinberg, A. J. Wilcox. *European journal of epidemiology*. 2018. Vol. 33, Iss. 6. P. 523-530. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0373-0>
- [2] Neu N., Duchon J., Zachariah P. TORCH infections. *Clinics in perinatology*. 2015. Vol. 42, Iss. 1. P. 77-103. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001>
- [3] Singh M., Alsalem M., Gray C. P. Neonatal Sepsis. *StatPearls*. StatPearls Publishing, 2021. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531478/>
- [4] Staphylococcus aureus Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines / R. S. Doster, L. A. Kirk, L. M. Tetz et al. *The Journal of infectious diseases*. 2017. Vol. 215, Iss. 4. P. 653-657. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw300>
- [5] *Klebsiella pneumoniae* Chorioamnionitis: An Underrecognized Cause of Preterm Premature Rupture of Membranes in the Second Trimester / M. P. Bonasoni, A. Palicelli, G. Dalla Dea et al. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, Iss. 1. P. 96. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010096>
- [6] Laboratory Findings of COVID-19 Infection are Conflicting in Different Age Groups and Pregnant Women: A Literature Review / S. Vakkli, A. Savardashtaki, S. Jamalnia et al. *Archives of medical research*. 2020. Vol. 51, Iss. 7. P. 603-607. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.007>
- [7] Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint / H. Liu, L. L. Wang, S. J. Zhao et al. *Journal of reproductive immunology*. 2020. Vol. 139. P. 103122. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122>
- [8] Clostridioides difficile infection in immunocompromised hospitalized patients is associated with a high recurrence rate / T. Avni, T. Babitch, H. Ben-Zvi et al. *International journal of infectious diseases : IJID*. 2020. Vol. 90. P. 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.028>
- [9] Bajaj S. K., Tombach B. Respiratory infections in immunocompromised patients: Lung findings using chest computed tomography. *Radiology of infectious diseases*. 2017. Vol. 4, Iss. 1. P. 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.rjid.2016.11.001>
- [10] Марковский В. Д., Сакал А. А. Морфофункциональное состояние печени потомства от матерей, инфицированных *Escherichia Coli* (экспериментальное исследование). *Morphologia*. 2016. Т. 10, № 3. С. 199-202.
- [11] Сорокіна І. В., Мирошниченко М. С., Іванова М. Д. Морфологические особенности почек плодов и новорожденных от матерей с подострым инфекционно-воспалительным процессом в брюшной полости, вызванным *Escherichia coli* (экспериментальное исследование). *Почки*. 2018. Т. 7, № 1. С. 18-25. <https://doi.org/10.22141/2307-1257.7.1.2018.122216>
- [12] Товажнянская В. Д., Сорокіна І. В., Яковцова І. І. Влияние материнского клебсиеллеза на морфофункциональное состояние коры надпочечников плодов (экспериментальное исследование). *Morphologia*. 2016. Т. 10, № 3. С. 283-287.

- [13] Churilov L. P., Sobolevskaia, P. A., Stroeve, Y. I. Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*. 2019. Vol. 33, Iss. 6. P. 101364. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101364>
- [14] Implication of thyroid hormone signaling in neural crest cells migration: Evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies / O. J. Bronchain, A. Chesneau, A. H. Monsoro-Burq et al. *Molecular and cellular endocrinology*. 2017. Vol. 439. 233-246. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.007>
- [15] Yaglova N. V., Sledneva Y. P., Yaglov V. V. Morphofunctional Changes in the Thyroid Gland of Pubertal and Postpubertal Rats Exposed to Low Dose of DDT. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2016. Vol. 162, Iss. 2. P. 260-263. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3590-0>
- [16] Seasonal features of the combined effects of intermittent normobaric hypoxia and melatonin on the thyroid gland morphofunctional state / R. Yanko, M. Levashov, E. Chaka et al. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, Iss. 4. P. 186-198. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.04.021>
- [17] Thyroid Function Modulates Lung Fluid and Alveolar Viscoelasticity in Mechanically Ventilated Rat / M. S. Owji, M. Varedi, F. Naghibalhosseini, N. Pajouhi. *The Journal of surgical research*. 2020. Vol. 253. P. 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.060>
- [18] Yoshimi K., Mashimo T. (J). Application of genome editing technologies in rats for human disease models. *Journal of human genetics*. 2018. Vol. 63, Iss. 2. P. 115-123. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0346-2>
- [19] Hashway S. A., Wilding L. A. Benefits of Rat Models. *The laboratory Rat* / eds. M. A. Suckow, R. P. Wilson, F. C. Hankenson, P. L. Foley. 3rd ed. London : Academic Press. 2019. P. 77-79. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- [20] Effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on insulin resistance, lipid accumulation, and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of fetal rats / T. Xia, X. Zhang, Y. Wang, D. Deng. *Bioscience reports*. 2018. Vol. 38, Iss. 4. P. BSR20171731. <https://doi.org/10.1042/BSR20171731>
- [21] Пат. 108806 Україна. Спосіб моделювання внутрішньоутробного інфікування плода та новонародженого як наслідку підгострого інфекційно-запального процесу матері / В. Д. Марковський, І. В. Сорокіна, М. С. Мирошниченко та ін. № а201400681 ; заявл. 24.01.2014 ; опубл. 10.06.2015, бюл. № 11. URL : <https://uapatents.com/7-108806-sposib-modelyuvannya-vnutrishnoutrobnogo-infikovannya-ploda-ta-novonarodzhenogo-yak-naslidku-pidgostrogoinfekcijno-zapalnogo-procesu-materi.html>
- [22] Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules / M. A. Razavi, J. Wong, M. Akkera et al. *Gland surgery*. 2020. Vol. 9, Iss. 2. P. 238-244. <https://doi.org/10.21037/gss.2020.02.02>
- [23] The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis / J. Schindelin, C. T. Rueden, M. C. Hiner, K. W. Eliceiri. *Molecular reproduction and development*. 2015. Vol. 82, Iss. 7-8. P. 518529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- [24] FLIMJ: An open-source ImageJ toolkit for fluorescence lifetime image data analysis / D. Gao, P. R. Barber, J. V. Chacko et al. *PLoS one*. 2020. Vol. 15, Iss. 12. P. e0238327. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238327>
- [25] Labno C. Basic Intensity Quantification with ImageJ. *Integrated Light Microscopy Core, University of Chicago*, 2019. URL : <https://www.unige.ch/medecine/biomedicine/files/1914/1208/6000/Quantification.pdf>
- [26] Cell geometry and the cytoskeleton impact the nucleo-cytoplasmic localisation of the SMYD3 methyltransferase / D. Pereira, A. Richert, S. Medjkane et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, Iss. 1. P. 20598. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75833-9>
- [27] Liu J. The "life code": A theory that unifies the human life cycle and the origin of human tumors. *Seminars in cancer biology*. 2020. Vol. 60. P. 380-397. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.005>
- [28] Смельова І. В., Головніва Е. С. Изучение морфофункциональных изменений фолликулов щитовидной железы крыс в норме и при гипотиреозе после воздействия среднеинтенсивного лазерного излучения. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018. № 3. С. 67-74. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2018.028>
- [29] Nilsson M., Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development*. 2017. Vol. 144, Iss. 12. P. 2123-2140. <https://doi.org/10.1242/dev.145615>
- [30] Regulation of Intracellular Triiodothyronine Is Essential for Optimal Macrophage Function / A. H. van der Spek, O. V. Survtseva, K. K. Jim et al. *Endocrinology*. 2018. Vol. 159, Iss. 5. P. 2241-2252. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00053>
- [31] Fröhlich E., Wahl R. Microbiota and Thyroid Interaction in Health and Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2019. Vol. 30, Iss. 8. P. 479-490. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.05.008>
- [32] In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics / M. Asgari, N. Latifi, H. K. Heris et al. *Scientific reports*. 2017. Vol. 7, Iss. 1. P. 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01476-y>
- [33] Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation / A. Mancini, C. Di Segni, S. Raimondo et al. *Mediators of inflammation*. 2016. Vol. 2016. P. 6757154. <https://doi.org/10.1155/2016/6757154>
- [34] The effect of anti-TNF therapy on thyroid function in patients with inflammatory bowel disease / S. A. Paschou, E. Palioura, F. Kothonas et al. *Endocrine journal*. 2018. Vol. 65, Iss. 11. P. 1121-1125. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0243>
- [35] The Role of Thyroid Hormone in the Innate and Adaptive Immune Response during Infection / J. Rubingh, A. van der Spek, E. Fliers, A. Boelen. *Comprehensive Physiology*. 2020. Vol. 10, Iss. 4. P. 1277-1287. <https://doi.org/10.1002/cphy.c200003>

References

- [1] Harmon, Q. E., Basso, O., Weinberg, C. R., & Wilcox, A. J. (2018). Two denominators for one numerator: the example of neonatal mortality. *European journal of epidemiology*, 33(6), 523-530. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0373-0>
- [2] Neu, N., Duchon, J., & Zachariah, P. (2015). TORCH infections. *Clinics in perinatology*, 42(1), 77-103. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2014.11.001>
- [3] Singh, M., Alsalem, M., & Gray, C. P. (2021). Neonatal Sepsis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531478/>
- [4] Doster, R. S., Kirk, L. A., Tetz, L. M., Rogers, L. M., Aronoff, D. M., & Gaddy, J. A. (2017). Staphylococcus aureus Infection of Human Gestational Membranes Induces Bacterial Biofilm Formation and Host Production of Cytokines. *The Journal of infectious diseases*, 215(4), 653-657. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw300>
- [5] Bonasoni, M. P., Palicelli, A., Dalla Dea, G., Comitini, G., Nardini, P., Vizzini, L., Russello, G., Bardaro, M., & Carretto, E. (2021). *Klebsiella pneumoniae* Chorioamnionitis: An Underrecognized Cause of Preterm Premature Rupture of Membranes in the Second Trimester. *Microorganisms*, 9(1), 96. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010096>
- [6] Vakili, S., Savardashtaki, A., Jamalnia, S., Tabrizi, R., Nematollahi, M. H., Jafarinia, M., & Akbari, H. (2020). Laboratory Findings of COVID-19 Infection are Conflicting in Different Age Groups and Pregnant Women: A Literature Review. *Archives of medical research*, 51(7), 603-607. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.007>
- [7] Liu, H., Wang, L. L., Zhao, S. J., Kwak-Kim, J., Mor, G., & Liao, A. H. (2020). Why are pregnant women susceptible to COVID-19? An immunological viewpoint. *Journal of reproductive immunology*, 139, 103122. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2020.103122>
- [8] Avni, T., Babitch, T., Ben-Zvi, H., Hijazi, R., Ayada, G., Atamna, A., & Bishara, J. (2020). Clostridioides difficile infection in immunocompromised hospitalized patients is associated with a high recurrence rate. *International journal of infectious diseases : IJID*, 90, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.10.028>
- [9] Bajaj, S. K., & Tombach, B. (2017). Respiratory infections in immunocompromised patients: Lung findings using chest computed tomography. *Radiology of infectious diseases*, 4(1), 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.rid.2016.11.001>
- [10] Markovskiy, V. D., & Sakal, A. A. (2016). Morfofunktsional'noe sostoyanie pecheni potomstva ot materei, infitsirovannykh Escherichia Coli (eksperimental'noe issledovanie) [Morphofunctional state of the liver of rat progeny from mothers, infected with Escherichia coli (experimental research)]. *Morphologia*, 10(3), 199-202. [in Russian].
- [11] Sorokina, I. V., Myroshnychenko, M. S., & Ivanova, M. D. (2018). Morfologicheskie osobennosti pochek plodov i novorozhdennykh ot materei s podostroyim infektsionno-vospalitel'nym protsessom v bruyshnoi polosti, vyzvannym Escherichia coli (eksperimental'noe issledovanie) [Morphological features of kidneys in fetuses and newborns from mothers with subacute infectious-inflammatory process in the abdominal cavity caused by Escherichia coli (experimental study)]. *Pochki – Kidneys*, 7(1), 18-25. [in Russian]. <https://doi.org/10.22141/2307-1257.7.1.2018.122216>
- [12] Tovazhnianska, V. D., Sorokina, I. V., Yakovtsova, & I. I. (2016). Vliyaniye materinskogo klebsielleza na morfofunktsional'noe sostoyaniye kory nadpochechnikov plodov (eksperimental'noe issledovanie) [Influence of maternal infection caused by Klebsiella pneumonia on morphologic and functional state of fetuses' adrenal glands cortex (experimental research)]. *Morphologia*, 10(3), 283-287. [in Russian].
- [13] Churilov L. P., Sobolevskaia, P. A., & Stroeve, Y. I. (2019). Thyroid gland and brain: Enigma of Hashimoto's encephalopathy. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, 33(6), 101364. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101364>
- [14] Bronchain, O. J., Chesneau, A., Monsoro-Burq, A. H., Jolivet, P., Paillard, E., Scanlan, T. S., Demeneix, B. A., Sachs, L. M., & Pollet, N. (2017). Implication of thyroid hormone signaling in neural crest cells migration: Evidence from thyroid hormone receptor beta knockdown and NH3 antagonist studies. *Molecular and cellular endocrinology*, 439, 233-246. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.007>
- [15] Yaglova, N. V., Sledneva, Y. P., & Yaglov, V. V. (2016). Morphofunctional Changes in the Thyroid Gland of Pubertal and Postpubertal Rats

- Exposed to Low Dose of DDT. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 162(2), 260-263. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3590-0>
- [16] Yanko, R., Levashov, M., Chaka, E., Litovka, I., & Safonov, S. (2020). Seasonal features of the combined effects of intermittent normobabic hypoxia and melatonin on the thyroid gland morphofunctional state. *Journal of Education, Health and Sport*, 10(4), 186-198. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.04.021>
- [17] Owji, M. S., Varedi, M., Naghibalhossaini, F., & Pajouhi, N. (2020). Thyroid Function Modulates Lung Fluid and Alveolar Viscoelasticity in Mechanically Ventilated Rat. *The Journal of surgical research*, 253, 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.03.060>
- [18] Yoshimi, K., & Mashimo, T. (2018). Application of genome editing technologies in rats for human disease models. *Journal of human genetics*, 63(2), 115-123. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0346-2>
- [19] Hashway, S. A., & Wilding, L. A. (2019). Benefits of Rat Models. In M. A. Suckow, R. P. Wilson, F. C. Hankenson, & P. L. Foley (Eds.), *The laboratory Rat* (pp. 77-79). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- [20] Xia, T., Zhang, X., Wang, Y., & Deng, D. (2018). Effect of maternal hypothyroidism during pregnancy on insulin resistance, lipid accumulation, and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of fetal rats. *Bioscience reports*, 38(4), BSR20171731. <https://doi.org/10.1042/BSR20171731>
- [21] Markovskiy, V. D., Sorokina, I. V., Miroshnychenko, M. S., Pliten O. M., Mishyna M. M., Shapkin A. S., & Kaluzhyna, O. V. (2015). *Sposib modeliyuvannya vnutrishnoutrobnogo infikuvannya ploda ta novonarodzhenooho yak naslidku pidhostroho infektsijno-zapalnoho protsesu materij* [Method for modeling intrauterine infection of fetus and newborn as a consequence of sub-acute infectious-inflammatory mother process]. Ukraine Patent UA 108806. <https://uapatents.com/7-108806-sposib-modeliyuvannya-vnutrishnoutrobnogo-infikuvannya-ploda-ta-novonarodzhenooho-yak-naslidku-pidhostrogo-infektsijno-zapalnoho-procesu-materij.html>
- [22] Razavi, M. A., Wong, J., Akkera, M., Shalaby, M., Shalaby, H., Sholl, A., Haddad, A., Behl, P., Kandil, E., & Lee, G. S. (2020). Nuclear morphometry in indeterminate thyroid nodules. *Gland surgery*, 9(2), 238-244. <https://doi.org/10.21037/gs.2020.02.02>
- [23] Schindelin, J., Rueden, C. T., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2015). The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular reproduction and development*, 82(7-8), 518-529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
- [24] Gao, D., Barber, P. R., Chacko, J. V., Kader Sagar, M. A., Rueden, C. T., Grislis, A. R., Hiner, M. C., & Eliceiri, K. W. (2020). FLIMJ: An open-source ImageJ toolkit for fluorescence lifetime image data analysis. *PloS one*, 15(12), e0238327. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238327>
- [25] Labno, C. (2019). Basic Intensity Quantification with ImageJ. *Integrated Light Microscopy Core, University of Chicago*. <https://www.unige.ch/medecine/bioimaging/files/1914/1208/6000/Quantification.pdf>
- [26] Pereira, D., Richert, A., Medjkane, S., Hénon, S., & Weitzman, J. B. (2020). Cell geometry and the cytoskeleton impact the nucleo-cytoplasmic localisation of the SMYD3 methyltransferase. *Scientific reports*, 10(1), 20598. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75833-9>
- [27] Liu J. (2020). The "life code": A theory that unifies the human life cycle and the origin of human tumors. *Seminars in cancer biology*, 60, 380-397. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.09.005>
- [28] Smelova, I. V., & Golovneva, E. S. (2018). Izuchenie morfofunktsional'nykh izmenenii follikulov shchitovidnoi zhelezy krysa v norme i pri gipotireoze posle vozdeistviya sredneintensivnogo lazernogo izlucheniya [The study of morphological and functional changes in the thyroid follicles of healthy rats and rats with experimentally induced hypothyroidism following exposure to medium-power laser radiation]. *Bulletin of RSMU*, (3), 65-71. [in Russian]. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2018.028>
- [29] Nilsson, M., & Fagman, H. (2017). Development of the thyroid gland. *Development*, 144(12), 2123-2140. <https://doi.org/10.1242/dev.145615>
- [30] Van der Spek, A. H., Surovtseva, O. V., Jim, K. K., van Oudenaeren, A., Brouwer, M. C., Vandenbroucke-Grauls, C., Leenen, P., van de Beek, D., Hernandez, A., Fliers, E., & Boelen, A. (2018). Regulation of Intracellular Triiodothyronine Is Essential for Optimal Macrophage Function. *Endocrinology*, 159(5), 2241-2252. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00053>
- [31] Fröhlich, E., & Wahl, R. (2019). Microbiota and Thyroid Interaction in Health and Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 30(8), 479-490. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.05.008>
- [32] Asgari, M., Latifi, N., Heris, H. K., Vali, H., & Mongeau, L. (2017). In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Scientific reports*, 7(1), 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01476-y>
- [33] Mancini, A., Di Segni, C., Raimondo, S., Olivieri, G., Silvestrini, A., Meucci, E., & Currò, D. (2016). Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators of inflammation*, 2016, 6757154. <https://doi.org/10.1155/2016/6757154>
- [34] Paschou, S. A., Palioura, E., Kothonas, F., Myroforidis, A., Loi, V., Poulou, A., Goumas, K., Efraimidis, G., & Vryonidou, A. (2018). The effect of anti-TNF therapy on thyroid function in patients with inflammatory bowel disease. *Endocrine journal*, 65(11), 1121-1125. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0243>
- [35] Rubingh, J., van der Spek, A., Fliers, E., & Boelen, A. (2020). The Role of Thyroid Hormone in the Innate and Adaptive Immune Response during Infection. *Comprehensive Physiology*, 10(4), 1277-1287. <https://doi.org/10.1002/cphy.c200003>

Dynamics of clinical-neurological indicators of patients with hemorrhagic hemispheric stroke in the recovering period of the disease

S. O. Miedvedkova*^{A,E,F}, A. O. Dronova^{B,C,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:
hemorrhagic stroke,
rehabilitation,
recovery period.

Pathologia
2021; 18 (1), 96-102

*E-mail:
s.medvedkova@gmail.com

The aim of our study was the investigation of the dynamics of clinical-neurological indicators of patients with hemorrhagic hemispheric stroke (HHS) in the recovering period of the disease by comprehensive neurological, medical and social research.

Materials and methods. 90 patients in the age from 38 to 70 years were studied, 58 men – 64.4 % and 32 women – 35.6 %. The condition of the patients was evaluated by NIHSS, mRS, BI and MSA on the 30th, 180th, 360th day of HHS. Depending on their self-care recovering level the patients were divided in two groups for analysis: the first one was formed with the patients whose self-care level completely was restored on the 360th day (BI = 100), and the second one was formed with the patients with BI 95 and less on the 360th day.

Results. Structure of indicators according to NIHSS, mRS, BI and MSA on the 30th day of disease in these groups was analyzed during rehabilitation, as well as distribution of the patients based on their gender and process lateralization. Analyzing the data of the dynamics of the recovery period of HHS depending on the lateralization of the process and the sex of patients, we can notice that there was no significant difference during the recovery period of HHS depending of the lateralization of the process, for example, in patients with the damaged dominant hemisphere median score of BI was 70 points on the 30th day, patients with the lesion of subdominant hemisphere – 65, and on the 360th days in both groups it was 95 points. There was also no significant difference in the dynamics of neurological deficit and recovery of functional activity depending on the gender of patients. On the 30th day of the disease in the group of patients who fully restored their daily activity on the 360th day of HHS a significantly higher score for BI was determined than in the group with incomplete recovery (80 (70; 85) points against 55 (45; 65) points (P < 0.05)). Although a significantly greater regression of functional disorders was found in the second group of patients (P < 0.05). An analysis of the impact of spasticity on the recovery of self-care level showed a significant negative impact of increased muscle tone on the recovery of self-care (P < 0.05) and reduction of the probability of complete recovery of independence in everyday life with increasing degree of spasticity (P < 0.05). At the same time, no significant factors (sex, age, side of the lesion, etc.) were identified that would affect the development of spasticity in patients with HHS, except for the level of neurological deficit according to NIHSS. When we analyzed the distribution of patients in these two groups by sex, it was revealed that the groups didn't have any significant difference. There was also no significant difference in the study's groups depending of the lateralization of the stroke.

Conclusions. It was found that on the 30th day of the disease in 35.6 % of patients the total score on NIHSS ranged from 2 to 6 points, 55.6 % of patients had mRS of 3 points and 48.9 % of patients had severe dependent of outside help in daily life by BI. Significant positive dynamics of recovery on NIHSS, mRS, BI scales on the 180th and 360th day of the disease (P < 0.05) was revealed. The dependence of the indicators of the level of self-care on the 360th day of HHS, on the severity of stroke on the 30th day of the disease (P < 0.01) and on the presence of manifestations of increased muscle tone was established. It was found that patients who had manifestations of spasticity on the 360th day of the disease had a significantly higher score for NIHSS at the onset of the disease, on the 30th day of the disease and on the 360th day of the disease than patients without manifestations of increased muscle tone (P < 0.05). However, no interconnection was found between the indicators of the level of self-care on the 360th day of HHS and the lateralization of the process as well as the sex of patients.

Ключові слова:
геморагічний
інсульт,
реабілітація,
відновний період.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 96-102

Динаміка клініко-неврологічних показників у хворих на геморагічний півкульовий інсульт у відновному періоді захворювання

С. О. Медведкова, А. О. Дронова

Мета роботи – виявлення динаміки клініко-неврологічних показників у хворих на геморагічний півкульовий інсульт (ГПІ) у відновному періоді шляхом комплексного неврологічного та медико-соціального дослідження.

Матеріали та методи. Обстежили 90 хворих віком 38–70 років: 58 (64,4 %) чоловіків і 32 (35,6 %) жінки. Стан пацієнтів оцінили за NIHSS, mRS, BI та MSA на 30, 180, 360 добу ГПІ. Залежно від відновлення рівня самообслуговування пацієнтів поділили на дві групи: в першу ввійшли пацієнти, в яких на 360 добу визначили повне відновлення рівня самообслуговування (BI = 100), у другу групу – пацієнти, в яких на 360 добу BI ≤ 95.

Результати. Аналізуючи дані хворих під час реабілітації, не встановили вірогідної різниці перебігу відновного періоду ГПІ залежно від латералізації процесу. Так, наприклад, у пацієнтів з ураженням доміантної півкулі медіана сумарного бала за BI на 30 добу захворювання становила 70 балів, у пацієнтів з ураженням субдомінантної півкулі – 65, а на 360 добу в обох групах – 95 балів. Також не виявили вірогідної різниці в динаміці неврологічного дефіциту та відновлення функціональної активності залежно від статі хворих. На 30 добу захворювання у групі пацієнтів, які повністю відновили свою повсякденну активність на 360 добу ГПІ, визначили достовірно вищий бал за BI, ніж у групі з неповним відновленням (80 (70; 85) балів проти 55 (45; 65) (p < 0,05)). Хоча встановили вірогідно більший регрес функціональних

порушень у другій групі спостереження ($p < 0,05$). Проаналізували вплив проявів спастичності на відновлення рівня самообслуговування; встановили вірогідний негативний вплив наявності підвищеного м'язового тону на відновлення рівня самообслуговування ($p < 0,05$) і зниження вірогідності повного відновлення незалежності в повсякденному житті при зростанні ступеня проявів спастичності ($p < 0,05$). Водночас не виявили вірогідні фактори (стать, вік, бік ураження тощо), які б впливали на розвиток спастичності в пацієнтів із ГПІ, крім рівня неврологічного дефіциту за NIHSS.

Висновки. Встановили, що на 30 добу захворювання у 35,6 % пацієнтів сумарний бал за NIHSS дорівнював 2–6, за mRS 55,6 % пацієнтів мали 3 бали, в 48,9 % пацієнтів виявлена помірна залежність від сторонньої допомоги за BI. Визначили вірогідну позитивну динаміку відновлення показників за шкалами NIHSS, mRS, BI на 180 і 360 добу захворювання ($p < 0,05$). Встановили залежність показників рівня самообслуговування на 360 добу ГПІ від тяжкості інсульту на 30 добу захворювання ($p < 0,01$) і від наявності проявів підвищеного м'язового тону. Виявили, що хворі, які мали прояви спастичності на 360 добу захворювання, мали вірогідно вищий бал за NIHSS у дебюті, на 30 та 360 добу захворювання, ніж хворі без проявів підвищеного м'язового тону ($p < 0,05$). Водночас не виявили взаємозв'язок між показниками рівня самообслуговування на 360 добу ГПІ і латералізації процесу, а також статтю пацієнтів.

Динамика клиничко-неврологіческих показателей у больных геморрагическим полушарным инсультом в восстановительном периоде заболевания

С. А. Медведкова, А. А. Дронова

Цель работы – определение динамики клиничко-неврологических показателей у больных с геморрагическим полушарным инсультом (ГПИ) в восстановительном периоде путем комплексного неврологического и медико-социального исследования.

Материалы и методы. Обследовали 90 больных в возрасте от 38 до 70 лет: 58 (64,4 %) мужчин и 32 (35,6 %) женщины. Состояние пациентов оценивали по NIHSS, mRS, BI и MSA на 30, 180, 360 сутки ГПИ. В зависимости от восстановления уровня самообслуживания пациентов поделили на две группы: в первую вошли пациенты, у которых на 360 сутки отмечено полное восстановление уровня самообслуживания (BI = 100), а во вторую группу – пациенты с BI на 360 сутки 95 и меньше.

Результаты. Анализируя данные пациентов во время проведения реабилитации, не установили достоверную разницу течения восстановительного периода ГПИ в зависимости от латерализации процесса. Так, например, у пациентов с поражением доминантного полушария медиана суммарного балла по BI на 30 сутки заболевания была 70 баллов, у пациентов с поражением субдоминантного полушария – 65, а на 360 сутки в обеих группах – 95 баллов. Также не отмечена достоверная разница в динамике неврологического дефицита и восстановления функциональной активности в зависимости от пола больных. На 30 сутки заболевания в группе пациентов, которые полностью восстановили свою повседневную активность на 360 сутки ГПИ, установлен достоверно высший балл по BI, чем в группе с неполным восстановлением (80 (70; 85) баллов против 55 (45; 65) ($p < 0,05$)). Хотя определен достоверно больший регресс функциональных нарушений во второй группе наблюдения ($p < 0,05$). Проведен анализ влияния проявлений спастичности на восстановление уровня самообслуживания, который показал достоверное негативное влияние наличия повышенного мышечного тонуса на восстановление уровня самообслуживания ($p < 0,05$) и снижение вероятности полного восстановления независимости в повседневной жизни при росте степени проявлений спастичности ($p < 0,05$). Не установлены достоверные факторы (пол, возраст, сторона поражения и т. п.), которые влияли бы на развитие спастичности у пациентов с ГПИ, кроме уровня неврологического дефицита по NIHSS.

Выводы. На 30 сутки заболевания у 35,6 % пациентов суммарный балл по NIHSS составлял 2–6, по mRS 55,6 % пациентов имели 3 балла, у 48,9 % пациентов отмечена умеренная зависимость от посторонней помощи по BI. Отмечена достоверная положительная динамика восстановления показателей по шкалам NIHSS, mRS, BI на 180 и 360 сутки заболевания ($p < 0,05$). Установлена зависимость показателей уровня самообслуживания на 360 сутки ГПИ от тяжести инсульта на 30 сутки заболевания ($p < 0,01$) и от наличия проявлений повышенного мышечного тонуса. Установлено, что больные, которые имели проявления спастичности на 360 сутки заболевания, имели достоверно более высокой балл по NIHSS в дебюте, на 30 и 360 сутки заболевания, чем больные без проявлений повышенного мышечного тонуса ($p < 0,05$). При этом не обнаружена взаимосвязь между показателями уровня самообслуживания на 360 сутки ГПИ и латерализации процесса, а также полом пациентов.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, реабилитация, восстановительный период.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51),
С. 96-102

Cerebrovascular diseases occupy one of the leading positions in terms of prevalence, disability and mortality in the world as well as in Ukraine [1]. According to the scientists, the number of strokes in the world is growing annually by 0.5–2.0 %. 5.9 million people die from stroke per year for today [2]. According to experts, the number of deaths from strokes will increase to 7.8 million per year by 2030.

Indicators of disability of patients with hemorrhagic stroke after one year in Ukraine is from 75 to 85 %. Most patients after stroke have difficulty performing routine daily works, which determines their functional dependence on

outside help [2,3]. About 20–30 % of stroke patients need outside help for the rest of their lives [3–5].

Despite the great share of resources aimed for rehabilitation measures in patients who have a stroke, active research in this area has been observed only in the last ten years [6,7] and in general focuses on cases of ischemic etiology. In addition, more guidelines on rehabilitation measures have a purely empirical basis and have no evidence base [6,8].

Hemorrhagic stroke is an acute disturbance of cerebral circulation due to hemorrhage into the substance of the brain, under the arachnoid, or a combination of

hemorrhage into the substance and under the membranes of the brain. Hemorrhagic stroke is the most dangerous form of all cerebrovascular disorders in terms of severity, degree of disability and mortality. It affects more younger people than ischemic stroke [3,9]. Therefore, the rehabilitation, restoration of functional activity and return of patients to their social activity is extremely actual problem for doctors and scientists.

Aim

To investigate the dynamics of clinical-neurological indicators of patients with hemorrhagic hemispheric stroke in the recovering period of the disease by comprehensive neurological, medical and social research.

Materials and methods

Open, cohort observation of 90 patients with hemorrhagic hemispheric stroke (HHS) in the recovery period of the disease was performed in the clinic of nervous diseases of ZSMU. There were 58 men (64.4 %) and 32 women (35.6 %). The average age of patients was 55.59 ± 10.11 years.

Clinical neurological examination was carried out according to the special developed protocol including the usage of modern scales, mainly: objectification of the severity of patients was performed on the stroke scale of the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS), assessment of the degree of functional recovery and disability on the modified Rankin Scale (Modified Rankin Scale – mRS), assessment of skills and self-care were examined using the Barthel ADL Index (BI), the presence and severity of spastic manifestations in the muscles of the upper and lower extremities (Modified Ashworth Scale (MAS)) on the 30th, 180th, 360th day of HHS. At the same time, a favorable functional outcome for mRS was considered a score of 1 and 2 points, relatively favorable – 3 points, and unfavorable – 4 points. During the assessment for BI – complete independence in self-care corresponded to a score of 100 points, mild dependence – 90–95 points, moderate dependence – 65–85 points, severe dependence on outside help – 25–60 points.

The presence of hemorrhagic hemispheric stroke in patients was confirmed by computed tomography (CT) examination in the acute period of the disease. All patients on the first day of the disease were consulted by neurosurgeons as for the solution concerning surgical treatment of HHS. According to the results of consultations, conservative treatment was recommended for all studied patients.

The statistical analysis was carried out in the Statistica 13.0 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J) using descriptive statistics methods. The interrelation between qualitative features was evaluated according to the criterion of Pearson Chi square test. The interrelation was considered significant at the level of significance $P < 0.05$. The significance of the difference between quantitative features was assessed using the Mann–Whitney U-test.

The study did not include patients with recurrent strokes, patients with two or more lesions, as well as

patients with cancer, alcohol abuse, somatic pathology in a state of decompensation, which is a contraindication for active rehabilitation, as well as in the presence of history of traumatic brain injury.

All patients got three courses of complex rehabilitation treatment in specialized department (the duration of one course of treatment is 21 days) during first year after HHS that included following methods in accordance with standards and protocols for the assistance to patients with hemorrhagic stroke (The Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 275 dated 05/17/2014):

- Drug treatment: pathogenetic drugs (antihypertensives, drugs that improve coronary blood flow and metabolism in the heart muscle, antiarrhythmic (if necessary, for patients with ischemic heart disease), antidiabetic (if necessary, for patients with diabetes mellitus 2 type)); drugs that increase metabolism and microcirculation in brain tissues; symptomatic drugs (muscle relaxants, analgesics, neuro-psychotropic drugs, etc.).

- Therapeutic physical training: positional treatment, individual workout, coaching in correct gait, mechanotherapy with the use of table simulators for hands and fingers, special means to reduce muscle tone.

- Physiotherapy: massage of segmental areas, paretic limbs, etc., equipment physiotherapy (electrophoresis, electrostimulation, magnetic therapy, etc.).

- Psychotherapy: autogenic training, psychogymnastics.

- Speech therapy correction, classes with a speech therapist-aphasiologist.

- Other special treatments.

A lot of attention in the early recovery period of patients with HHS was paid not to drugs recovery, but to therapeutic exercise, massage, hardware physiotherapy.

During the development of the rehabilitation program, generally-accepted terms [6,10] were kept, which were also worked out and updated by us.

Following general physiological grounded principles were used:

1. Individual approach to the patient. In the process of developing a rehabilitation program, it is necessary to take into consideration age, sex and profession of the patient, his motor experience, the nature and extent of the pathological process and the functionality of the patient.

2. Consciousness. Only conscious and active participation of the patient himself in the rehabilitation process creates the necessary psycho-emotional background and psychological adjustment of the rehabilitated patient, thereby increasing the effectiveness of the applied rehabilitation measures.

3. The principle of graduality is especially important in increasing physical activity according to all its indicators: volume, intensity, number of exercises, number of their repetitions, complexity of exercises both within one lesson and throughout the whole rehabilitation process.

4. Regularity – the basis of medical and rehabilitation training during the rehabilitation process, which sometimes lasts up to several months and even years. Only according to systematic using of various means of rehabilitation, we can provide sufficient, optimal influence for each patient, which allows to increase the functional state of the patient's body.

5. Cyclicality. Alternation of work and rest following an optimum interval (rest both between two exercises and between two sessions). If the next session is for the supercompensation phase, the effects of training are summed up and functional possibilities are increased to a new, more advanced level.

6. Systematic impact (or sequence), namely the sequential alternation of starting positions and exercises for different muscle groups.

7. Novelty and diversity as for selection and application of exercises, in another words 10–15 % of exercise should be updated, and 85–90 % repeated to consolidate the success of treatment.

8. Moderation of influence by physical rehabilitation measures means: physical activity should be moderate, possibly longer, or the load should be fractional, which will allow the patient to achieve the adequacy of the load.

In addition, creating individual methods of performing physical rehabilitation and massage, the following items were taken into account:

1) an integrated approach in assessing the patient's condition, considering the characteristics of the disease;

2) mandatory consideration of the pathogenetic and clinical characteristics of the disease, as well as the age and fitness of the patient;

3) outlining of therapeutic tasks as for an individual patient or group of patients;

4) systematization of special exercises that have an aimed impact on the functions of the affected organ;

5) a rational combination of special exercises with tonics to ensure both general and special load.

In accordance with the periods of HHS (acute, early recovery, late recovery and residual) during physical rehabilitation, the following periods are also distinguished: the first (sparing) period, during which 75 % of general and breathing exercises and only 25 % of special exercises are performed, using mostly slow pace; the second (functional) period, which is aimed at restoring the function of the affected organ, when the patient already has a more advanced motor regime, and his general condition is stable; the third (training) period, when not only the restoration of the functionally affected organ is carried out, but the whole organism as well.

Techniques and intensity of physical activity and the number of additional procedures for patients changed during the recovery period of GPI treatment according to general condition, hemodynamic indexes of patients and changes in clinical symptoms (manifestations of spasticity, etc.).

Among the treated patients there were 47 patients (52.22 %) who had manifestations of mild spasticity (31.11 %) or moderate and severe ones (21.11 %). For this group of patients, in addition to the course of physical rehabilitation, special exercises were used to reduce muscle tone, massage techniques, which were aimed at muscle relaxation and treatment of posture (according to the indications).

During training session all the patients performed exercises in order to increase the strength of paretic muscles, but patients with manifestations of muscle spasticity had a number of peculiarities: firstly, muscle strengthening was carried out in the range of small amplitudes,

and only then expanded to full (physiological) volume; the alternation of the contraction of spastic muscles with their subsequent stretching to physiological length was obligatory; the necessity of an early transition from abstract exercises to exercises that are household skills, the stopping of training with increasing muscle tone. Also, the general principle was the reproduction and formation of the most important motor skills (skills of getting out of bed, proper gait, sitting, eating, etc.), which was conducted among all patients.

The following exercises were actively used to reduce muscle tone during physical therapy classes in patients with manifestations of spasticity:

– performance of passive movements in separate and adjacent joints, where the main task was the performance of movement in the same direction and plane with a speed that will not cause an increase in muscle tone (such movements lead to the reproduction of adequate patient proprioceptive information in paretic limbs to further ensure active motor acts);

– directed tension of antagonist muscles (at the same time choose the position in which the spastic muscles are maximally relaxed);

– obtaining minimal, dosed movements in spastically contracted muscles with their subsequent gradual decrease or increase, which allows the patient to learn to control the state of spastically tense muscles.

In all patients with HHS, physical therapy classes were conducted under constant control of blood pressure (BP), as well as ECG and level of glucose if necessary, and in case of its deviations, classes or procedures were stopped, in some cases it was necessary to reduce both training time and duration of the massage on a regular basis, but not to lose their effectiveness due to the possibility of increasing the frequency of training. Also, in patients with HHS, the percentage of strength exercises and exercises with isometric muscle tension was reduced (to avoid sharp rises in blood pressure).

During the massage in patients with spastic muscle tension, preference was given to relaxation techniques (stroking, large shaking, very slow kneading) with the impact on segmental and reflex points. Special attention was paid to ensure that muscle tone does not rise above baseline.

Results

The onset of the disease was acute in all observed patients, in 83 cases – up to one hour (92.2 %), and in 7 (7.8 %) – the symptoms increased within 1–3 hours. 71 patients (78.9 %) were delivered to the department of acute cerebrovascular disorders at the onset of the disease within 6 hours, 15 (16.7 %) – sought to help within 24 hours from the disease onset, and only 4 patients (4.4 %) – hospitalized more than a day after the first symptoms of HHS. 16 patients (17.8 %) had a disturbance of consciousness at the beginning of the disease.

Hypertension was the etiological factor of HHS in all the examined patients. In addition, some patients had comorbid pathology – ischemic heart disease (7 cases, 7.8 %) and diabetes mellitus type 2 (4 cases, 4.4 %). Treatment of comorbid diseases was carried

Table 1. Dynamics of NIHSS, mRS and BI in patients with HHS on the 30th, 180th and 360th day of the disease

	The 30 th day	The 180 th day	The 360 th day	
NIHSS	Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	8 (5; 10)	6 (4; 8)	5 (3; 7)
	Up to 6 points, n (%)	32 (35.6)	53 (58.9)	66 (73.3)
	7–9 points, n (%)	28 (31.1)	31 (34.4)	21 (23.3)
	10 or more points, n (%)	30 (33.3)	6 (6.7)	3 (3.4)
mRS	Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	3 (2; 3)	2 (2; 3)	2 (2; 2)
	1, n (%)	–	9 (10.0)	16 (17.8)
	2, n (%)	25 (27.8)	45 (50.0)	53 (58.9)
	3, n (%)	50 (55.5)	35 (38.9)	21 (23.3)
	4, n (%)	15 (16.7)	1 (1.1)	–
BI	Me (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	70 (60; 85)	90 (85; 95)	95 (90; 100)
	40–60 points, n (%)	32 (35.5)	–	–
	65–85 points, n (%)	44 (48.9)	41 (45.6)	14 (15.6)
	90–95 points, n (%)	8 (8.9)	32 (35.5)	36 (40.0)
	100 points, n (%)	6 (6.7)	17 (18.9)	40 (44.4)

Table 2. Dynamics of NIHSS indexes in patients with HHS depending on the manifestations of spasticity on the 360th day of the disease, Me (Q₂₅; Q₇₅)

	NIHSS in debut	NIHSS on the 30 th day	NIHSS on the 360 th day
Manifestations of spasticity are absent	8 (6; 12)	6 (4; 8)	4 (2; 5)
Mild spasticity	11 (10; 13) ¹	9 (7.75; 10.00) ²	5 (4.00; 6.25) ¹
Spasticity of moderate and severe degree	14 (11; 15) ^{3,4}	10 (8.5; 11.5) ⁴	7 (6; 7) ^{3,4}

¹; P < 0.05 between patients with absent manifestations of spasticity and patients with mild spasticity;
²; P < 0.01 between patients with absent manifestations of spasticity and patients with mild spasticity;
³; P < 0.05 between patients with mild spasticity and patients with moderate and severe spasticity;
⁴; P < 0.01 between patients with absent manifestations of spasticity and patients with moderate and severe spasticity.

Table 3. Dynamics of NIHSS and mRS in patients with HHS depending on the level of self-care recovery Me (Q₂₅; Q₇₅)

	NIHSS			mRS		
	The 30 th day	The 180 th day	The 360 th day	The 30 th day	The 180 th day	The 360 th day
BI = 100	6.0 (2.0; 6.0)	5.0 (3.5; 6.0)	3.0 (2.5; 4.5)	3.0 (2.0; 3.0)	2.0 (2.0; 2.0)	2.0 (1.0; 2.0)
BI ≤95	9.0 (7.0; 11.0) ¹	7.0 (6.0; 8.0) ¹	6.0 (5.0; 7.0) ¹	3.0 (3.0; 4.0) ¹	3.0 (2.0; 3.0)	2.0 (2.0; 3.0) ¹

¹; P < 0.05 between patients with BI = 100 on the 360th day and patients with BI ≤95 on the 360th day.

out according to the prescriptions of a cardiologist and an endocrinologist.

In most amount of cases (88.9 %) HHS developed against the background of elevated blood pressure (BP) (160–230/100–130 mm Hg), and only in 10.7 % cases – patients had normal values of BP. At the same time, 48 patients (53.5 %) reported that they knew about the presence of disease (hypertension) and didn't take the recommended antihypertensive therapy or took it only if they had hypertensive crises.

In 78 patients (86.7 %), apart from focal symptoms in the form of hemiparesis of varying severity and speech disorders (in the case of dominant hemisphere lesion), there were complaints of headache, which in 50 patients (55.5 %) preceded the development of focal symptoms.

CT examination of the brain in 39 cases (43.3 %) revealed the parenchymal hemorrhage without break-

through into the ventricular system and subarachnoid space, in 16 (17.8 %) – with breakthrough of blood into the ventricular system, in 12 (13.3 %) had a breakthrough in the subarachnoid space, and another 23 patients (25.6 %) had a breakthrough in both the subarachnoid and ventricular space.

The dynamics of NIHSS, mRS and BI in patients with HHS on the 30th, 180th and 360th day of the disease are shown in Table 1.

In 43 (47.8 %) patients on the 30th day of the disease there were no manifestations of increased muscle tone of the central type in the affected limbs, in 30 (33.3 %) patients there were manifestations of mild spasticity according to MAS, in 17 (18.9 %) – of moderate degree. In 43 (47.8 %) patients on the 360th day of the disease there were no signs of increased muscle tone, in 30 (33.3 %) patients there were manifestations of mild spasticity according to MAS, in 15 (16.7 %) – moderate degree, and in two more patients (2.2 %) – there was spasticity of an obvious degree.

Patients who showed signs of increased muscle tone on the 360th day of the disease had a significantly higher score for NIHSS at the onset of the disease, on the 30th day of the disease and on the 360th day of the disease than patients without spasticity (P < 0.05) (Table 2).

Analyzing the data of the dynamics of the recovery period of HHS depending on the lateralization of the process and the sex of patients, we can notice that there was no significant difference during the recovery period of HHS depending of the lateralization of the process, for example, in patients with the damaged dominant hemisphere median score of BI was 70 points on 30th day, patients with the lesion of subdominant hemisphere – 65, and on the 360th day in both groups it was 95 points. There was also no significant difference in the dynamics of neurological deficit and recovery of functional activity depending on the gender of patients.

Patients were divided into two groups for analysis depending on the recovery of the level of self-care on the 360th day: one included patients who had a complete recovery of the level of self-care on the 360th day (BI = 100), and the second group included patients with BI on the 360th day 95 and less.

It was revealed that patients who fully restored functional activity on the 360th day of the disease had a significantly lower rate of neurological deficit on the 30th day of the disease (for NIHSS – the median total score was 6 (1; 6) points) than patients who had a mild and moderate dependence on outside help (for BI <95) on the 360th day, at the end of the first month of the disease (for NIHSS Me = 9 (7; 11) points) (P < 0.01).

The dynamics of NIHSS and mRS in patients with HHS depending on the level of recovery of self-care on the 360th day of the disease are shown in Table 3.

As can be seen from Table 3, there was a significant difference in the assessment of the level of disability by mRS between groups on the 30th day of the disease.

On the 30th day of the disease in the group of patients who fully restored their daily activity on the 360th day of HHS significantly higher score for BI was determined than in the group with incomplete recovery (80 (70; 85) points against 55 (45; 65) points (P < 0.05)). Although a

significantly greater regression of functional disorders was found in the second group of patients ($P < 0.05$).

We analyzed the structure of indicators for NIHSS, mRS and BI on the 30th day of the HHS in the group of patients with BI = 100 on the 360th days and BI = 95 or less on the 360th day.

Analyzing the group of patients who fully restored activity in daily life on the 360th day, there were 8.7 % of cases from them who had a total NIHSS score 10 or more on the 30th day of the disease, and 69.6 % of cases had a total score for NIHSS 6 and less.

Moreover, the structure of both groups on the 30th day was also determined according to the degree of functional recovery and disability according to the modified Rankin scale and the degree of functional activity.

An analysis of the impact of spasticity on the recovery of self-care level showed a significant negative impact of increased muscle tone on the recovery of self-care ($P < 0.05$) and reduction the probability of complete recovery of independence in everyday life with increasing degree of spasticity ($P < 0.05$) (Table 4).

At the same time, no significant factors (sex, age, side of the lesion, etc.) were identified that would affect the development of spasticity in patients with HHS, except for the level of neurological deficit according to NIHSS.

When we analyzed the distribution of patients in these two groups by sex, it was revealed that the groups didn't have any significant difference. There was also no significant difference in the study groups depending of the lateralization of the stroke.

Discussion

In recent years, the issue of rehabilitation of post-stroke patients has been actively studied. And more often the authors do not focus on the rehabilitation of patients with hemorrhagic stroke, and more often it is about the rehabilitation of patients who have suffered an ischemic stroke. There is also an active search for factors that affect the effectiveness of rehabilitation measures. French scientists (Broussy S. and his colleagues) emphasize that today the issue of long-term rehabilitation of patients with stroke is a serious problem of the modern health care system, although we still know little about the recovery process and factors influencing the effectiveness rehabilitation in patients with stroke. That is why there is an urgent need to study them [11].

The greater efficiency of rehabilitation in the conditions of a specialized inpatient department [12] was proved and it was demonstrated that to a large extent the effectiveness of rehabilitation measures depended on the functional state of patients at the beginning of the disease [13, 14]. This was demonstrated in our study too, namely from the level of neurological deficit according to NIHSS ($P < 0.01$). Also, at the same time, researchers from Korea Chang W.H. and other authors did not evaluate such a factor as the presence and severity of spasticity to restore the level of patient self-care, which was carried out in our work. We have shown that the presence of HHS in the recovery period of increased muscle tone in the central type reduced the likelihood of complete recovery of self-care and affected dependence on outside

Table 4. Distribution of patients by manifestations of increased muscle tone in groups with BI = 100 and BI ≤95 on the 360th day

	BI = 100		BI ≤95	
	n	%	n	%
Manifestations of spasticity are absent	25	28.9	18	20.0
Mild spasticity	14	14.4	16	17.8
Spasticity of moderate and severe degree	1	1.1	16	17.8 [†]

[†]: $P < 0.05$.

help, which is certainly an important medical, social and economic aspect of rehabilitation of post-stroke patients.

Researchers from Italy (Zucchella C. and others) conducted an investigation to study the course of the recovery period in patients older than 65 years, and the influence of age on indicators, including functional recovery. It was shown that the age of the patients influences the course of the rehabilitation process, but the age after which there was a decrease in the effectiveness of rehabilitation was determined to be 85 years [15]. These data were also confirmed in the study by Korean scientists [14, 16]. In our study we did not find a significant difference in the recovery period from the age of patients, which is most likely due to the fact that our sample included patients under the age of 85 (this indicator was undoubtedly influenced by average life expectancy in Ukraine, which is much less than in Italy).

Conclusions

As a result of the study, we made the following conclusions:

1. It was found that on the 30th day of the disease in 35.6 % of patients the total score on NIHSS ranged from 2 to 6 points, 55.6 % of patients had mRS of 3 points and 48.9 % of patients had severe dependence on outside help in daily life by BI. Significant positive dynamics of recovery by NIHSS, mRS, BI scales on the 180th and 360th day of the disease ($P < 0.05$) was revealed.

2. The dependence of the indicators of the level of self-care on the 360th day of HHS, on the severity of stroke on the 30th day of the disease ($P < 0.01$) and on the presence of manifestations of increased muscle tone was established.

3. It was found that patients who had manifestations of spasticity on the 360th day of the disease had significantly higher score for NIHSS at the onset of the disease, on the 30th day of the disease and on the 360th day of the disease than patients without manifestations of increased muscle tone ($P < 0.05$). However, no interconnection was found between the indicators of the level of self-care on the 360th day of HHS and the lateralization of the process as well as the sex of patients.

Funding

The study is funded as a part of scientific research work in Zaporizhzhia State Medical University "Improving diagnosis and treatment of cerebral circulation disorders at different stages of the disease", number of state registration 0118U007145.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.10.2020
Після доопрацювання / Revised: 12.12.2020
Прийнято до друку / Accepted: 28.12.2020

Information about authors:

Miedviedkova S. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Dronova A. O., MD, PhD Student of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of the Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Медведкова С. О., д-р мед. наук, професор каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Дронова А. О., аспірант каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Медведкова С. А., д-р мед. наук, профессор каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Дронова А. А., аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Koziolkina, O. A., Kuznietsov, A. A., & Novikova, L. V. (2018). Prediction of the functional outcome of acute recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke. *Pathologia*, 15(3), 354-359. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151859>
- [2] Wang, Y., Li, H., Wei, H., Xu, X., Jin, P., Wang, Z., Zhang, S., & Yang, L. (2019). Assessment of the quality and content of clinical practice guidelines for post-stroke rehabilitation of aphasia. *Medicine*, 98(31), e16629. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016629>
- [3] Mishchenko, T. S. (2017). Epidemiologiya tserobrovaskulyarnykh zabozevanii i organizatsiya pomoshchi bol'nym s mozgovym insultom v Ukraine [Epidemiology of cerebrovascular diseases and organization of medical care for patients with stroke in Ukraine]. *Ukrainskyi visnyk psyhonevrolohii*, 25(1), 22-24. [in Russian].
- [4] Janzen, S., Mirkowski, M., McIntyre, A., Mehta, S., Iruthayarajah, J., & Teasell, R. (2019). Referral patterns of stroke rehabilitation inpatients to a model system of outpatient services in Ontario, Canada: a 7-year retrospective analysis. *BMC health services research*, 19(1), 399. <https://doi.org/10.1186/s12913-019-4236-5>
- [5] Koziolkina, O. A., Miedviedkova, S. O., Shevchenko, L. O., Liakhova, I. M., Malakhova, S. M., Lisova, O. O., & Cherepok, O. O. (2019). Efficiency of medical and physical rehabilitation in patients who suffered from cerebral ischemic stroke. *Pathologia*(2), 200-206. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.2.177125>
- [6] Winstein, C. J., Stein, J., Arena, R., Bates, B., Cherney, L. R., Cramer, S. C., Deruyter, F., Eng, J. J., Fisher, B., Harvey, R. L., Lang, C. E., MacKay-Lyons, M., Ottenbacher, K. J., Pugh, S., Reeves, M. J., Richards, L. G., Stiers, W., Zorowitz, R. D., & American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Clinical Cardiology, and Council on Quality of Care and Outcomes Research (2016). Guidelines for Adult Stroke Rehabilitation and Recovery: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 47(6), e98-e169. <https://doi.org/10.1161/STR.0000000000000098>
- [7] Rakesh, N., Boiarsky, D., Athar, A., Hinds, S., & Stein, J. (2019). Post-stroke rehabilitation: Factors predicting discharge to acute versus subacute rehabilitation facilities. *Medicine*, 98(22), e15934. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015934>
- [8] Dionísio, A., Duarte, I. C., Patrício, M., & Castelo-Branco, M. (2018). The Use of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Stroke Rehabilitation: A Systematic Review. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases*, 27(1), 1-31. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.008>
- [9] Edwardson, M. A., Ding, L., Park, C., Lane, C. J., Nelsen, M. A., Wolf, S. L., Winstein, C. J., & Dromerick, A. W. (2019). Reduced Upper Limb Recovery in Subcortical Stroke Patients With Small Prior Radiographic Stroke. *Frontiers in neurology*, 10, 454. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00454>
- [10] Epifanov, V. A., & Epifanov A. V. (2014). *Reabilitatsiya v neurologii* [Rehabilitation in neurology]. Moscow. [in Russian].
- [11] Broussy, S., Rouanet, F., Lesaine, E., Domecq, S., Kret, M., Maugeais, M., Aly, F., Dehail, P., Bénard, A., Wittwer, J., Salamon, R., Sibon, I., & Saillour-Glenisson, F. (2019). Post-stroke pathway analysis and link with one year sequelae in a French cohort of stroke patients: the PAPASePA protocol study. *BMC health services research*, 19(1), 770. <https://doi.org/10.1186/s12913-019-4522-2>
- [12] Gabet, A., de Peretti, C., Woimant, F., Giroud, M., Béjot, Y., Schnitzler, A., & Olié, V. (2018). Admission in Neurorehabilitation and Association with Functional Outcomes after Stroke in France: A Nation-Wide Study, 2010-2014. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases*, 27(12), 3443-3450. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.08.005>
- [13] Chang, W. H., Sohn, M. K., Lee, J., Kim, D. Y., Lee, S. G., Shin, Y. I., Oh, G. J., Lee, Y. S., Joo, M. C., Han, E. Y., Kang, C., & Kim, Y. H. (2016). Predictors of functional level and quality of life at 6 months after a first-ever stroke: the KOSCO study. *Journal of neurology*, 263(6), 1166-1177. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8119-y>
- [14] Menoux, D., Jousse, M., Quintaine, V., Tili, L., & Yelnik, A. P. (2019). Decrease in post-stroke spasticity and shoulder pain prevalence over the last 15 years. *Annals of physical and rehabilitation medicine*, 62(6), 403-408. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2018.03.003>
- [15] Zucchella, C., Consilvio, M., Iacoviello, L., Intiso, D., Tamburin, S., Casale, R., & Bartolo, M. (2019). Rehabilitation in oldest-old stroke patients: a comparison within over 65 population. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 55(2), 148-155. <https://doi.org/10.23736/S1973-9087.18.05297-8>
- [16] Ren, L., Wang, K., Shen, H., Xu, Y., Wang, J., & Chen, R. (2019). Effects of continuous positive airway pressure (CPAP) therapy on neurological and functional rehabilitation in Basal Ganglia Stroke patients with obstructive sleep apnea: A prospective multicenter study. *Medicine*, 98(28), e16344. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016344>

Dependence of reactions of the external respiratory system in athletes on the orientation of the training process

S. M. Kanyhina^{ID}*A,B,D,F, M. S. Potapenko^{C,D,E}, L. O. Kurilets^{C,D,E}

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

Issues of improving the functional training (different orientation of the training process) of athletes due the development of the respiratory system, including the respiratory system, as well as increasing the body's resistance to hypoxic stress remain extremely relevant at the present stage of sport development.

The aim of the study is to investigate the peculiarities of the reaction of the external respiratory system in athletes, depending on the orientation of the training process.

Materials and methods. The study involved 104 athletes (84 men and 20 women) skill level from CMS to IMS: 63 – athletes, who developed mainly endurance quality (triathletes, swimmers, long-distance runners, rowing), 31 – strength quality (weightlifters, powerlifting, weightlifting), 10 – speed quality (runners sprinters). The mean age of the athletes under study was 21.75 ± 3.32 years. Among them there are international masters of sports (IMS) – 2 athletes, masters of sports (MS) – 25, candidates for master of sports – 48, athletes of 1 degree – 29. Computer spirometric examination was performed for all athletes using the spirographic complex "Spirocom" produced by LLC "KHAL-Medica" in Kharkiv in accordance with existing recommendations.

Research results. Analysis of computer spirometry showed, that athletes, who developed the quality of strength had 18.2 % ($P = 0.014$) greater vital capacity of the lungs, due to the predominance of respiratory volume by 29.9 % ($P = 0.017$) and by 42.1 % ($P = 0.001$) inspiratory reserve volume, but less by 22.4 % ($P = 0.019$) expiratory reserve volume, than athletes, who improved the quality of endurance. Athletes, who developed the quality of endurance in contrast to athletes, who improved the quality of speed had a higher forced vital capacity of the lungs by 14.9 % ($P = 0.031$), due to the predominance of a inspiratory reserve volume by 9.8 % ($P = 0.049$) and expiratory reserve volume by 28.5 % ($P = 0.044$). Athletes, who improved the quality of speed had lower vital capacity of the lungs by 26.1 % ($P = 0.003$), forced vital capacity of the lungs by 20.2 % ($P = 0.016$), due to a decrease of inspiratory reserve volume by 34.2 % ($P = 0.008$), than athletes, who improved the quality of strength. Athletes, who developed the quality of speed, had greater resistance to air flow in the bronchi of small caliber in the exhalation phase, as evidenced by a lower rate of forced expiratory volume, by 21.1 % ($P = 0.015$), the volume of forced expiratory to reach the peak expiratory flow by 30.2 % ($P = 0.016$), MEF 75 by 22.9 % ($P = 0.036$), FEF 75–85 by 22.8 % ($P = 0.035$), than athletes, who developed the quality of strength.

Conclusions Athletes, who have developed a quality of strength have a greater vital capacity of the lungs, due to the predominance of respiratory volume and inspiratory reserve volume, but less expiratory reserve volume, than in athletes, who improved the quality of endurance. Athletes, who developed endurance quality, in contrast to athletes, who improved the quality of speed, have a higher forced vital capacity of the lungs, due to the predominance of inspiratory and expiratory reserve volumes. The function of external respiration of athletes, who improved the quality of speed is characterized by lower vital capacity of the lungs, forced vital capacity of the lungs, due to reduced inspiratory reserve volume, and greater resistance to airflow in the bronchi of small caliber in the expiratory phase, than in athletes, who developed the quality of strength.

Key words:

athletes, respiration, physical endurance, strength, speed.

Pathologia

2021; 18 (1), 103-111

*E-mail:

malakhova_sn@ukr.net

Залежність реакцій системи зовнішнього дихання у спортсменів від спрямованості тренувального процесу

С. М. Канигіна, М. С. Потапенко, Л. О. Курілець

Питання підвищення функціональної підготовки (різної спрямованості тренувального процесу) спортсменів шляхом розвитку респіраторної системи, зокрема системи зовнішнього дихання, а також підвищення стійкості організму до гіпоксичного навантаження залишаються надзвичайно актуальними на сучасному етапі розвитку спорту.

Мета роботи – вивчити особливості реакції системи зовнішнього дихання у спортсменів залежно від спрямованості тренувального процесу.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 104 спортсменів (84 чоловіки і 20 жінок): 63 атлети, які розвивали переважно якість витривалості, 31 – якість сили, 10 – якість швидкості. Середній вік обстежених становив $21,75 \pm 3,32$ року. Серед обстежених – 2 майстри спорту міжнародного класу (МСМК), 25 майстрів спорту (МС), 48 кандидатів у майстри спорту, 29 спортсменів 1 розряду. Комп'ютерне спірометричне дослідження виконали всім спортсменам на спірографічному комплексі «Спіроком» (ТОВ «ХАІ-Медіка», м. Харків) відповідно до рекомендацій.

Результати. Аналіз показників комп'ютерної спірометрії встановив, що у спортсменів, які розвивали якість сили, на 18,2 % ($p = 0,014$) більша життєва ємність легень унаслідок переважання на 29,9 % ($p = 0,017$) дихального об'єму та на 42,1 % ($p = 0,001$) резервного об'єму вдишу, але менший на 22,4 % ($p = 0,019$) резервний об'єм видиху, ніж у спортсменів,

Ключові слова:

спортсмени, функція зовнішнього дихання, витривалість, сила, швидкість.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 1(51).

С. 103-111

які удосконалювали якість витривалості. Спортсмени, які розвивали якість витривалості, на відміну від спортсменів, які удосконалювали якість швидкості, мали більшу форсовану життєву ємність легень на 14,9 % ($p = 0,031$) через переважання резервного об'єму вдиху на 9,8 % ($p = 0,049$) та резервного об'єму видиху на 28,5 % ($p = 0,044$). Спортсмени, які удосконалювали якість швидкості, мали меншу життєву ємність легень на 26,1 % ($p = 0,003$), форсовану життєву ємність легень на 20,2 % ($p = 0,016$) унаслідок зниження на 34,2 % ($p = 0,008$) резервного об'єму вдиху, ніж атлети, які удосконалювали якість сили. Спортсмени, які розвивали якість швидкості, мали більший опір повітряному потоку у бронхах малого калібру у фазу видиху, про що свідчать менші на 21,1 % ($p = 0,015$) показник об'єму форсованого видиху, на 30,2 % ($p = 0,016$) об'єму форсованого видиху до досягнення пікової об'ємної швидкості, на 22,9 % ($p = 0,036$) МОШ 75, на 22,8 % ($p = 0,035$) СОШ 75–85, ніж у спортсменів, які розвивали якість сили.

Висновки. Спортсменам, які розвивали якість сили, притаманна більша життєва ємність легень через переважання дихального об'єму та резервного об'єму вдиху, але менший резервний об'єм видиху порівняно зі спортсменами, які удосконалювали якість витривалості. У спортсменів, які розвивали якість витривалості, на відміну від спортсменів, які удосконалювали якість швидкості, визначена більша форсована життєва ємність легень унаслідок переважання резервних об'ємів вдиху та видиху. Функція зовнішнього дихання спортсменів, які удосконалювали якість швидкості, характеризується меншою життєвою ємністю легень, форсованою життєвою ємністю легень через зниження резервного об'єму вдиху, більшим опором повітряному потоку у бронхах малого калібру у фазу видиху, ніж в атлетів, які розвивали якість сили.

Ключевые слова:
спортсмены,
функция внешнего
дыхания,
выносливость,
сила, скорость.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 103-111

Зависимость реакций системы внешнего дыхания у спортсменов от направленности тренировочного процесса

С. Н. Каныгина, М. С. Потапенко, Л. О. Курилец

Вопросы повышения функциональной подготовки (различной направленности тренировочного процесса) спортсменов за счет развития респираторной системы, в том числе системы внешнего дыхания, а также повышения устойчивости организма к гипоксическим нагрузкам остаются чрезвычайно актуальными на современном этапе развития спорта.

Цель работы – изучить особенности реакции системы внешнего дыхания у спортсменов в зависимости от направленности тренировочного процесса.

Материалы и методы. Обследовали 104 спортсмена (84 мужчины и 20 женщин): 63 атлета, которые развивали преимущественно качество выносливости, 31 – качество силы, 10 – качество скорости. Средний возраст обследованных $21,75 \pm 3,32$ года. Среди них – 2 мастера спорта международного класса (МСМК), 25 мастеров спорта (МС), 48 кандидатов в мастера спорта, 29 спортсменов 1 разряда. Компьютерное спирометрическое исследование проведено всем спортсменам на спирографическом комплексе «Спироком» (ООО «ЖАИ-Медика, г. Харьков) в соответствии с рекомендациями.

Результаты. Анализ показателей компьютерной спирометрии установил, что у спортсменов, развивающих качество силы, на 18,2 % ($p = 0,014$) больше жизненная емкость легких за счет преобладания на 29,9 % ($p = 0,017$) дыхательного объема и на 42,1 % ($p = 0,001$) резервного объема вдоха, но меньше на 22,4 % ($p = 0,019$) резервный объем выдоха, чем у спортсменов, которые совершенствовали качество выносливости. Спортсмены, развивающие качество выносливости, в отличие от спортсменов, совершенствующих качество скорости, имели большую форсированную жизненную емкость легких на 14,9 % ($p = 0,031$) за счет преобладания как резервного объема вдоха на 9,8 % ($p = 0,049$), так и резервного объема выдоха на 28,5 % ($p = 0,044$). Спортсмены, которые совершенствовали качество скорости, имели меньшую жизненную емкость легких на 26,1 % ($p = 0,003$), форсированную жизненную емкость легких на 20,2 % ($p = 0,016$) за счет снижения на 34,2 % ($p = 0,008$) резервного объема вдоха, чем атлеты, которые совершенствовали качество силы. Спортсмены, развивающие качество скорости, имели большее сопротивление воздушному потоку в бронхах малого калибра в фазу выдоха, о чем свидетельствуют меньшие на 21,1 % ($p = 0,015$) показатель объема форсированного выдоха, на 30,2 % ($p = 0,016$) объема форсированного выдоха до достижения пиковой объемной скорости, на 22,9 % ($p = 0,036$) МОС 75, на 22,8 % ($p = 0,035$) СОС 75–85, чем у спортсменов, развивающих качество силы.

Выводы. Спортсменам, которые развивали качество силы, присуща большая жизненная емкость легких за счет преобладания дыхательного объема и резервного объема вдоха, но меньший резервный объем выдоха по сравнению со спортсменами, совершенствующими качество выносливости. У спортсменов, которые развивали качество выносливости, в отличие от спортсменов, совершенствовавших качество скорости, отмечена большая форсированная жизненная емкость легких за счет преобладания резервных объемов вдоха и выдоха. Функція зовнішнього дихання спортсменів, які розвивали якість сили, характеризується меншою життєвою ємністю легень, форсированной жизненной емкостью легких за счет снижения резервного объема вдоха, большим сопротивлением воздушному потоку в бронхах малого калибра в фазу выдоха, чем у атлетов, которые развивали качество силы.

Achieving high sports results is based on improvement and maximum implementation of the functional abilities of the athlete in the process of competitive activity [8]. In the process of adaptation, associated with long-term sports training, optimization of the physiological reactivity of the cardio-respiratory system is achieved, the nature of which is directly related to the individual characteristics of athletes, periods and orientation of the training process [11]. In the dynamics of various physical or combined

loads, the reserves of the functional system of external respiration can be significantly reduced until they are completely exhausted. A set of indicators of external respiration can be a marker of the adaptive potential of a person of different ages [5]. One of the most important indicators of sports performance is the functional state of the external respiratory system. In this regard, the interest of scientists in improving the functional training of athletes through the development of the respiratory system, including

Table 1. Anthropometric data of athletes who developed the qualities of endurance, strength or speed, M ± SD

Value, units of measure	Endurance	Strength	Speed	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Age, years	21.22 ± 3.16	22.42 ± 3.56	23.00 ± 3.13	0.099	0.114	0.627
Height, m	1.78 ± 0.08	1.78 ± 0.10	1.71 ± 0.10	0.777	0.028	0.059
Weight, kg	66.79 ± 9.42	82.13 ± 19.03	63.50 ± 15.99	0.001	0.478	0.001
BMI, kg/m ²	20.93 ± 1.69	25.78 ± 4.26	21.34 ± 3.24	0.001	0.669	0.001

the external respiratory system, as well as increasing the body's resistance to hypoxic stress has always been great in the past and continues to grow now [4].

Aim

The purpose of the study is to investigate the peculiarities of the reaction of the external respiratory system in athletes depending on the orientation of the training process.

Materials and methods

After signing a written informed consent, in the competitive period, study involved 104 athletes (84 men and 20 women) skill level from CMS to IMS: 63 – athletes, who developed mainly endurance quality (triathletes, swimmers, long-distance runners, rowing), 31 – strength quality (weightlifters, powerlifting, weightlifting), 10 – speed quality (runners sprinters). The mean age of the athletes under study was 21.75 ± 3.32 years. Among them are international masters of sports (IMS) – 2 athletes, masters of sports (MS) – 25, candidates for master of sports – 48, athletes of 1 degree – 29.

Computer spirometric examination was performed for all athletes using the spirometric complex "Spirocom" produced by LLC "KHAI-Medica" in Kharkiv in accordance with existing recommendations [9]. In the conditions of maximum physical loadings in an annual cycle vital capacity of lungs (VC, l), the forced vital capacity of lungs (FVC, l), volume of the forced expiratory volume in 1 second (FEV1, l), inspiratory reserve volume (IRV), expiratory reserve volume (ERV), respiratory volume (RV, l), respiration rate (RR), low voluntary ventilation (LVV), the ratio of inspiratory duration/expiratory duration (D_{insp}/D_{exp}), maximal voluntary ventilation (MVV), mean forced expiratory flow between 25 and 75 % FVC (FEF 25–75, l/s), mean forced expiratory flow between 75 and 85 % of FVC (FEF 75–85, l/s), speed of expiratory air stream – peak expiratory flow (PEF), time for peak expiratory flow (Tpef, s), maximal expiratory flow at 25 % of volume of the forced exhalation (MEF 25, l/s), maximal expiratory flow at 50 % of the forced expiratory volume (MEF 50, l/s), maximal expiratory flow at 75 % of the forced expiratory volume (MEF 75, l/s), maximal expiratory flow at 85 % of the volume of forced exhalation (MEF 85, l/s), Tiffeneau index (TI) were measured.

The results were processed by methods of variation statistics, using the software package Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). The hypothesis of the distribution of quantitative indicators, which corresponds to the normal law, was tested using the Shapiro–Wilk test.

Quantitative indicators are presented in the form of arithmetic mean and standard deviation in the case of normal growth and in the view of the median and inter-

quartile range in the view of the rise in the normal range, qualitative indicators – in the form of absolute and relative frequencies. Comparison of quantitative indicators in independent groups was determined by the method of parametric statistics using a two-sample Student's t-test with a two-sided test index for the value of statistical significance. In the case of deviation of the distribution from normal, the Mann–Whitney test was used. The difference in qualitative characteristics in independent groups was assessed using Pearson's chi-square test with Yates correction and Fisher's exact criterion. The differences were considered significant at the level of statistical significance $P < 0.05$.

Results

Anthropometric data of athletes are shown in *Table 1*.

Athletes were comparable in age (*Table 1*). Athletes, who developed speed quality had significantly lower stature, than strength athletes and athletes, who improved endurance quality. Weightlifters also had significantly more body weight and body mass index, than athletes, who developed endurance or speed qualities.

Comparison of indicators of the function of external respiration in athletes, who developed the qualities of endurance or strength indicates the predominance of athletes, who improved the quality of endurance indicators (*Table 2*): D_{insp}/D_{exp} (0.94 ± 0.37 vs. 0.78 ± 0.27 l) by 17.0 % ($P = 0.021$), ERV (1.65 ± 0.94 vs. 1.28 ± 0.55) by 22.4 % ($P = 0.019$), the ratio of the forced inspiratory volume in 2 second to the forced vital capacity of the lungs (FIV2/FVC) (99.55 ± 1.11 vs. 98.98 ± 2.16 l) by 1.0 % ($P = 0.025$).

Table 2. Indicators of the external respiration function in athletes, who developed the quality of endurance or strength, M ± SD, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ %
	Endurance (n = 54)	Strength (n = 31)		
RV, l	0.69 (0.53; 0.91)	0.92 (0.63; 1.34)	0.017	29.9 %
RV, %	93 (73; 126)	103 (82; 156)	0.123	
LVV, l	13.29 ± 4.93	15.15 ± 4.83	0.056	
LVV, %	102.52 ± 36.93	111.16 ± 40.31	0.347	
RR, l/min	17.72 ± 4.92	16.70 ± 5.28	0.371	
D_{insp} , s	1.72 ± 0.59	1.66 ± 0.52	0.837	
D_{exp} , s	1.92 ± 0.69	2.31 ± 0.97	0.085	
D_{insp}/D_{exp}	0.94 ± 0.37	0.78 ± 0.27	0.021	17.0 %
RVm, l	1.19 ± 0.56	1.23 ± 0.58	0.875	
RRm, l/min	113.34 ± 41.77	109.19 ± 35.10	0.878	
MVV, l/min	117.97 ± 36.59	120.36 ± 39.98	0.912	
MVV, %	91.37 ± 25.52	86.65 ± 21.56	0.358	
VC, l	4.61 ± 1.29	5.45 ± 1.31	0.014	18.2 %
VC, %	89.70 ± 23.35	99.14 ± 20.94	0.061	
IRV, l	2.14 ± 0.86	3.04 ± 1.15	0.001	42.1 %
ERV, l	1.65 ± 0.94	1.28 ± 0.55	0.019	22.4 %

Cont. of Table 2.

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ %
	Endurance (n = 54)	Strength (n = 31)		
FVC, l	4.83 ± 1.12	5.15 ± 1.17	0.201	
FVC, %	92.34 ± 15.93	95.84 ± 17.69	0.408	
FEV1, l	4.50 ± 1.00	4.92 ± 1.23	0.196	
FEV1, %	94.52 ± 21.86	99.26 ± 18.84	0.401	
FEVp _{ef} , l	2.47 ± 0.97	2.85 ± 1.17	0.157	
FEVp _{ef} , %	102.98 ± 37.57	118.32 ± 47.64	0.196	
IT, %, value	97.60 (86.15;111.50)	94.50 (83.30;101.10)	0.401	
IT, %	108.50 (55.50;124.50)	105.00 (93.00;112.00)	0.408	
FEV1/FVC, %, value	95.36 ± 8.05	95.46 ± 7.49	0.815	
FEV1/FVC, %	103.81 ± 8.85	103.90 ± 8.32	0.792	
PEF, l/s	-5.93 ± 1.73	-6.63 ± 2.14	0.174	
PEF, %	74.30 ± 20.14	79.29 ± 20.62	0.333	
MEF 25, l/s	-4.91 ± 1.84	-5.59 ± 2.07	0.211	
MEF 25, %	67.48 ± 24.79	72.29 ± 21.48	0.371	
MEF 50, l/s	-5.62 ± 1.62	-6.22 ± 1.98	0.181	
MEF 50, %	70.72 ± 18.73	74.94 ± 18.68	0.285	
MEF 75, l/s	-5.33 ± 1.78	-5.93 ± 2.02	0.290	
MEF 75, %	80.06 ± 22.89	90.84 ± 27.56	0.119	
FEF 25–75, l/s	-5.41 ± 1.60	-6.06 ± 2.03	0.186	
FEF 75–85, l/s	-5.03 ± 1.57	-5.53 ± 1.94	0.391	
Tp _{ef} , s	0.44 ± 0.19	0.46 ± 0.20	0.798	
VC, l	4.84 ± 1.07	5.20 ± 1.02	0.155	
VC, %	94.48 ± 14.60	95.23±11.17	0.724	
IRV, l	2.66 ± 1.12	3.43 ± 1.30	0.015	28.9 %
ERV, l	1.35 ± 1.08	0.79 ± 0.82	0.074	
FVC, l	4.71 ± 0.99	4.95 ± 0.98	0.295	
FVC, %	91.62 ± 12.30	91.81 ± 9.95	0.795	
FEV0,5, l	2.90 ± 0.63	2.97 ± 0.66	0.646	
FEV1, l	4.26 ± 0.85	4.37 ± 0.83	0.714	
FEV1, %	98.51 ± 17.60	99.45 ± 11.89	0.853	
FEV2, l	4.80 (3.94;5.36)	4.88 (4.29; 5.60)	0.429	
FEV2, %	96.33 ± 24.91	94.62 ± 9.04	0.073	
FEV3, l	5.72 (4.71;6.29)	5.34 (4.51; 6.14)	0.405	
FEV3, %	88.69 ± 42.91	91.34 ± 7.18	0.101	
FEVp _{ef} , l	1.12 ± 0.42	1.14 ± 0.49	0.924	
FEVp _{ef} , %	109.78 ± 42.15	108.92 ± 50.48	0.652	
IT	91.86 (81.30;107.00)	81.70 (73.30;93.50)	0.375	
IT, %, value	89.79 ± 12.61	84.41 ± 13.29	0.172	
IT, %	107.24 ± 12.83	105.53 ± 15.80	0.694	
FIV1/FVC, %, value	91.03 ± 7.91	88.80 ± 9.76	0.299	
FIV1/FVC, %	110.15 ± 9.81	109.62 ± 11.73	0.970	
FIV2/FVC, %, value	99.55 ± 1.11	98.98 ± 2.16	0.025	0.6 %
FIV2/FVC, %	105.29 ± 1.36	104.72 ± 2.64	0.520	
FIV3/FVC, %, value	100.00 ± 0.20	99.89 ± 0.29	0.236	
FIV3/FVC, %	103.00 ± 0.20	102.91 ± 0.30	0.685	
PEF/FEVp _{ef} , l/s	6.15 (4.48; 8.83)	6.87 (4.05;10.20)	0.425	
FEVp _{ef} , l/s	6.75 ± 1.71	7.09 ± 2.22	0.425	
FEVp _{ef} , %	75.64 ± 17.67	75.32 ± 18.82	0.276	
MEF 25, l/s	6.33 ± 1.61	6.49 ± 2.09	0.884	
MEF 25, %	78.08 ± 18.71	75.71 ± 20.38	0.393	
MEF 50, l/s	5.20 ± 1.27	5.36 ± 1.25	0.276	
MEF 50, %	98.36 ± 20.89	97.88 ± 19.69	0.745	
MEF 75, l/s	3.37 ± 1.02	3.32 ± 0.93	0.745	
MEF 75, %	125.55 ± 33.34	128.39 ± 33.22	0.928	
FEF 0.2–1.2, l/s	4.35 ± 2.09	4.60 ± 2.63	0.537	
FEF 25–75, l/s	4.81 ± 1.15	4.94 ± 1.14	0.012	2.7 %
FEF 25–75, %	101.27 ± 25.85	102.29 ± 20.22	0.574	
FEF 75–85, l/s	2.94 ± 0.95	2.83 ± 0.86	0.884	
FEF 75–85, %	138.66 ± 40.13	141.97 ± 38.03	0.745	

At the same time, athletes who developed the qualities of endurance or strength, probably differed in the volume of respiratory volume (RV) (0.77 ± 0.34 vs. 1.00 ± 0.44 l) by 29.9 % ($P = 0.017$), VCL (4.61 ± 1.29 vs. 5.45 ± 1.31 l) by 18.2 % ($P = 0.014$), the reserve volume of inspiration (RVI) (2.14 ± 0.86 vs. 3.04 ± 1.15 l) at 42.1 % ($P = 0.001$), IRV (2.66 ± 1.12 vs. 3.43 ± 1.30 l) at ($P = 0.015$) by 28.9 %, FEF 25–75 (4.81 ± 1.15 vs. 4.94 ± 1.14 l/s) by 2.7 % ($P = 0.012$) in favor of athletes, who developed strength.

Athletes, who developed strength quality also had slightly better rates of LVV ($P = 0.056$), D_{exp} ($P = 0.085$), VC, % ($P = 0.061$), compared to athletes, who developed the quality of endurance, but hardly probable.

Thus, athletes, who developed strength quality had 18.2 % ($P = 0.014$) greater vital capacity, due to the predominance of 29.9 % ($P = 0.017$) respiratory volume and 42.1 % ($P = 0.001$) inspiratory reserve volume, than athletes, who improved the quality of endurance. At the same time, the latter, in contrast to strength athletes, had a greater expiratory reserve volume by 22.4 % ($P = 0.019$).

Analysis of the comparison of indicators of the function of external respiration in athletes, who developed the qualities of speed or endurance (Table 3) found a probably significant predominance of the values of following indicators in the latter: ERV (1.65 ± 0.94 vs. 1.18 ± 0.41 l) on 28.5 % ($P = 0.044$), FVC (4.83 ± 1.12 vs. 4.11 ± 1.19 l) by 14.9 % ($P = 0.031$), IRV (2.66 ± 1.12 vs. 2.40 ± 0.96 l) by 9.8 % ($P = 0.049$), FVC (4.71 ± 0.99 vs. 4.20 ± 1.21) by 10.8 % ($P = 0.037$), forced inhalation1 to forced vital capacity of the lungs (FIV1/FVC) (91.03 ± 7.91 vs. 88.94 ± 10.62) by 2.3 % ($P = 0.010$).

Rather better indicators of VC ($P = 0.094$), FEV1 ($P = 0.069$), FEVp_{ef} ($P = 0.025$), MEF 75 ($P = 0.080$), FEF 75–85 ($P = 0.060$) in athletes, who developed endurance compared to speed, but the difference did not reach the limit of statistical significance.

Thus, athletes who developed the quality of endurance in contrast to athletes, who improved the quality of speed, had a higher forced vital capacity of the lungs by 14.9 % ($P = 0.031$), due to the predominance of both the inspiratory reserve volume by 9.8 % ($P = 0.049$) and expiratory reserve volume by 28.5 % ($P = 0.044$).

Comparison of indicators of the external respiration function in athletes, who developed the qualities of strength or speed (Table 4) proves, that strength athletes have probably higher indicators of VC by 26.1 % (5.45 ± 1.31 vs. 4.03 ± 0.92 l, $P = 0.003$), IRV by 34.2 % (3.04 ± 1.15 vs. 2.00 ± 0.80 l, $P = 0.008$), FVC by 20.2 % (5.15 ± 1.17 vs. 4.11 ± 1.19 l, $P = 0.016$), FEV1 by 21.1 % (4.92 ± 1.23 vs. 3.88 ± 1.06 l, $P = 0.015$), FEVp_{ef} by 30.2 % (2.85 ± 1.17 vs. 1.99 ± 0.92 l, $P = 0.016$), MEF 75 by 22.9 % (-5.93 ± 2.02 vs. -4.57 ± 1.66 l/s, $P = 0.036$), FEF 75–85 by 22.8 % (-5.53 ± 1.94 vs. -4.27 ± 1.71 l/s, $P = 0.035$), VC by 17.5 % (5.20 ± 1.02 vs. 4.29 ± 1.17 l, $P = 0.019$), IRV by 30.0 % (3.43 ± 1.30 vs. 2.40 ± 0.96 l, $P = 0.027$), FVC by 15.2 % (4.95 ± 0.98 vs. 4.20 ± 1.21 l, $P = 0.045$), FEV1 by 14.9 % (4.37 ± 0.83 vs. 3.72 ± 1.25 l, $P = 0.040$), FEF 75–85

at 19.3 % (141.97 ± 38.03 vs. 114.60 ± 29.36 %, P = 0.027).

There is a tendency to the predominance of VC, % (P = 0.052), FEV_{pef}, % (P = 0.054), PEF (P = 0.064), MEF 50, l/s (P = 0.052), MEF 75, % (P = 0.078), FEF 25–75, l/s (P = 0.084), FEV₂, l (P = 0.067), FEV_{pef}, l (P = 0.089), FEF 25–75, l/s (P = 0.073) in athletes, who developed the quality of strength, above similar indicators in athletes, who improved the quality of speed.

Thus, athletes who improved the quality of strength had a greater vital capacity of the lungs by 26.1 % (P = 0.003), forced vital capacity of the lungs by 20.2 % (P = 0.016), due to the inspiratory reserve volume by 34.2 % (P = 0.008) than athletes, who improved the quality of speed. Also, strength athletes have higher indicators of the of forced expiratory volume₁ by 21.1 % (P = 0.015), the forced expiratory volume to reach the peak expiratory flow by 30.2 % (P = 0.016), MEF 75 by 22.9 % (P = 0.036), FEF 75–85 by 22.8 % (P = 0.035) than in athletes, who developed the quality of speed, which indicates less resistance to air flow in the bronchi of small caliber in the expiratory phase.

Athletes, who improved endurance and speed, did not differ in terms of vital capacity, inspiratory reserve volume, respiratory volume, forced expiratory volume₁, and were significantly less important, than athletes, who improved strength.

Since the athletes had probable statistical differences in terms of height and weight, we additionally performed calculations of volumetric indicators, namely RV, VC, IRV, ERV, taking into account the body mass index of athletes (Table 5).

It was found that the groups of athletes did not differ significantly in the indexed indicators of VC, RV and IRV, but strength athletes had slightly higher values of the index of IRV (113 ± 41 ml vs. 102 ± 40 ml in athletes, who improved endurance and 94 ± 35 ml in athletes, who developed the quality of speed).

The analysis of index ERV, calculated from the body mass index of athletes, confirmed the pattern, that we obtained in the analysis of the absolute values of ERV. The lowest values of index ERV were found in strength athletes, compared with similar indicators in athletes, who improved the quality of endurance or speed.

Discussion

There are increased requirements to the respiratory system of athletes engaged in sports with the predominant manifestation of endurance. While training, the need for increased ventilation increases, but the maximum airflow, lung volume and contractility of the respiratory muscles show little changes, and in some cases there is even some restriction of airflow. A number of studies have suggested, that the functional capabilities of the respiratory system of highly skilled athletes lag behind the adapted to intense muscular activity capabilities of the cardiovascular system and neuromuscular system [13].

Increased susceptibility to bronchospasm in endurance athletes is described by many authors, referring to it as “exercise asthma”. The results of the study [1] showed, that in three biathletes the rate of FVCL, % was below

Table 3. Indicators of the external respiration function in athletes, who developed the quality of endurance or speed, M ± SD, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ%
	Endurance (n = 54)	Speed (n = 10)		
RV, l	0.69 (0.53; 0.91)	0.91 (0.61; 1.21)	0.385	
RV, %	93 (73; 126)	97 (83; 194)	0.255	
LVV, l	13.29 ± 4.93	14.33 ± 6.54	0.746	
LVV, %	102.52 ± 36.93	123.90 ± 56.81	0.350	
RR, l/min	17.72 ± 4.92	17.12 ± 3.81	0.890	
D _{insp} , s	1.72 ± 0.59	1.60 ± 0.55	0.494	
D _{exp} , s	1.92 ± 0.69	2.07 ± 0.61	0.448	
D _{insp} /D _{exp}	0.94 ± 0.37	0.81 ± 0.28	0.271	
RVm, l	1.19 ± 0.56	0.97 ± 0.40	0.306	
RRm, l/min	113.34 ± 41.77	111.38 ± 42.75	0.441	
MVV, l/min	117.97 ± 36.59	107.19 ± 25.59	0.370	
MVV, %	91.37 ± 25.52	92.50 ± 21.79	0.823	
VC, l	4.61 ± 1.29	4.03 ± 0.92	0.094	
VC, %	89.70 ± 23.35	81.00 ± 28.51	0.566	
IRV, l	2.14 ± 0.86	2.00 ± 0.80	0.394	
ERV, l	1.65 ± 0.94	1.18 ± 0.41	0.044	28.5 %
FVC, l	4.83 ± 1.12	4.11 ± 1.19	0.031	14.9 %
FVC, %	92.34 ± 15.93	90.51 ± 9.90	0.846	
FEV ₁ , l	4.50 ± 1.00	3.88 ± 1.06	0.069	
FEV ₁ , %	94.52 ± 21.86	91.70 ± 11.36	0.725	
FEV _{pef} , l	2.47 ± 0.97	1.99 ± 0.92	0.025	19.4 %
FEV _{pef} , %	102.98 ± 37.57	89.40 ± 34.55	0.180	
IT, %, value	97.60 (86.15;111.50)	100.55 (78.70;108.00)	0.586	
IT, %	108.50 (55.50;124.50)	111.50 (87.00;121.00)	0.818	
FEV ₁ /FVC, %, value	95.36 ± 8.05	93.59 ± 8.57	0.389	
FEV ₁ /FVC, %	103.81 ± 8.85	102.01 ± 9.31	0.571	
PEF, l/s	-5.93 ± 1.73	-5.14 ± 1.59	0.212	
PEF, %	74.30 ± 20.14	69.60 ± 16.74	0.677	
MEF 25, l/s	-4.91 ± 1.84	-4.61 ± 1.42	0.677	
MEF 25, %	67.48 ± 24.79	69.60 ± 17.50	0.637	
MEF 50, l/s	-5.62 ± 1.62	-4.82 ± 1.50	0.142	
MEF 50, %	70.72 ± 18.73	65.40 ± 15.36	0.644	
MEF 75, l/s	-5.33 ± 1.78	-4.57 ± 1.66	0.174	
MEF 75, %	80.06 ± 22.89	72.20 ± 23.29	0.421	
FEF 25–75, l/s	-5.41 ± 1.60	-4.76 ± 1.47	0.284	
FEF 75–85, l/s	-5.03 ± 1.57	-4.27 ± 1.71	0.129	
T _{pef} , s	0.44 ± 0.19	0.55 ± 0.13	0.774	
VC, l	4.84 ± 1.07	4.29 ± 1.17	0.171	
VC, %	94.48 ± 14.60	92.60 ± 10.01	0.723	
IRV, l	2.66 ± 1.12	2.40 ± 0.96	0.049	9.8 %
ERV, l	1.35 ± 1.08	1.04 ± 0.44	0.727	
FVC, l	4.71 ± 0.99	4.20 ± 1.21	0.037	10.8 %
FVC, %	91.62 ± 12.30	91.00 ± 7.76	0.262	
FEV _{0.5} , l	2.90 ± 0.63	2.60 ± 0.91	0.875	
FEV ₁ , l	4.26 ± 0.85	3.72 ± 1.25	0.875	
FEV ₁ , %	98.51 ± 17.60	96.41 ± 15.85	0.745	
FEV ₂ , l	4.80 (3.94;5.36)	4.00 (3.37;4.56)	0.969	
FEV ₂ , %	96.33 ± 24.91	96.25 ± 8.81	0.909	
FEV ₃ , l	5.53 ± 0.89	4.29 ± 1.32	0.688	
FEV ₃ , %	88.69 ± 42.91	93.00 ± 8.54	0.977	
FEV _{pef} , l	1.12 ± 0.42	0.94 ± 0.43	0.262	
FEV _{pef} , %	109.78 ± 42.15	106.25 ± 34.77	0.223	
IT	91.86 (81.30;107.00)	95.65 (83.10;103.00)	0.966	
IT, %, value	89.79 ± 12.61	86.96 ± 11.14	0.916	
IT, %	107.24 ± 12.83	104.10 ± 14.53	0.579	
FIV ₁ /FVC, %, value	91.03 ± 7.91	88.94 ± 10.62	0.010	2.3%
FIV ₁ /FVC, %	110.15 ± 9.81	106.30 ± 13.81	0.875	
FIV ₂ /FVC, %, value	99.55 ± 1.11	99.23 ± 1.17	0.134	
FIV ₂ /FVC, %	105.29 ± 1.36	105.25 ± 1.16	0.858	

Cont. of Table 3.

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ%
	Endurance (n = 54)	Speed (n = 10)		
FIV3/FVC, %, value	100.00 ± 0.20	99.90 ± 0.22	0.688	
FIV3/FVC, %	103.00 ± 0.20	103.00 ± 0.20	0.999	
PEF/FEV _{pef} , l/s	6.15 (4.48; 8.83)	6.90 (5.18; 8.11)	0.800	
FEV _{pef} , l/s	6.75 ± 1.71	6.19 ± 2.27	0.397	
FEV _{pef} , %	75.64 ± 17.67	76.40 ± 20.17	0.799	
MEF 25, l/s	6.33 ± 1.61	6.01 ± 2.14	0.554	
MEF 25, %	78.08 ± 18.71	81.00 ± 21.45	0.457	
MEF 50, l/s	5.20 ± 1.27	4.65 ± 1.61	0.208	
MEF 50, %	98.36 ± 20.89	94.00 ± 22.96	0.821	
MEF 75, l/s	3.37 ± 1.02	2.85 ± 1.04	0.080	
MEF 75, %	125.55 ± 33.34	112.50 ± 29.08	0.310	
FEF 0.2–1.2, l/s	4.35 ± 2.09	4.02 ± 1.59	0.693	
FEF 25–75, l/s	4.81 ± 1.15	4.31 ± 1.48	0.194	
FEF 25–75, %	101.27 ± 25.85	97.00 ± 22.98	0.742	
FEF 75–85, l/s	2.94 ± 0.95	2.40 ± 0.91	0.060	
FEF 75–85, %	138.66 ± 40.13	114.60 ± 29.36	0.092	

Table 4. Indicators of the external respiration function in athletes, who developed the quality of strength or speed, M ± SD, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ%
	Strength (n = 31)	Speed (n = 10)		
RV, l	0.92 (0.63; 1.34)	0.91 (0.61; 1.21)	0.421	
RV, %	103 (82; 156)	97 (83; 194)	0.832	
LVV, l	15.15 ± 4.83	14.33 ± 6.54	0.504	
LVV, %	111.16 ± 40.31	123.90 ± 56.81	0.585	
RR, l/min	16.70 ± 5.28	17.12 ± 3.81	0.761	
D _{insp} , s	1.66 ± 0.52	1.60 ± 0.55	0.606	
D _{exp} , s	2.31 ± 0.97	2.07 ± 0.61	0.606	
D _{insp} /D _{exp}	0.78 ± 0.27	0.81 ± 0.28	0.430	
RVm, l	1.23 ± 0.58	0.97 ± 0.40	0.274	
RRm, l/min	109.19 ± 35.10	111.38 ± 42.75	0.485	
MVV, l/min	120.36 ± 39.98	107.19 ± 25.59	0.347	
MVV, %	86.65 ± 21.56	92.50 ± 21.79	0.387	
VC, l	5.45 ± 1.31	4.03 ± 0.92	0.003	26.1 %
VC, %	99.14 ± 20.94	81.00 ± 28.51	0.052	
IRV, l	3.04 ± 1.15	2.00 ± 0.80	0.008	34.2 %
ERV, l	1.28 ± 0.55	1.18 ± 0.41	0.346	
FVC, l	5.15 ± 1.17	4.11 ± 1.19	0.016	20.2 %
FVC, %	95.84 ± 17.69	90.51 ± 9.90	0.301	
FEV ₁ , l	4.92 ± 1.23	3.88 ± 1.06	0.015	21.1 %
FEV ₁ , %	99.26 ± 18.84	91.70 ± 11.36	0.202	
FEV _{pef} , l	2.85 ± 1.17	1.99 ± 0.92	0.016	30.2 %
FEV _{pef} , %	118.32 ± 47.64	89.40 ± 34.55	0.054	
IT, %, value	93.10 ± 14.13	96.48 ± 14.60	0.431	
IT, %	105.00 (93.00; 112.00)	111.50 (87.00; 121.00)	0.326	
FEV ₁ /FVC, %, value	95.46 ± 7.49	93.59 ± 8.57	0.478	
FEV ₁ /FVC, %	103.90 ± 8.32	102.01 ± 9.31	0.671	
PEF, l/s	-6.63 ± 2.14	-5.14 ± 1.59	0.064	
PEF, %	79.29 ± 20.62	69.60 ± 16.74	0.230	
MEF 25, l/s	-5.59 ± 2.07	-4.61 ± 1.42	0.255	
MEF 25, %	72.29 ± 21.48	69.60 ± 17.50	0.898	
MEF 50, l/s	-6.22 ± 1.98	-4.82 ± 1.50	0.052	
MEF 50, %	74.94 ± 18.68	65.40 ± 15.36	0.224	
MEF 75, l/s	-5.93 ± 2.02	-4.57 ± 1.66	0.036	22.9 %
MEF 75, %	90.84 ± 27.56	72.20 ± 23.29	0.078	
FEF 25–75, l/s	-6.06 ± 2.03	-4.76 ± 1.47	0.084	
FEF 75–85, l/s	-5.53 ± 1.94	-4.27 ± 1.71	0.035	22.8 %
T _{pef} , s	0.46 ± 0.20	0.55 ± 0.13	0.715	
VC, l	5.20 ± 1.02	4.29 ± 1.17	0.019	17.5 %

80 %. Five biathletes showed a decrease in FEV₁, %, which characterizes the total capacity of the bronchial tree. Six biathletes had a reduced Tiffeneau index, which is also a sensitive index of airway obstruction. The authors received a decrease in the velocity characteristics of pulmonary ventilation in female athletes. Five biathletes had a reduced peak expiratory flow (PEF, %) – the maximum value of the flow, achieved during respiration. Decreased MEF indicates the presence of obstructive changes in lungs, while a decrease in MEF 75, % indicates obstruction in the small bronchi, MEF 50, % – obstruction at the level of the middle bronchi, MEF 25, % – obstruction of the large bronchi. Obstruction at the level of small and large bronchi was observed in four of the examined biathletes, in eight – at the level of the middle bronchi [1]. This decrease in bronchial patency in biathletes allowed authors to conclude, that the area of the functioning surface of the alveolar-capillary membranes is reduced, the volume of blood flow in the capillary bed of the lungs is reduced and the use of oxygen in ventilated air is reduced. Researchers have suggested, that an inadequate ratio of alveolar ventilation and perfusion may, in turn, lead to a significant reduction in arterial blood oxygen saturation and the development of arterial hypoxemia, which will significantly limit the aerobic performance of athletes [1].

Govorukhina O. A. and co-authors [4] found, that the volume of pulmonary ventilation of athletes, engaged in cross-country skiing and swimming, significantly superior to athletes, engaged in biathlon. According to the authors, such results reflect the specificity of training loads in certain sports of cyclic structure. Girls and boys, competing in cross-country skiing also had the highest rates of pulmonary ventilation, which indicates the superiority of the strength of the expiratory muscles and the patency of the bronchial tree in relation to athletes of other specialties. The lowest values of the speed of pulmonary ventilation were found in girls and boys, who were engaged in swimming. Analysis of the speed of pulmonary ventilation of cyclic sports athletes allowed the authors to conclude, that the expiratory muscles of the athletes under study are well developed, and there are no violations of the patency of the bronchial tree. At the same time the most powerful exhalations were able to perform athletes, engaged in cross-country skiing. The lowest airflow velocities and, accordingly, the largest duration of exhalation were found in the group of swimmers. Such results may be due to the specifics of the environment, in which swimmers perform the bulk of training work. During swimming, the human body is in the water, which puts constant pressure on the chest and, accordingly, facilitates the work of the muscles responsible for the act of exhalation [4].

In our study, we found no evidence of airway obstruction in athletes, who improved endurance or strength or speed. Athletes, who developed mostly endurance quality as opposed to strength athletes and athletes, who improved speed quality, were likely to have a greater reserve expiratory volume. Athletes, who improved mainly strength quality had greater lung capacity, respiratory volume, inspiratory reserve volume, and expiratory velocity (FEV₁, MEF 75, FEF 75–85), than athletes, who developed mostly endurance or speed qualities.

At the same time E. A. Baranova and L. V. Kapilevich [2] received in the group of athletes after exercise a decrease in bronchial patency at the level of the large bronchi, as evidenced by a decrease in PEF and MEF 25, as well as the Tiffeneau index. The mechanisms of this phenomenon are not fully clear. Possibly, physical exercise in athletes no longer plays the role of a powerful stressor, the release of adrenaline during exercise is not so significant, which leads to increased tone of the smooth muscles of the bronchi. From the point of view of respiratory mechanics, the decrease in bronchial patency, according to the authors, may be associated with the effect of ejection, i.e. with a decrease in pressure on the bronchial wall with increasing air flow rate due to increased respiratory muscle activity. At the same time, more efficient work of respiratory muscles in athletes is reflected in the increase of MEF 75 and MEF 85. These indicators reflect the condition of the small bronchi, which largely depend on muscular effort. Probably, this mechanism in athletes compensates for the factor of narrowing of the large bronchi.

Thus, training in cyclic sports forms a number of factors, some of which adversely affect pulmonary ventilation and limit the capabilities of the cardio-respiratory system. At the same time, there is a formation of mechanisms, that compensate for these negative effects and allow to meet the body's need for oxygen at the peak of exercise. Thus, after exercise in athletes there is a decrease in air flow rate at the level of the large bronchi, which is compensated by an increase in bronchial patency at the level of medium and small bronchi. The latter is provided primarily by the efforts of the respiratory muscles [2].

Of course, one of the limiting components of the effectiveness of the external respiratory system are the respiratory muscles, which in the process of inspiration carry out work to overcome the elastic and inelastic resistance [10]. In work of respiratory muscles of athletes there is a pattern, the stronger the respiratory muscles are, the more efficient the ventilation is, which in its turn determines the level of overall physical endurance and efficiency of athletes [3]. A number of studies have shown, that trained people have certain features of pulmonary ventilation parameters. For example, young rowers had higher lung capacity, forced lung capacity, and respiratory volume, than non-athletic peers [1]. Baranova E. A. and Kapilevich L.V. stated, that in the study of 1–2 degree athletes, engaged in cyclic sports, and students, who did not go in for sports, lung ventilation of highly trained students was characterized by a decrease in inelastic resistance of the respiratory muscles [2].

The question of possibility to achieve a higher level of physical endurance by training the muscles of breath, requires further study. Shamsutdinova M. E. and co-authors found, that the presence of initial features of lung ventilation parameters in men is not a prerequisite for the formation of a high level of endurance and performance, which are observed in professional athletes, and are formed during sports training [11].

Presented by S. O. Kryukov and co-authors analysis [7] of ventilatory reactions of young wrestlers aged 12–13 years during exercise, showed, that the limiting factor in the aerobic capacity of adolescents is a change in

Cont. of Table 4.

Value, units of measure	Quality		P-level	Δ%
	Strength (n = 31)	Speed (n = 10)		
VC, %	95.23 ± 11.17	92.60 ± 10.01	0.553	
IRV, l	3.43 ± 1.30	2.40 ± 0.96	0.027	30.0 %
ERV, l	0.79 ± 0.82	1.04 ± 0.44	0.439	
FVC, l	4.95 ± 0.98	4.20 ± 1.21	0.045	15.2 %
FVC, %	91.81 ± 9.95	91.00 ± 7.76	0.855	
FEV0.5, l	2.97 ± 0.66	2.60 ± 0.91	0.125	
FEV1, l	4.37 ± 0.83	3.72 ± 1.25	0.040	14.9 %
FEV1, %	99.45 ± 11.89	96.41 ± 15.85	0.671	
FEV2, l	4.97 ± 0.93	4.28 ± 1.21	0.067	
FEV2, %	94.62 ± 9.04	96.25 ± 8.81	0.660	
FEV3, l	5.34 (4.51;6.14)	4.14(3.18;4.71)	0.463	
FEV3, %	91.34 ± 7.18	93.00 ± 8.54	0.916	
FEVpef, l	1.14 ± 0.49	0.94 ± 0.43	0.089	
FEVpef, %	108.92 ± 50.48	106.25 ± 34.77	0.884	
IT	84.05 ± 18.07	92.31 ± 16.19	0.165	
IT, %, value	84.41 ± 13.29	86.96 ± 11.14	0.522	
IT, %	105.53 ± 15.80	104.10 ± 14.53	0.815	
FIV1/FVC, %, value	88.80 ± 9.76	88.94 ± 10.62	0.820	
FIV1/FVC, %	109.62 ± 11.73	106.30 ± 13.81	0.465	
FIV2/FVC, %, value	98.98 ± 2.16	99.23 ± 1.17	0.912	
FIV2/FVC, %	104.72 ± 2.64	105.25 ± 1.16	0.977	
FIV3/FVC, %, value	99.89 ± 0.29	99.90 ± 0.22	0.874	
FIV3/FVC, %	102.91 ± 0.30	103.00 ± 0.20	0.500	
PEF/FEVpef, l/s	6.87(4.05; 10.20)	6.90(5.18;8.11)	0.903	
FEVpef, l/s	7.09 ± 2.22	6.19 ± 2.27	0.347	
FEVpef, %	75.32 ± 18.82	76.40 ± 20.17	0.704	
MEF 25, l/s	6.49 ± 2.09	6.01 ± 2.14	0.495	
MEF 25, %	75.71 ± 20.38	81.00 ± 21.45	0.378	
MEF 50, l/s	5.36 ± 1.25	4.65 ± 1.61	0.114	
MEF 50, %	97.88 ± 19.69	94.00 ± 22.96	0.988	
MEF 75, l/s	3.32 ± 0.93	2.85 ± 1.04	0.104	
MEF 75, %	128.39 ± 33.22	112.50 ± 29.08	0.111	
FEF 0.2–1.2, l/s	4.60 ± 2.63	4.02 ± 1.59	0.553	
FEF 25–75, l/s	4.94 ± 1.14	4.31 ± 1.48	0.073	
FEF 25–75, %	102.29 ± 20.22	97.00 ± 22.98	0.606	
FEF 75–85, l/s	2.83 ± 0.86	2.40 ± 0.91	0.141	
FEF 75–85, %	141.97 ± 38.03	114.60 ± 29.36	0.027	19.3 %

Table 5. Indexed indicators of RV, VC, IRV and ERV in athletes, who improved the quality of endurance, strength or speed, M ± SD

Value, units of measure	Endurance	Strength	Speed	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Index RV, l × m ² /kg	0.036 ± 0.017	0.040 ± 0.020	0.040 ± 0.016	0.379	0.531	0.962
Index IRV, l × m ² /kg	0.102 ± 0.040	0.113±0.041	0.094 ± 0.035	0.234	0.556	0.193
Index ERV, l × m ² /kg	0.084 ± 0.037	0.052 ± 0.023	0.055 ± 0.019	0.00003	0.009	0.809
Index VC, l × m ² /kg	0.225 ± 0.054	0.205 ± 0.062	0.189 ± 0.037	0.132	0.067	0.426

the structure of vital capacity of the lungs in the direction of a significant reduction in expiratory reserve.

In our study, we also noted, that athletes who developed strength quality had a greater vital lungs capacity, due to the predominance of respiratory volume and reserve inspiratory volume, but less expiratory reserve, than athletes, who improved quality of endurance.

In the study of S. O. Kryukov and co-authors [7] in wrestlers a discrepancy between the increasing volume of pulmonary ventilation and bronchial patency was found. The increase in ventilation was mainly due to an increase in respiratory rate to 40.9 ± 3.07 cycles/min ($P < 0.01$) and, to a lesser extent, due to an increase in respiratory volume, which increased by an average of 600.0 ml ($P < 0.01$). Manifestation of such an ineffective ventilatory response was facilitated by a decrease in vital capacity of the lungs from 2.45 ± 0.12 l at rest to 1.80 ± 0.12 l at the end of physical activity ($P < 0.001$). Analysis of the fractional components of VC showed, that the decrease in vital capacity of the lungs during exercise was influenced by both the inspiratory reserve volume and expiratory reserve volume. The ERV decreased more significantly, which decreased to 70.00 ± 2.96 ml ($P < 0.001$). The formation of the respiration pattern in these conditions was due to the increase of the frequency parameter in the growth of LVV, which is a factor in the manifestation of hyperventilation syndrome, which reduces the gas exchange capacity of the lungs. The reason for this phenomenon, the authors believe, is an insufficiency of the respiratory muscles, especially the expiratory muscles, the weakness of which helped to restrain the increase in alveolar ventilation [7].

One of the leading components of the ventilatory function of the lungs is the functionality of the tracheo-bronchial tree. As the volume of air flowing through the lungs increases, bronchial patency should also increase. However, S. O. Kryukov and co-authors [7] revealed some stabilization of the volumetric expiratory rate in the large, medium and small bronchi at the last stage of stress testing, relative to the previous load. The average expiratory rate also did not change (FEF 25–75). That is, the strengthening of ventilatory function was not accompanied by an adequate increase in airway patency. Among the reasons, that reduce the functionality of airways, the authors attributed the decrease in radially directed pressure, which restrains the collapse of the bronchi. Increasing in respiratory movements frequency contributes to its reduction, which may result in a decrease in bronchial patency during forced breathing. In addition, adolescents are characterized by regional differences in the mechanical properties of the lungs and regional differences in intra-pleural pressure, which creates the conditions for a nonlinear distribution of lung ventilation. These features of the formation of the ventilatory response to exercise can reduce performance, restrain the metabolic demand of the body [7].

The functional state of the external respiratory system is closely related to the nature of metabolic reactions. Increased or decreased metabolism is reflected in the production of carbon dioxide, causing certain changes in gas exchange. The dynamics of CO₂ release with gradually increasing loads in aerobic mode changes as follows – with increasing power, there is a progressive increase in CO₂. In turn, the release of CO₂ through lungs is directly dependent on the intensity of the load and vice versa – on the physical fitness of the athlete [12].

Oxygen utilization rate and oxygen effect indicator of the respiratory cycle, which objectively characterize the reserves of the respiratory system, which reflects the energy value of pulmonary ventilation, depend on

the level of tissue metabolism, pulmonary ventilation and lung diffusion capacity.

Reserve capacity of the external respiration system largely depends not only on the orientation, but also on the period of the training process. The obtained data on the seasonal dynamics of the ratio of the response of external respiration and hemodynamics during exercise, allowed V. L. Karpman and co-authors [6] to identify a significant decrease in the values of the ratio $\Delta LVV/\Delta MBV$ and the integrated efficiency of the system in athletes during summer period, which indicates higher reserve capabilities of the cardiorespiratory system at the beginning of the competitive period. This is indicated, first of all, by the signs of increasing the role of volumetric characteristics of external respiration and hemodynamics in the reactions of the cardio-respiratory system during exercise, changes in the connection of external respiratory and circulatory reactions mainly due to reduced minute pulmonary ventilation [6].

Thus, the ability to deliver sufficient oxygen and release the body from excess carbon dioxide during intensive work is determined by airway patency, lung function and the level of development of the chest muscles, that provide ventilation. The high requirements for the external respiratory system of athletes are the key to the effective work of the entire cardio-respiratory system.

Conclusions

1. Athletes, who have developed a quality of strength have a greater vital capacity of the lungs, due to the predominance of respiratory volume and inspiratory reserve volume, but less expiratory reserve volume, than in athletes, who improved the quality of endurance.

2. Athletes, who developed endurance quality, in contrast to athletes, who improved the quality of speed, have a higher forced vital capacity of the lungs, due to the predominance of inspiratory and expiratory reserve volumes.

3. The function of external respiration of athletes, who improved the quality of speed is characterized by lower vital capacity of the lungs, forced vital capacity of the lungs, due to reduced inspiratory reserve volume, and greater resistance to airflow in the bronchi of small caliber in the expiratory phase, than in athletes, who developed the quality of strength.

Prospects for further research are to elucidate the features of the functional state of the external respiratory system of athletes, taking into account the polymorphism of the genes NOS, VEGFA, ACE.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.08.2020
Після доопрацювання / Revised: 19.01.2021
Прийнято до друку / Accepted: 02.02.2021

Information about authors:

Kanyhina S. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0002-8197-299X](https://orcid.org/0000-0002-8197-299X)

Potapenko M. S., MD, PhD, Assistant of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kurilets L. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Propaedeutic of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Radiation Treatment, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Канигіна С. М., канд. мед. наук, доцент каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Потапенко М. С., канд. мед. наук, асистент каф. анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Курилець Л. О., канд. мед. наук, асистент каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Каныгина С. Н., канд. мед. наук, доцент каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Потапенко М. С., канд. мед. наук, доцент каф. анестезиологии и интенсивной терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Курилец Л. О., канд. мед. наук, ассистент каф. пропедевтики внутренней медицины, лучевой диагностики и лучевой терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Aikin, V. A., Reutskaya, E. A., & Sukhachov, E. A. (2015). Funktsional'noe sostoyanie dykhatel'noi sistemy biatlonistok vysokoi kvalifikatsii [Functional state of respiratory system of the elite female biathletes]. *Uchenye zapiski universiteta im. P. F. Lesgafta*, (12), 14-19. [in Russian].
- [2] Baranova, E. A., & Kapilevich, L. V. (2013). Vliyaniye fizicheskoi nagruzki na pokazateli legochnoi ventilatsii u sportsmenov [The influence of physical activity on the indicators of pulmonary ventilation in athletes]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*, (374), 152-155. [in Russian].
- [3] Volkov, N. I., & Oleinikov, V. I. (2011). Bioenergetika sporta [Sports bioenergy]. *Sovetskii sport*. [in Russian].
- [4] Govorukhina, A. A., & Vetkalova, N. S. (2018). Osobennosti adaptatsii sistemy vneshnego dykhaniya sportsmenov tsiklicheskih vidov sporta, treniruyushchikhsya v KhMAO-Yugre [Features of adaptation of the external respiration system in athletes of cyclic sports training in the Khanty-Mansi Autonomous Area-Yugra]. *Vestnik meditsinskogo instituta «REAVIZ»*, (1), 156-163. [in Russian].
- [5] Isupov, I. B., Sevrukova, G. A., Shmarina, Ya. G., Ryaskova, K. A., & Belova, V. A. (2017). Ekspiratornyye legochnyye ob'emy molodykh lyudei v usloviyakh pokoya i v period vosstanovleniya posle dozirovannoi fizicheskoi nagruzki [Expiratory Lung Volumes of Young People at Rest and Recovery Period after a Dosed Physical Load]. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya*, 17(2), 197-200. [in Russian]. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2017-17-2-197-200>
- [6] Karpman, V. L., Belotserkovskii, Z. B., & Gudkov, I. A. (1988). Testirovaniye v sportivnoi meditsine [Testing in sports medicine]. *Fizkul'tura i sport*. [in Russian].
- [7] Kryukov, S. A., Pogodin, S. V., & Dildin, O. I. (2017). Osobennosti struktury ventilatornoi reaktzii u bortsov 12-13 let pri rabote v razlichnykh trenirovochnykh rezhimakh [Features of the structure of ventilation reaction at wrestlers 12-13 years at work in various training regimes]. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Fizicheskaya kul'tura. Sport*, (2), 159-163. [in Russian].
- [8] Polataiko, Yu. (2012). Vplyv fizychnoho navantazhennia maksimalnoi potuzhnosti na reaktyvnist kardiorespiratornoi systemy v sportsmeniv. [Influence of Physical Loads of Maximal Power on Reactivity of Cardiovascular System of Sportsmen] *Fizychnye vykhovannia, sport i kultura zdorovia u suchasnomu suspilstvi*, (3), 367-371. [in Ukrainian].
- [9] Struchkov, P. V., & Vorob'eva, Z. V. (2005). Standarty vypolneniya i otsenki rezul'tatov issledovaniya vneshnego dykhaniya (na osnovе rekomendatsii Evropeiskogo respiratornogo obshchestva i Amerikanskogo torakalnogo obshchestva) [Standards for implementation and evaluation of the results of external respiration studies (based

on the European Respiratory Society and the American Thoracic Society Guidelines)]. *European Respiratory Journal*, 26(2), 319-968. [in Russian].

- [10] Suslina, I. V. (2012). Individual'no-tipologicheskie osobennosti funktsional'nykh vozmozhnostei dykhatel'noi muskulatury u sportsmenov [Dependence of breathing muscles functional abilities on specific features of the organism]. *Fundamental'nye issledovaniya*, (9), 73-77. [in Russian].
- [11] Shamsutdinova, M. E., & Miroshnichenko, I. V. (2016). Osobennosti parametrov vneshnego dykhaniya u muzhchin s razlichnym urovnem fizicheskoi rabotosposobnosti i vynoslivosti [Features of external men respiration parameters with different levels of physical performance and stamina]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, (11), 75-79. [in Russian].
- [12] Yashanin, Ya., Voynar, Yu., Yashanin, N., & Skurvidas, A. (2002). Biologicheskie osnovy optimizatsii trenirovochnykh nagruzok [Biological basis for optimization of training loads]. *Nauka v olimpiiskom sporte*, (1), 54-59. [in Russian].
- [13] Amann, M. (2012). Pulmonary system limitations to endurance exercise performance in humans. *Experimental Physiology*, 97(3), 311-318. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.058800>

Ортопедичне лікування незнімними конструкціями, враховуючи розподіл і причини виникнення дефектів твердих тканин зубів

Ю. В. Клим'юк *^{1,B,D}, З. Р. Ожоган ^{1,A,F}, Л. В. Мізюк ^{1,B,E}, В. М. Криванич ^{2,E},
І. В. Янішен ^{3,C,E}

¹Івано-Франківський національний медичний університет, Україна, ²ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна,
³Харківський національний 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:

вітальний зуб,
депульпований зуб,
тверді тканини.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 1(51),
С. 112-116

*E-mail:
zortex_plus@ukr.net

Мета роботи – аналіз причин ускладнень ортопедичного лікування дефектів зубних рядів металокерамічними коронками та мостоподібними протезами.

Матеріали та методи. Під час роботи обстежили 140 пацієнтів віком від 34 до 49 років, для яких виготовили одиничні металокерамічні коронки та незнімні металокерамічні мостоподібні протези. Пацієнтів поділили на 2 групи (по 70 пацієнтів у кожній): у першу включені особи з вітальними опорними зубами, у другу – з депульпованими. Опорні зуби мали різний функціональний стан: пломбовані, мали клиноподібні дефекти або підвищену стертість.

Результати. Аналіз результатів ортопедичного лікування показав, що виготовлення суцільнолитих металокерамічних коронок на вітальні зуби, що були пломбовані понад 1 рік тому, призвело до ускладнень у 18 з 35 пацієнтів цієї групи (51,4 %); це невірогідно ($p > 0,05$) на 17,2 % менше, ніж при аналогічному протезуванні на депульпованих зубах. Щодо мостоподібних протезів, то тенденція до виникнення більшої кількості ускладнень при протезуванні на девітальних зубах зберігається, оскільки в першій групі було 20 (57,7 %) пацієнтів з ускладненнями, а у другій – 29 (82,9 %), вірогідність різниці – на рівні $p < 0,05$. У разі протезування одиничними коронками вітальних зубів, дефекти твердих тканин яких заміщені пломбувальним матеріалом безпосередньо перед протезуванням, ускладнення виникли у 3 (8,6 %) пацієнтів; це недостовірно ($p > 0,05$) менше на 5,6 %, ніж у другій групі, де ускладнення виявили в 5 (14,2 %) осіб.

Аналіз результатів ортопедичного лікування пацієнтів із включеними дефектами зубних рядів металокерамічними мостоподібними протезами показав, що при використанні як опорних пломбованих зубів (пломбовані протягом 1 року перед протезуванням), коли вони були депульповані, ускладнення виникли в 9 (25,7 %) осіб цієї групи. Цей показник невірогідно ($p > 0,05$) перевищує відповідний для першої групи (становить 14,3 %) на 11,4 %. Отже, визначена тенденція до зменшення опору зуба негативним зовнішнім і внутрішнім факторам, яка не набула статистичної значущості.

Висновки. За результатами дослідження, частота ускладнень, що виникають після протезування незнімними конструкціями, залежить від стану пульпи зуба, оскільки життєздатна пульпа забезпечує обмін речовин, оновлення клітин зуба і реакцію на будь-які пошкодження. Доведена необхідність заміни пломб, які встановлені понад 1 рік тому, для зменшення ризику виникнення вторинного карієсу. Дефекти твердих тканин, як-от клиноподібний дефект і підвищена стертість, не збільшують частоту ускладнень при протезуванні незнімними конструкціями.

Key words:

vital tooth,
depulped tooth,
hard tissues.

Pathologia
2021; 18 (1), 112-116

Orthopedic treatment with fixed dentures taking into account the distribution and causes of defects in dental hard tissues

Yu. V. Klymiuk, Z. R. Ozhogan, L. V. Miziuk, V. M. Kryvanych, I. V. Yanishen

The aim of this work was to analyze the causes of complications of orthopedic treatment of dentition defects with metal-ceramic crowns and non-removable metal-ceramic bridges.

Materials and methods. A total of 140 patients aged 34 to 49 years were examined during the work, who underwent the production of both single metal-ceramic crowns and non-removable metal-ceramic bridges. All patients were divided into 2 groups (70 patients each): the first one included patients with vital abutment teeth, the second one – with depulped. The abutment teeth had a different functional state – they were filled, had wedge-shaped defects or increased abrasion.

Results. Orthopedic treatment showed that the manufacture of solid metal-ceramic crowns on dental teeth, which were filled more than 1 year ago, led to complications in 18 of 35 (51.4 %) patients in this group, which is insignificantly ($P > 0.05$) by 17.2 % less than with similar prosthetics on depulped teeth. Regarding the manufacture of bridges, the trend of more complications in prosthetics on devital teeth persists, because in group I we had 20 (57.7 %) patients with complications, and in group II – 29 (82.9 %) cases, which is significantly different at the level of $P < 0.05$. In prosthetics of vital teeth, defects of hard tissues of which are replaced by filling material immediately before prosthetics, single crowns of complications occurred in 3 patients, i.e. in 8.6 %, which is insignificantly ($P > 0.05$) less by 5.6 % than in group II where complications were found in 5 (14.2 %) people. Analysis of orthopedic treatment of patients with included defects of dentitions with metal-ceramic bridge prostheses revealed that when using filled teeth (filled for 1 year before prosthetics) in the case, when they were depulped, as abutment, complications were observed in 9 people, i.e. in 25.7 % of this group. This indicator insignificantly ($P > 0.05$)

exceeds the identical one from the first group (14.3 %) by 11.4 %, therefore, there is a tendency to reduce tooth resistance to negative external and internal factors, which has not acquired statistical significance.

Conclusions. The study found that the frequency of complications that occur after prosthetics with fixed dentures depends on the condition of the tooth pulp, because the viable pulp provides metabolism, renewal of tooth cells and response to any damage. The need to replace fillings that were made more than 1 year ago to reduce the risk of secondary caries has been proven. Defects of hard tissues in the form of a wedge-shaped defect and the increased attrition do not increase frequency of complications in prosthetics by fixed dentures.

Ортопедическое лечение несъёмными конструкциями с учётом распределения и причин возникновения дефектов твёрдых тканей зубов

Ю. В. Климяк, З. Р. Ожоган, А. В. Мизюк, В. Н. Криванич, И. В. Янишен

Цель работы – анализ причин осложнений ортопедического лечения дефектов зубных рядов металлокерамическими коронками и мостовидными протезами.

Материалы и методы. В ходе работы обследовали 140 пациентов в возрасте от 34 до 49 лет, для которых изготовили отдельные металлокерамические коронки и несъемные металлокерамические мостовидные протезы. Пациентов поделили на 2 группы (по 70 пациентов в каждой): в первую включены пациенты с витальными опорными зубами, во вторую – с депульпированными. Опорные зубы имели разное функциональное состояние: пломбированные, имели клиновидные дефекты или повышенную стираемость.

Результаты. Анализ результатов ортопедического лечения показал, что изготовление цельнолитых металлокерамических коронок на витальные зубы, которые пломбированы более 1 года назад, привело к осложнениям у 18 (51,4 %) из 35 пациентов данной группы; это недостоверно ($p > 0,05$) на 17,2 % меньше, чем при аналогичном протезировании на депульпированных зубах. Что касается мостовидных протезов, то тенденция к возникновению большего количества осложнений при протезировании на девитальных зубах сохраняется, поскольку в I группе было 20 (57,7 %) пациентов с осложнениями, а во второй – 29 (82,9 %); достоверность отличий – на уровне $p < 0,05$. При протезировании одиночными коронками витальных зубов, дефекты твердых тканей которых замещены пломбировочным материалом непосредственно перед протезированием, осложнения возникли у 3 (8,6 %) пациентов; это недостоверно ($p > 0,05$) меньше на 5,6%, чем во второй группе, где осложнения отмечены у 5 (14,2 %) человек.

Анализ результатов ортопедического лечения пациентов с включенными дефектами зубных рядов металлокерамическими мостовидными протезами показал, что при использовании в качестве опорных пломбированных зубов (пломбированные в течение 1 года перед протезированием), когда они были депульпированы, осложнения отмечены у 9 (25,7 %) пациентов данной группы. Этот показатель недостоверно ($p > 0,05$) превышает соответствующий для первой группы (составляет 14,3 %) на 11,4 %. Таким образом, отмечена тенденция к уменьшению сопротивления зуба негативным внешним и внутренним факторам, которая не достигла статистической значимости.

Выводы. По результатам исследования, частота осложнений, возникающих после протезирования несъемными конструкциями, зависит от состояния пульпы зуба, поскольку жизнеспособная пульпа обеспечивает обмен веществ, обновление клеток зуба и реакцию на любые повреждения. Доказана необходимость замены пломб, изготовленных более 1 года назад, для уменьшения риска возникновения вторичного кариеса. Дефекты твердых тканей, а именно клиновидный дефект и повышенная стираемость, не увеличивают частоту осложнений при протезировании несъемными конструкциями.

Ключевые слова: витальный зуб, депульпированный зуб, твердые ткани, включенные дефекты зубных рядов.

Патология. 2021. Т. 18, № 1(51). С. 112-116

Поширеність стоматологічних захворювань, що потребують протезування зубів, висока й постійно збільшується [1,2], що призводить до зростання обсягу не тільки первинної, але й повторної ортопедичної допомоги. Збільшується і процентний вміст, і кількість ускладнень на різних етапах надання повторної стоматологічної допомоги пацієнтам [3]. Оптимізація повторного протезування зубів пов'язана з урахуванням ортопедичного, локального, загальносоматичного, соціального статусу та передбачає ретельну терапевтичну, ортодонтичну, пародонтичну, хірургічну підготовку, а також переважно використання сучасних ортопедичних технологій [3,4].

Дефекти твердих тканин зубів і часткові включені дефекти зубних рядів – найпоширеніші проблеми зубощелепної системи, які виявляють у 95 % населення. У нашій країні в загальній структурі надання медичної допомоги пацієнтам у лікувально-профілактичних установах стоматологічного профілю поширеність цього захворювання становить 68–80 %, його виявляють у

всіх дорослих групах пацієнтів [5]. Частковим дефектам зубного ряду належить важливе місце у структурі звернень пацієнтів за ортопедичною допомогою [6,7]. Надто висока поширеність часткової адентії за останні роки супроводжується зростанням потреби населення України в протезуванні незнімними ортопедичними конструкціями.

Проблема ефективності стоматологічної ортопедичної допомоги та стабільності її результатів має свої особливості [8,9]. Вони стосуються незворотного характеру захворювань і високої ймовірності прогресування, а також повторного протезування в перспективі. Тому віддалені результати ортопедичного лікування часткової відсутності зубів різними видами протезів, а також пов'язані з ними ризики розвитку ускладнень відіграють важливу роль під час оцінювання доцільності застосування певного виду протеза [3].

Проблема появи, перебігу та поширеності дефектів твердих тканин зубів на сучасному етапі розвитку ортопедичної стоматології залишається вкрай актуальною [10–12].

Мета роботи

Аналіз причин ускладнень ортопедичного лікування дефектів зубних рядів металокерамічними коронками та мостоподібними протезами.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на кафедрі ортопедичної стоматології Івано-Франківського національного медичного університету. Деонтологічні аспекти вирішені в рамках чинного в Україні законодавства, закону України «Про лікарські засоби», 1996 р., ст. 7, 8, 12, принципів ICH GCP (2008 р.), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. «Про затвердження Правил проведення клінічних випробувань та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісію з питань етики» зі змінами і доповненнями; Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації. Пацієнти, які брали участь у дослідженні, проінформовані про мету та методи дослідження, потенційні користь і ризик, а також можливий дискомфорт під час лікування.

Під час роботи обстежили 140 пацієнтів віком від 34 до 49 років, для яких виготовили одиничні металокерамічні коронки та незнімні металокерамічні мостоподібні протези. Пацієнтів поділили на 2 групи (по 70 пацієнтів у кожній): у першу включені особи з вітальними опорними зубами, у другу – з депульпованими. Опорні зуби мали різний функціональний стан: пломбовані, мали клиноподібні дефекти або підвищену стертість. Під час лікування всіх пацієнтів застосовували стандартну методику виготовлення суцільнолитих металокерамічних коронок і мостоподібних протезів, ідентичні конструкційні та допоміжні матеріали.

Ступінь вірогідності різниці двох величин визначали, використовуючи однобічний критерій Стьюдента. Під час аналізу результатів дослідження використовували ліцензійні програмні продукти (Statistica, Excel із додатковим набором програм) на ПЕОМ, що забезпечило необхідну стандартизацію процесу та процедури клініко-статистичного аналізу даних [13].

Результати

Аналіз результатів ортопедичного лікування показав (табл. 1, рис. 1), що виготовлення суцільнолитих металокерамічних коронок на вітальні зуби, які були пломбовані понад 1 рік тому, призвело до ускладнень у 18 з 35 пацієнтів цієї групи (51,4 %); це невірогідно ($p > 0,05$) на 17,2 % менше, ніж при аналогічному протезуванні на депульпованих зубах.

Щодо мостоподібних протезів (рис. 2), то тенденція до виникнення більшої кількості ускладнень при протезуванні на девітальних зубах зберігається, оскільки в першій групі було 20 (57,7 %) пацієнтів з ускладненнями, а у другій – 29 (82,9 %), вірогідність різниці – на рівні $p < 0,05$.

У разі протезування одиничними коронками вітальних зубів, дефекти твердих тканин яких заміщені пломбувальним матеріалом безпосередньо

перед протезуванням, ускладнення виникли у 3 (8,6 %) пацієнтів; це недостовірно ($p > 0,05$) менше на 5,6 %, ніж у другій групі, де ускладнення виявили в 5 (14,2 %) осіб.

Аналіз результатів ортопедичного лікування пацієнтів із включеними дефектами зубних рядів металокерамічними мостоподібними протезами показав, що при використанні як опорних пломбованих зубів (пломбовані протягом 1 року перед протезуванням), коли вони були депульповані, ускладнення виникли в 9 (25,7 %) осіб цієї групи. Цей показник невірогідно ($p > 0,05$) перевищує відповідний для першої групи (становить 14,3 %) на 11,4 %. Отже, визначена тенденція до зменшення опору зуба негативним зовнішнім і внутрішнім факторам, що не набула статистичної значущості.

Порівнюючи показники результатів протезування всіх підгруп пацієнтів за функціональним станом опорних зубів, які мають пломбування понад 1 рік та нещодавно виготовлені, виявили вірогідну різницю на рівні $p < 0,001$: при виготовленні на вітальних зубах одиничних коронок – 51,4 % і 8,6 % відповідно, мостоподібних протезів – 57,7 % і 14,3 %; на девітальних показники підгрупи одиничних коронок – 68,6 % і 14,2 %, мостоподібних протезів – 82,9 % і 25,7 % відповідно. Отже, встановлена залежність якості протезування від якості терапевтичного лікування.

Під час профілактичного огляду пацієнтів, для яких виготовили одиничні металокерамічні коронки на девітальні зуби, що мали клиноподібний дефект, виявили 2 (5,7 %) випадки розвитку ускладнень. У паралельній групі, пацієнти якої мали вітальну пульпу, тільки в 1 (2,8 %) пацієнта діагностували ускладнення після протезування, різниця невірогідна ($p > 0,05$).

Аналогічні дані виявили і в разі виготовлення мостоподібних протезів з опорами, що мають клиноподібний дефект: показники першої групи тільки на 2,9 % кращі за результати другої – 5,7 % і 8,6 % відповідно.

Щодо підвищеної стертості, то під час виготовлення одиничних коронок в обох групах ускладнення не зареєстровані. При заміщенні включених дефектів зубних рядів мостоподібними протезами виявили по одному випадку ускладнень і у групі з вітальними опорними зубами, і в групі з депульпованими – по 2,8 %.

Обговорення

Сучасні дослідження якості ортопедичного лікування показали: частота ускладнень, які виникають після протезування незнімними конструкціями, здебільшого залежить від функціонального стану опорних зубів. Дані, що отримали, збігаються з результатами досліджень провідних вітчизняних науковців [9].

Результати дослідження підтверджують: здорова пульпа зуба відіграє провідну роль у життєдіяльності зубів, тканин пародонта та зубощелепної системи, першою відповідає на будь-які пошкодження [10,11].

Відомо, що методика та якість препарування зубів впливають на стан пульпи, від якої залежать умови існування тканин зубів, пери- та пародонта, а отже й ефективність ортопедичного лікування [12].

Таблиця 1. Причини ускладнень, які виникають після протезування незнімними конструкціями, залежно від функціонального стану опорних зубів

Функціональний стан опорних зубів	Клінічні групи пацієнтів							
	I група (вітальні опорні зуби)				II група (девітальні опорні зуби)			
	Одиничні коронки (n = 35)		Мостоподібні протези (n = 35)		Одиничні коронки (n = 35)		Мостоподібні протези (n = 35)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пломби >1 року	18	51,4	20	57,7*	24	68,6	29	82,9*
Пломби <1 року	3	8,6	5	14,3	5	14,2	9	25,7
Клиноподібні дефекти	1	2,8	2	5,7	2	5,7	3	8,6
Підвищена стертість	–	–	1	2,8	–	–	1	2,8

*: вірогідність на рівні $p < 0,05$.

Під час дослідження, котре виконали, встановили високий відсоток ускладнень у разі протезування на опорних зубах, що містять давні пломби. Пояснюємо це тим, що неможливо перевірити наявність вторинного карієсу під пломбою, коли вона зовнішньо абсолютно відповідає вимогам, а ця вірогідність із часом тільки зростає [6,13].

Низький відсоток ускладнень при протезуванні на опорних зубах, котрі мають клиноподібні дефекти та підвищену стертість, імовірно, пов'язаний із тим, що вони виникли внаслідок технічної помилки виготовлення конструкції та спричинені змінами твердих тканин зубів.

Висновки

1. За результатами дослідження, частота ускладнень, що виникають після протезування незнімними конструкціями, залежить від стану пульпи зуба, оскільки життєздатна пульпа забезпечує обмін речовин, оновлення клітин зуба та реакцію на будь-які пошкодження. При протезуванні одиничними коронками вітальних зубів, дефекти твердих тканин яких заміщені пломбувальним матеріалом безпосередньо перед протезуванням, ускладнення виникли у 8,6 %; це невірогідно ($p > 0,05$) менше на 5,6 %. Але зафіксували вірогідну різницю ($p < 0,05$) при виготовленні мостоподібних протезів між першою (57,7 %) та другою (82,9 %) групами.

2. Доведена необхідність заміни пломб, що встановлені понад 1 рік тому, для зменшення ризику виникнення вторинного карієсу. Так, аналіз результатів ортопедичного лікування показав: виготовлення суцільнолитих металокерамічних коронок на вітальні зуби, які пломбовані понад 1 рік тому, призвело до ускладнень у 51,4 % пацієнтів, а при аналогічному протезуванні на депульпованих зубах – у 68,6 %, але ця різниця не є статистично вірогідною ($p > 0,05$).

3. Дефекти твердих тканин, як-от клиноподібний дефект і підвищена стертість, не збільшують частоту ускладнень унаслідок протезування незнімними конструкціями. У процесі профілактичного огляду пацієнтів, яким виготовили одиничні металокерамічні коронки на девітальні зуби, що мали клиноподібний дефект, ускладнення виявили у 5,7 % випадків, а в паралельній групі, пацієнти якої мали вітальну пульпу, – у 2,8 %, різниця невірогідна ($p > 0,05$). Щодо підвищеної стертості також не встановили вірогідну різницю у групах дослідження.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні орієнтованої схеми дій під час ліку-

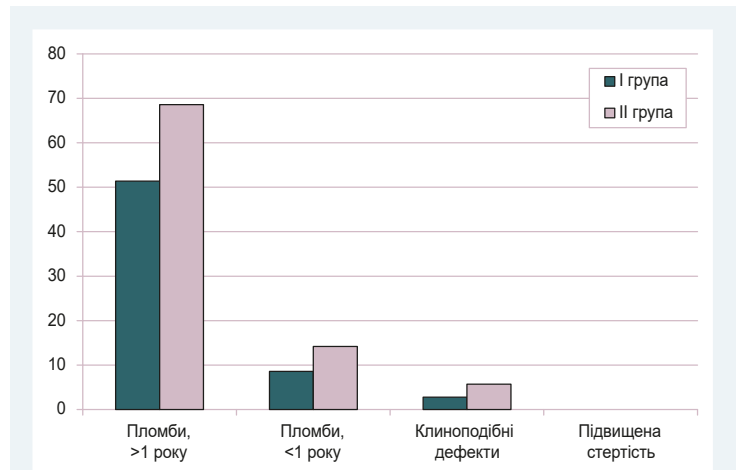


Рис. 1. Причини ускладнень, які виникають після протезування одиничними металокерамічними коронками, залежно від функціонального стану опорних зубів.

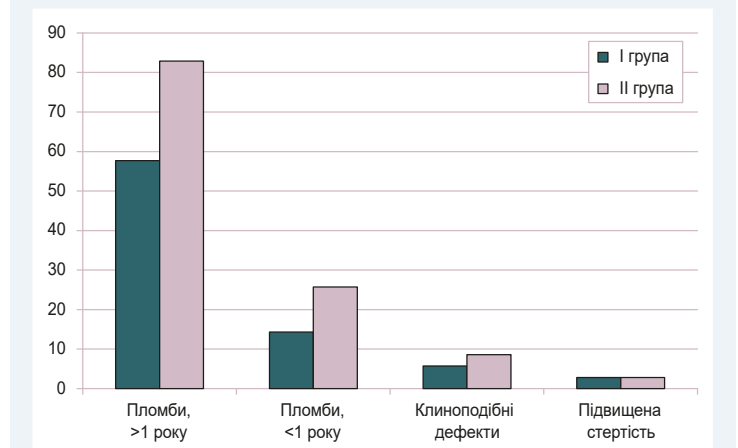


Рис. 2. Причини ускладнень, які виникають після протезування металокерамічними мостоподібними протезами, залежно від функціонального стану опорних зубів.

вання пацієнтів із дефектами твердих тканин зубів і часткових включених дефектів зубних рядів із різним функціональним станом опорних зубів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 14.01.2021

Після доопрацювання / Revised: 25.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 05.03.2021

Відомості про авторів:

Клим'юк Ю. В., канд. мед. наук, асистент каф. ортопедичної стоматології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6252-3531](https://orcid.org/0000-0002-6252-3531)

Ожоган З. Р., д-р мед. наук, професор, зав. каф. ортопедичної стоматології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-2759-2926](https://orcid.org/0000-0003-2759-2926)

Мізіук Л. В., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедичної стоматології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8291-6597](https://orcid.org/0000-0001-8291-6597)

Криванич В. М., канд. мед. наук, доцент каф. стоматології післядипломної освіти, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3522-9476](https://orcid.org/0000-0002-3522-9476)

Янішен І. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. ортопедичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4278-5355](https://orcid.org/0000-0003-4278-5355)

Information about authors:

Klymiuk Yu. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Orthopedic Dentistry, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Ozhogan Z. R., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Orthopedic Dentistry, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Miziuk L. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Orthopedic Dentistry, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Kryvanych V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Orthopedic Dentistry of Postgraduate Education, State University "Uzhhorod National University", Ukraine.

Yanishen I. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Orthopedic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Клим'юк Ю. В., канд. мед. наук, ассистент каф. ортопедической стоматологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Ожоган З. Р., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. ортопедической стоматологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Мизюк Л. В., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедической стоматологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Криванич В. М., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедической стоматологии последипломного образования, ГБУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина.

Янишен И. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. ортопедической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Бида В. И. Клинико-технологические особенности восстановления дефектов зубных рядов мостовидными зубными протезами (часть 2). *Стоматолог*. 2008. № 9. С. 50-57.
- [2] Quality of orthopedic rehabilitation of patients with post-traumatic defects of the upper jaw by characteristics of biocenosis of the oral cavity / I. V. Yanishen, O. L. Fedotova, N. L. Khlystun et al. *Wiadomosci lekarskie*. 2020. Vol. 73, Iss. 10. P. 2138-2143.
- [3] Современные методы препарирования под ортопедические конструкции : учеб.-метод. пособие / С. А. Наумович, И. С. Полоник Т. В. Крушинина и др. Минск : БГМУ, 2012. 31 с.
- [4] Influence of Restoration Height and Masticatory Load Orientation on Ceramic Endocrowns/ G. F. da Fonseca, A. M. Dal Piva, J. P. Tribst, A. L. Borges. *The journal of contemporary dental practice*. 2018. Vol. 19, Iss. 9. P. 1052-1057.
- [5] Systematic review for orthodontic and orthopedic treatments for anterior open bite in the mixed dentition / L. Pisani, L. Bonaccorso, R. Fastuca et al. *Progress in orthodontics*. 2016. Vol. 17, Iss. 1. P. 28. <https://doi.org/10.1186/s40510-016-0142-0>

- [6] Computerized occlusal analysis: Review / V. Sidana, N. Pasricha, M. Makkar, S. Banwai. *Indian Journal of Dental Sciences*. 2013. N 5. P. 141-144.
- [7] Fracture load and chewing simulation of zirconia and stainless-steel crowns for primary molars / S. Kist, B. Stawarczyk, M. Kollmuss et al. *European journal of oral sciences*, 2019. Vol. 127, Iss. 4. P. 369-375. <https://doi.org/10.1111/eos.12645>
- [8] Котелевський Р. А. Аналіз якості препарування зубів під металокерамічні коронки. *Вісник стоматології*. 2014. № 4. С. 55-58.
- [9] Мунтян Л. М., Юр А. М. Частота виникнення, поширеність вторинних часткових адентій та зубощелепних деформацій у осіб молодого віку. *Український стоматологічний альманах*. 2010. № 5. С. 25-26.
- [10] Features of fracture of prosthetic tooth-endocrown constructions by means of acoustic emission analysis / V. Skalskyi, V. Makeev, O. Stankevych, R. Pavlychko. *Dental materials*. 2018. Vol. 34, Iss. 3. P. e46-e55. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.01.023>
- [11] Прогноз та рекомендації при застосуванні незнімних зубних протезів з урахуванням стану міжзубних проміжків / О. Б. Заліський, А. Ю. Кордіяк, П. П. Щербя, С. П. Кузів. *Клінічна стоматологія*. 2014. № 3. С. 88.
- [12] Experimental justification of a method-of-choice to protect the receptor apparatus of the teeth, supporting a non-removable design denture / I. V. Yanishen, I. L. Diudina, N. V. Krychka et al. *Georgian medical news*. 2019. No. 286. P. 36-39.
- [13] Обработка данных и анализ результатов клинических испытаний лекарственных средств / А. В. Жмуро, В. И. Мальцев, Т. К. Ефимцева, И. Л. Ковтун. *Український медичний часопис*. 2001. № 6. С. 34-48.

References

- [1] Bida, V. I. (2008). Kliniko-tehnologicheskie osobennosti vosstanovleniya defektov zubnykh ryadov mostovidnymi zubnymi protezami (chast' 2) [Clinical and technological features of the restoration of defects of the dentition bridges dentures (part 2)]. *Stomatolog*, (9), 50-57. [in Russian].
- [2] Yanishen, I. V., Fedotova, O. L., Khlystun, N. L., Berezna, O. O., & Kuznetsov, R. V. (2020). Quality of orthopedic rehabilitation of patients with post-traumatic defects of the upper jaw by characteristics of biocenosis of the oral cavity. *Wiadomosci lekarskie*, 73(10), 2138-2143.
- [3] Naumovich, S. A., Polonik, I. S., Krushinina, T. V., Kruglik, Y. N., & Dmitrochenko, A. P. (2012). *Sovremennyye metody preparirovaniya pod ortopedicheskie konstrukcii* [Modern methods of preparation for orthopedic structures]. Minsk: BGMU. [in Russian].
- [4] da Fonseca, G. F., Dal Piva, A. M., Tribst, J. P., & Borges, A. L. (2018). Influence of Restoration Height and Masticatory Load Orientation on Ceramic Endocrowns. *The journal of contemporary dental practice*, 19(9), 1052-1057.
- [5] Pisani, L., Bonaccorso, L., Fastuca, R., Spena, R., Lombardo, L., & Caprioglio, A. (2016). Systematic review for orthodontic and orthopedic treatments for anterior open bite in the mixed dentition. *Progress in orthodontics*, 17(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s40510-016-0142-0>
- [6] Sidana, V., Pasricha, N., Makkar, M., Banwai, S. (2013) Computerized Occlusal Analysis: Review. *Indian Journal of Dental Sciences*, (5), 141-144.
- [7] Kist, S., Stawarczyk, B., Kollmuss, M., Hickel, R., & Huth, K. C. (2019). Fracture load and chewing simulation of zirconia and stainless-steel crowns for primary molars. *European journal of oral sciences*, 127(4), 369-375. <https://doi.org/10.1111/eos.12645>
- [8] Kotelevskiy R. A. (2014). Analiz yakosti preparuvannya zubiv pid metalokeramichni koronky [Analysis of the quality preparation of teeth for metal-ceramic crowns]. *Visnyk stomatologii*, (4), 55-58. [in Ukrainian].
- [9] Muntian, L. M., & Yur, A. M. (2010). Chastota vynyknennia, poshyrenist' vtorynnykh chastkovykh adentii ta zuboschlepepnykh deformatsii u osib molodoho viku. *Ukrainskyi stomatolohichnyi almanakh* [Frequency, prevalence of secondary partial adentia and dental deformities in young people]. *Ukrainskyi stomatolohichnyi almanakh*, (5), 25-26. [in Ukrainian].
- [10] Skalskyi, V., Makeev, V., Stankevych, O., & Pavlychko, R. (2018). Features of fracture of prosthetic tooth-endocrown constructions by means of acoustic emission analysis. *Dental materials*, 34(3), e46-e55. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.01.023>
- [11] Zalisnyi, O. B., Kordiak, A. Yu., Shcherba, P. P., & Kuziv, S. P. (2014). Prohnoz ta rekomendatsii pry zastosuванні neznimnykh zubnykh proteziv z urakhuvanniam stanu mizhzubnykh promizhkiv [Prognosis and recommendations for the use of fixed dentures, taking into account the condition of the interdental spaces]. *Klinichna stomatolohiia*, (3), 88. [in Ukrainian].
- [12] Yanishen, I. V., Diudina, I. L., Krychka, N. V., Diieva, T. V., & Kuznetsov, R. V. (2019). Experimental justification of a method-of-choice to protect the receptor apparatus of the teeth, supporting a non-removable design denture. *Georgian medical news*, (286), 36-39.
- [13] Zhmuro A. V., Mal'tsev, V. I., Efimtseva, T. K., & Kovtun I. L. (2001). Obrabotka dannykh i analiz rezul'tatov klinicheskikh ispytaniy lekarstvennykh sredstv [Data processing and analysis of the results of clinical trials of drugs]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, (6), 34-48. [in Russian].

Роль спекл-трекінг ехокардіографії в пацієнтів з інфарктом міокарда

А. В. Кобець  *^{A-E}, М. П. Копиця  ^{A,E,F}, Н. В. Титаренко  ^{B,E}, Ю. В. Родіонова  ^{B,E}

ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків

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

У всьому світі у структурі захворюваності та смертності від неінфекційних захворювань найпоширенішими є серцево-судинні захворювання, серед них провідна роль належить інфаркту міокарда. Показники вдосконаленої сучасної перспективної ультразвукової методики – спекл-трекінг ехокардіографії – мають важливе значення для детекції та оцінювання серцево-судинних захворювань. Зміна значень маркерів може виявити ішемію, гіпертрофію, дистрофію та інфільтрацію міокарда, важкі системні захворювання, а також дає змогу оцінити кардіотоксичність дії препаратів тощо.

Ця сучасна технологія візуалізації суттєво доповнює та покращує діагностичні можливості трансторакальної ехокардіографії, дає змогу визначити ефективність роботи міокарда в усіх трьох площинах (повздожній, циркулярній і радіальній), в яких здійснюється рух міокарда, і загалом, і в кожному його сегменті протягом серцевого циклу, визначити обсяг ураження міокарда, диференціювати субендокардіальний і трансмуральний інфаркти міокарда, виявити його життєздатні та фіброзовані ділянки. За результатами досліджень, це підтверджується даними магнітної резонансної томографії. Крім того, цей метод допомагає виявити й оцінити механічну диссинхронію, а також прогнозувати ризик розвитку патологічного ремоделювання лівого шлуночка та загрозливих для життя несприятливих серцево-судинних подій (аритмій, появи чи декомпенсації серцевої недостатності, повторного інфаркту міокарда, розвитку інсульту, смерті тощо). Це дуже актуально та важливо в діагностиці гострого інфаркту міокарда для визначення хворих високого ризику.

Найбільш вивченими показниками цієї методики є повздожній, циркулярний і радіальний стрейн лівого шлуночка, механічна дисперсія та постсистолічне вкорочення. Показники цієї методики істотно доповнюють інші маркери трансторакальної ехокардіографії для стратифікації ризику розвитку серцево-судинних ускладнень, наприклад фракції викиду лівого шлуночка. Цінність маркерів спекл-трекінг ехокардіографії показана й ізольовано, й у разі комбінованого використання.

Ключові слова:

інфаркт міокарда, спекл-трекінг ехокардіографія, повздожній стрейн, циркулярний стрейн, радіальний стрейн, диссинхронія, стратифікація ризику.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 1(51).
С. 117-124

*E-mail:

co.alla@ukr.net

Role of speckle tracking echocardiography in patients with myocardial infarction

A. V. Kobets, M. P. Kopytsia, N. V. Tytarenko, Yu. V. Rodionova

All over the world cardiovascular diseases are one of the main reason of morbidity and mortality in the structure of non-communicable diseases, and myocardial infarction has a leading role. Markers of modern advanced ultrasound techniques, speckle tracking echocardiography, play significant role in the detection and assessment of cardiovascular disease. Deviation of them can detect myocardial ischemia, hypertrophy, dystrophy and infiltration, severe systemic diseases, cardiotoxicity of the drugs, etc.

This technology significantly improves diagnostic capabilities of transthoracic echocardiography, it allows to assess myocardial function in all three planes (longitudinal, circumferential and radial), in which myocardium moves during cardiac cycle. Speckle tracking echocardiography can determine the volume of myocardial damage, differentiate subendocardial and transmural myocardial infarction, identify viable and fibrous areas of the myocardium, that is confirmed by the results of magnetic resonance imaging. Besides, this method helps to detect and assess mechanical dyssynchrony and also predict the risk of pathological left ventricular remodeling and life-threatening adverse cardiovascular events (arrhythmias, increasing of heart failure, recurrent myocardial infarction, stroke, death, etc.), that is important for patients with acute myocardial infarction to identify high-risk patients.

The most studied markers of this technique are longitudinal, circumferential and radial strain, mechanical dispersion and postsystolic shortening. Markers of this ultrasound technique significantly complete other markers of transthoracic echocardiography, such as left ventricular ejection fraction, to assess risk stratification of cardiovascular complications. The value of speckle-tracking echocardiography markers has been demonstrated alone or in combination with other markers.

Key words:

myocardial infarction, speckle tracking echocardiography, longitudinal strain, circumferential strain, radial strain, dyssynchrony, risk stratification.

Pathologia

2021; 18 (1), 117-124

Роль спекл-трекінг ехокардіографії у пацієнтів з інфарктом міокарда

А. В. Кобець, Н. П. Копиця, Н. В. Титаренко, Ю. В. Родіонова

Во всем мире в структуре заболеваемости и смертности от неинфекционных заболеваний наиболее распространены сердечно-сосудистые заболевания, среди которых ведущую роль играет инфаркт миокарда. Показатели усовершенствованной современной перспективной ультразвуковой методики – спекл-трекінг ехокардіографії – важны в детекции и оценке сердечно-сосудистых заболеваний. Изменение значений этих маркеров может показать ишемию, гипертрофию, дистрофию и инфильтрацию миокарда, тяжелые системные заболевания, а также оценить кардиотоксическое влияние препаратов и др.

Эта современная технология визуализации существенно дополняет и улучшает диагностические возможности трансторакальной эхокардіографії, позволяет оценить эффективность работы миокарда во всех трех плоскостях (продольной,

Ключевые слова: инфаркт миокарда, спекл-трекинг эхокардиография, продольный стрейн, циркулярный стрейн, радиальный стрейн, диссинхрония, стратификация риска.

Патология. 2021.
Т. 18, № 1(51).
С. 117-124

циркулярной и радиальной), в которых осуществляется движение миокарда как в целом, так и в каждом его сегменте в течение сердечного цикла, определить объем поражения миокарда, дифференцировать субэндокардиальный и трансмуральный инфаркты миокарда, дифференцировать жизнеспособные и фиброзированные участки миокарда. По результатам исследований, это подтверждается данными магнитной резонансной томографии. Кроме того, этот метод помогает выявить и оценить механическую диссинхронию, а также прогнозировать риск развития патологического ремоделирования левого желудочка и угрожающих жизни неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (аритмий, появления или нарастания сердечной недостаточности, повторного инфаркта миокарда, развития инсульта, смерти и др.), что актуально и важно в диагностике острого инфаркта миокарда для выявления больных высокого риска.

Наиболее изученные показатели этой методики – продольный, циркулярный и радиальный стрейн левого желудочка, механическая дисперсия и постсистолическое укорочение. Показатели этой методики значительно дополняют другие маркеры трансторакальной эхокардиографии для стратификации риска развития сердечно-сосудистых осложнений, например фракции выброса левого желудочка. Ценность маркеров спекл-трекинг эхокардиографии продемонстрирована и изолированно, и при их комбинированном использовании.

За даними Європейського товариства кардіологів і ВООЗ, у структурі захворюваності та смертності від неінфекційних захворювань в Європі та світі [21,29,31] чільне місце посідають серцево-судинні захворювання. З-поміж них найпоширенішою патологією є ішемічна хвороба серця (ІХС). Провідну роль серед причин летальних кардіоваскулярних подій відіграє інфаркт міокарда (ІМ). За відомостями МОЗ України, щороку в Україні реєструють понад 50 тисяч випадків гострого ІМ. Згідно з даними щодо рівня смертності в Україні, госпітальна летальність залишається високою, у працездатному віці від ІМ та його ускладнень помирають 19,5 % пацієнтів, а протягом першого року після ІМ помирає кожен п'ятий хворий [1,3].

Одним із перспективних напрямів для визначення кількісної функції міокарда в пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями є вдосконалена, сучасніша та надійніша, ніж стандартна ехокардіографія, методика спекл-трекинг ехокардіографії (Speckle-tracking echocardiography) (СТЕ). Цей діагностичний метод заснований на аналізі так званих спеклів – унікального поєднання чорних і білих точок з індивідуальними властивостями, що зберігаються під час усієї фази серцевого циклу.

СТЕ дає змогу оцінити швидкість скорочень сегментів міокарда і параметри деформації (стрейну) міокарда у трьох площинах (повздожній, циркулярній і радіальній), в яких під час скорочення рухається лівий шлуночок (ЛШ). За допомогою цієї методики можна детально вивчити ефективність роботи міокарда загалом і регіонарну систолічну, діастолічну функції не тільки повздожніх, але й радіальних і циркулярних волокон (рис. 1).

Завдяки даним цієї технології візуалізації можна визначити ступінь ураження тканин міокарда, розмежувати субендокардіальний і трансмуральний ІМ, диференціювати пасивні (рухи рубцевої тканини) й активні (скорочення міокарда) рухи стінок ЛШ, виявити механічну диссинхронію, прогнозувати несприятливі серцево-судинні події (прогресування серцевої недостатності (СН), ремоделювання ЛШ, загрози для життя аритмії, ІМ, інсульт, смерть) [14,15,28,32]. Отже, дані цього методу діагностики можуть бути корисними й інформативними для пацієнтів з ІХС, особливо тих, хто мав ІМ.

У дослідженні J. Brown et al. [8] вивчали зміни величини глобального повздожнього стрейну (ГПС) – показника, що характеризує ступінь укорочення сегмента

міокарда в систолу щодо його кінцево-діастолічного розміру протягом серцевого циклу. Автори вважають, що ГПС можна вважати кількісним індексом оцінки глобальної функції ЛШ, індикатором ішемії, гіпертрофії, дистрофії та інфільтрації міокарда, реакції відторгнення міокарда, наявності важких системних захворювань, а також впливу кардіотоксичних препаратів.

Chan J. et al. [9] встановили, що при субендокардіальному ІМ відбувається зниження показників повздожнього стрейну (повздожньої деформації) та швидкості повздожньої деформації (стрейн рейта) при відносному збереженні показників радіального і циркулярного стрейну. При трансмуральному ІМ, крім зниження ГПС, виявили зниження значень радіального і циркулярного стрейну, і показників систолічного скручування, і діастолічного розкручування ЛШ. На думку дослідників, інтенсивність зниження показників стрейну може допомогти під час диференціальної діагностики трансмурального, субендокардіального ІМ й оцінювання поширеності ураження при ІМ, що підтверджено результатами магнітно-резонансної томографії (МРТ).

Sjoli et al. показали: під час оцінювання пікового систолічного, кінцево-діастолічного та глобального повздожнього стрейну можна диференціювати життездатні й уражені ділянки міокарда, а також розрізнити субендокардіальний й трансмуральний інфаркти. При субендокардіальному некрозі більше змінюється значення повздожнього стрейну, а при трансмуральному некрозі – циркулярного стрейну. Визначення циркулярного стрейну в гострому періоді ІМ може допомогти виявити ділянки з трансмуральним некрозом краще, ніж за допомогою повздожнього стрейну, що може бути важливим під час оцінювання успішності ревааскуляризації після тромболітичної терапії [27].

Joseph G. et al. [19] визначили, що ГПС вірогідно корелює з розміром ІМ на ранніх стадіях захворювання в пацієнтів зі збереженою фракцією викиду (ФВ) ЛШ, що підтверджено результатами МРТ. Під час лінійного регресійного аналізу не встановили взаємозв'язок між розміром ІМ і ФВ ЛШ. На думку авторів, це підтверджує низьку чутливість ФВ ЛШ як маркера стратифікації ризику загрози для життя серцево-судинних подій.

Ismail A. M. et al. визначали показники СТЕ протягом 24 годин після реперфузійної терапії в пацієнтів з ІМ та елевацією сегмента ST. Дослідники показали, що ГПС – цінний клінічний інструмент визначення розміру ураження міокарда [18].

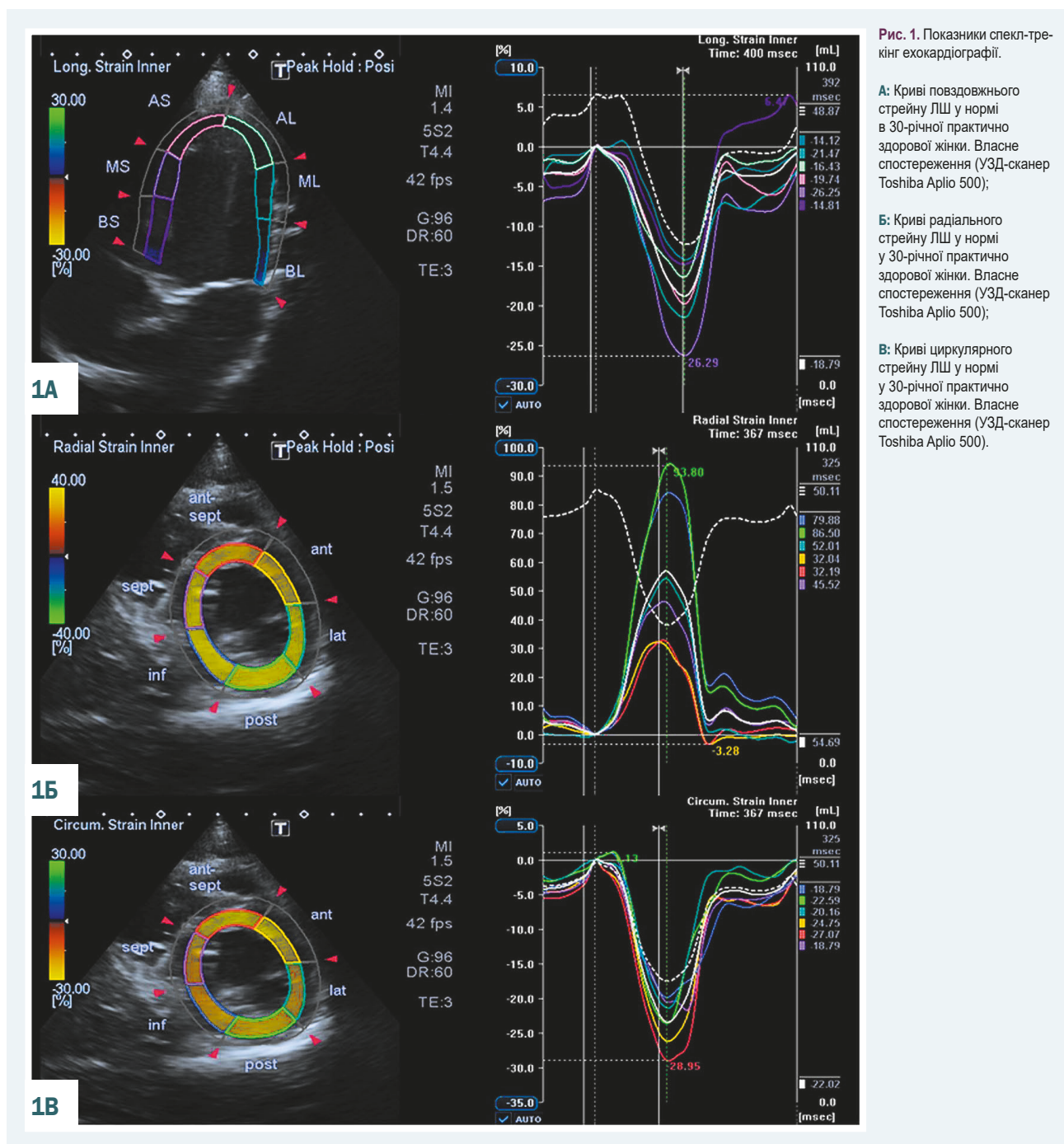


Рис. 1. Показники спекл-трекінг ехокардіографії.

A: Криві повздожнього стрейну ЛШ у нормі в 30-річній практично здорової жінки. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500);

Б: Криві радіального стрейну ЛШ у нормі у 30-річній практично здорової жінки. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500);

В: Криві циркулярного стрейну ЛШ у нормі у 30-річній практично здорової жінки. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500).

Прогностичне значення повздожньої деформації (стрейну). Показники STE широко вивчають як прогностичні маркери загрозливих для життя серцево-судинних подій і для оптимізації виявлення пацієнтів високого ризику.

У дослідженні VALIANT [16] початкові показники повздожнього стрейну ЛШ, визначені в середньому на $5,0 \pm 2,5$ дня ІМ, мали прогностичне значення та асоціювалися з розвитком смерті, госпіталізації з приводу СН протягом 20 місяців. Зниження циркулярного стрейну в той самий період – незалежний предиктор розвитку дилатації ЛШ після ІМ.

У дослідженні показано: зниження величини повздожнього стрейну та швидкості стрейну ЛШ є

незалежним предиктором постінфарктної дилатації ЛШ, асоціюється з розвитком смерті та повторної госпіталізації внаслідок СН, перевершуючи за значенням ФВ ЛШ. У перші години після виникнення гострого ІМ показники циркулярного стрейну $>-11\%$ можна використовувати для виявлення пацієнтів із високим ризиком розвитку гострої СН під час стаціонарного лікування, несприятливого ремоделювання ЛШ згодом [16].

D'Andrea A. et al. також визначили, що зниження показника повздожнього стрейну в пацієнтів з ІМ без елевації сегмента ST на 3–14 день після ІМ свідчить про розвиток постінфарктної дилатації ЛШ через 6 місяців [10].

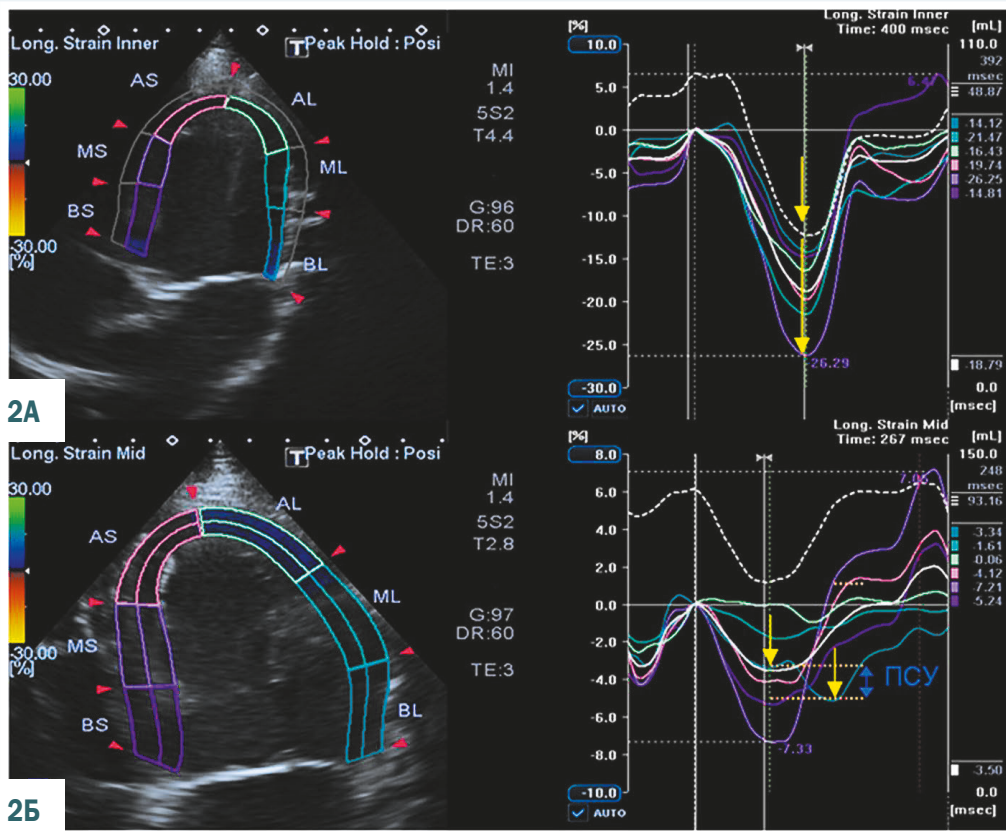


Рис. 2. Постсистоличне укорочення.

А: Криві позадвожного стрейну ЛШ у нормі в 30-річної практично здорової жінки. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba-Aplio 500);

Б: Криві позадвожного стрейну в пацієнта з гострим інфарктом міокарда і постсистоличним укороченням, 3 день. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500).

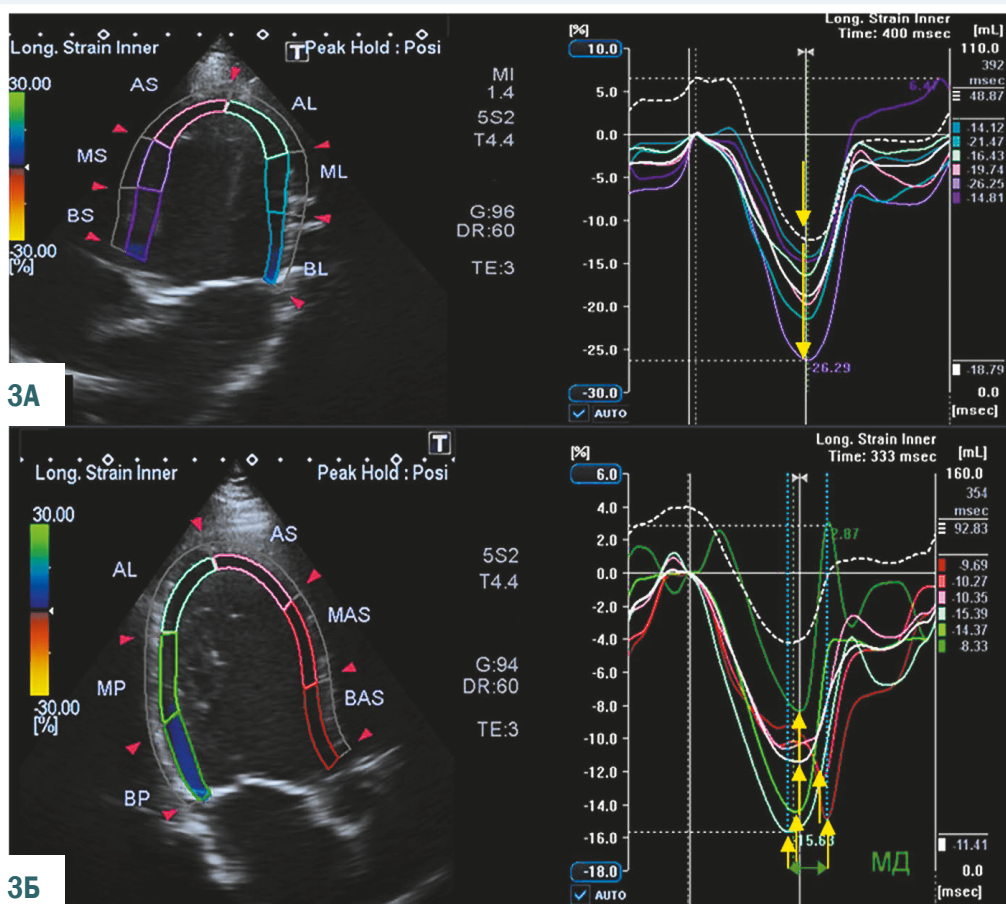


Рис. 3. Механічна дисперсія.

А: Криві позадвожного стрейну ЛШ у нормі у 30-річної практично здорової жінки. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500);

Б: Криві позадвожного стрейну в пацієнта з гострим інфарктом міокарда та наявністю механічної дисперсії, 3 день. Власне спостереження (УЗД-сканер Toshiba Aplio 500).

Bastawy I. et al. виявили: зниження ГПС $> -12,5$ % і торсії (скручування) ЛШ $< 9,5^\circ$ є прогностичними факторами несприятливого ремоделювання шлуночка в пацієнтів після переднього ІМ з елевацією сегмента ST поряд з індексом оцінки руху стінок ЛШ (WMSI) $> 1,8$, ФВ ЛШ < 40 %, КФК-МВ (СК-МВ) > 500 У/л, класом тромбу > 4 і загальним часом ішемії [5].

Huttin O. et al. виконали метааналіз досліджень і показали, що зниження ГПС у пацієнтів з ІМ корелює з несприятливим ремоделюванням ЛШ [17].

Park Y. H. et al. тестували пацієнтів із переднім ІМ, яким виконали черезшкірне коронарне втручання (ЧКВ) і/або тромболізис, оцінювали повздожній стрейн ЛШ. У пацієнтів, в яких виявляли ремоделювання ЛШ (дилатація ЛШ зі збільшенням КДО > 15 %) під час динамічного спостереження протягом 18 місяців, визначали спочатку нижчі значення ГПС. Параметри деформації ЛШ – незалежні предиктори смерті або прогресування СН [24].

Vartdal T. et al. [30] показали, що деформація міокарда може бути важливим предиктором залишкових розмірів ІМ, а отже показником стратифікації ризику ускладнень у гострій стадії переднього ІМ при її визначенні через 1,5 години після ревааскуляризації. Мультифакторний аналіз показав, що ГПС ЛШ незалежно пов'язаний із розміром інфаркту, що підтверджено за допомогою МРТ. Крім того, виявили зворотний взаємозв'язок між сегментарним стрейном та поширеністю рубцевої тканини в окремих сегментах міокарда.

Пархоменко О. М. і співавт. [2] встановили, що в пацієнтів із гострим ІМ усі показники деформації, особливо величина повздожнього стрейну, вірогідно корелюють зі значенням ФВ ЛШ. Показники циркулярного стрейну – маркери ранньої дилатації ЛШ, а значення повздожнього стрейну більш чутливі та специфічні для виявлення пацієнтів із ризиком розвитку гострої серцевої недостатності (ГСН) упродовж стаціонарного етапу лікування.

У роботі A. Shetye et al. [26] наведені дані, що ГПС може бути предиктором несприятливих кардіальних подій (смертність від усіх причин, повторний ІМ, госпіталізація внаслідок ГСН, необхідність у ревааскуляризації, розвиток інсульту) або ремоделювання ЛШ у пацієнтів з ІМ та елевацією сегмента ST.

Biering-Sørensen T. et al. показали, що знижене значення повздожнього сегментарного стрейну в передньо-септальних і задній стінках ЛШ (але не глобальний повздожній стрейн) у пацієнтів з ІМ та елевацією сегмента ST – незалежний предиктор прогнозу розвитку летального результату, повторного ІМ або СН [6].

Olsen F. J. et al. виявили: істотне зниження систолічної функції серця та ГПС у пацієнтів після ІМ з елевацією сегмента ST може прогнозувати розвиток фібриляції передсердь та ішемічного інсульту в пацієнтів із гострим ІМ. Тільки ГПС був вірогідним прогностичним фактором після мультиваріабельного оцінювання порівняно з основними предикторами (вік, стать, наявність цукрового діабету, артеріальної гіпертензії, діастолічної дисфункції, значення ФВ ЛШ) із використанням Cox-регресії [23].

Dimitriu-Leen A. C. et al. [11] показали, що помірна та важка ішемія міокарда в пацієнтів з ІМ пов'язана зі зниженням ГПС незалежно від розміру інфаркту міокарда, віку, наявності цукрового діабету й артеріальної гіпертензії, що підтверджено даними спектральної МРТ.

Прогностичне значення постсistolічного укорочення. Ще один важливий показник СТЕ – постсistolічне укорочення (ПСУ) (рис. 2). Це показник сегментарного укорочення сегмента міокарда в діастолу після закриття аортального клапана, який може допомогти оцінити активне скорочення і життєздатність міокарда, є прогностичним фактором несприятливих серцево-судинних подій.

Eek C. et al. показали, що ПСУ може бути маркером прогнозування розвитку СН і відновлення систолічної функції після процедури ЧКВ у пацієнтів з ІМ без елевації сегмента ST первинно зі зниженою регіонарною міокардіальною систолічною функцією [12].

Brainin P. et al. встановили, що ПСУ – незалежний прогностичний фактор важких серцево-судинних ускладнень (прогресування СН, серцево-судинна смерть), якщо ПСУ виявлена в понад 2 сегментах міокарда ЛШ, а постсistolічний індекс (ПСІ) становить > 20 % у пацієнтів із гострим коронарним синдромом після ЧКВ [7].

Прогностичне значення механічної дисперсії. Порушення електричної стабільності та механічна диссинхронія, що можуть виникати після ІМ, можуть спричинити порушення функції міокарда, викликавши зміну електричних властивостей у різних ділянках міокарда і дискордантність скорочень міокарда. Механічна диссинхронія може бути підтверджена завдяки СТЕ-показникам, що допомагають точно визначити тривалість скорочення сегментів міокарда, їхню гетерогенність і локальну міокардіальну функцію. Одним із показників СТЕ, який підтверджує наявність диссинхронії, є механічна дисперсія – девіація часу до пікового негативного стрейну в усіх міокардіальних сегментах (рис. 3).

Mollema S. A. et al. [22] з'ясували: наявність диссинхронії ЛШ має тісний взаємозв'язок зі ступенем дилатації ЛШ через пів року динамічного спостереження після ІМ. Диссинхронія сегментів лівого шлуночка понад 130 мс, що виявлена за допомогою СТЕ, – ранній предиктор ремоделювання ЛШ. Мультифакторний аналіз із використанням показників стандартної ехокардіографії, СТЕ, доплерографії показав: механічна диссинхронія – незалежний предиктор серцево-судинних подій у пацієнтів після ІМ.

Ersboll M. et al. [13] вивчали ГПС і механічну дисперсію для вимірювання розміру ІМ і як прогностичні фактори раптової серцевої смерті, загрозливих для життя аритмій. ГПС, механічна дисперсія – незалежні предиктори розвитку раптової серцевої смерті/шлуночкових аритмій у пацієнтів з ІМ, доповнюють фактори ризику розвитку несприятливих серцево-судинних ускладнень.

Naugaa K. et al. [15] оцінювали показники СТЕ (механічну дисперсію, ГПС) як чутливіші, ніж ФВ ЛШ прогностичні фактори смертності та шлуночкових аритмій для поліпшення стратифікації ризику раптової серцевої смерті. Автори показали, що за допомогою

механічної дисперсії, котра показує електромеханічні зміни в ураженому міокарді, і ГПС можна прогнозувати шлуночкові аритмії. Дослідники [14,15] показали, що значення ФВ ЛШ і ГПС знижені, механічна дисперсія перевищувала 47 мс, постсистолічний індекс стрейну підвищений у пацієнтів з аритмічними ускладненнями надалі. Збільшення механічної дисперсії понад 75 мс – предиктор розвитку загрозливих для життя аритмій. ГПС виявився чутливішим прогностичним фактором аритмій, ніж ФВ ЛШ незалежно від рівня останньої. Встановили, що механічна дисперсія – сильний і незалежний прогностичний фактор загрозливих для життя аритмій та смерті в пацієнтів зі зниженою ФВ ЛШ, як і в пацієнтів зі збереженою ФВ ЛШ. Комбінація ГПС і механічної дисперсії мала прогностичне значення виявлення загрозливих для життя аритмій і смерті. З-поміж усіх показників тільки механічна дисперсія вірогідно прогнозувала аритмічні ускладнення ($p < 0,001$), а інші чинники – тільки в разі мультифакторного застосування разом із механічною дисперсією ($p < 0,001$).

Perry R. et al. також показали кореляцію між ФВ ЛШ, ГПС і механічною дисперсією, виявивши взаємозв'язок між розвитком аритмій, інших несприятливих серцево-судинних подій (госпіталізація внаслідок декомпенсації СН, смерть) і відхиленням цих ехокардіографічних показників у пацієнтів, які мали ІМ [25].

Kawakami et al. підтвердили, що механічна дисперсія – потужний маркер прогнозування шлуночкових аритмій, має важливе прогностичне значення порівняно з ФВ ЛШ і ГПС у пацієнтів після ІМ [20].

Abou R. et al. з'ясували, що в пацієнтів з ІМ та елевацією сегмента ST, яким виконали ЧКВ, подовження часу механічної дисперсії понад 54 мс асоціюється з гіршим прогнозом і підвищенням рівня смертності [4].

Висновки

Показники спекл-трекінг ехокардіографії можуть бути цінними й актуальними в пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями, особливо у хворих після інфаркту міокарда, для оцінювання функції міокарда, диференціювання субендокардіального і трансмурального інфарктів міокарда, виявлення фіброзних ділянок міокарда, а також як прогностичні маркери загрозливих для життя аритмій, серцевої недостатності та смерті.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 01.02.2021

Після доопрацювання / Revised: 23.02.2021

Прийнято до друку / Accepted: 24.02.2021

Відомості про авторів:

Кобець А. В., молодший науковий співробітник відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.
ORCID ID: [0000-0001-6090-689X](https://orcid.org/0000-0001-6090-689X)

Копица М. П., д-р мед. наук, професор, зав. відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0003-4779-7347](https://orcid.org/0000-0003-4779-7347)

Титаренко Н. В., канд. мед. наук, науковий співробітник відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-9339-9262](https://orcid.org/0000-0002-9339-9262)

Родіонова Ю. В., канд. мед. наук, науковий співробітник відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-8438-9401](https://orcid.org/0000-0001-8438-9401)

Information about authors:

Kobets A. V., Junior Researcher of the Department of Prevention and Treatment of Emergency Conditions, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Kopytsia M. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Prevention and Treatment of Emergency Conditions, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Tytarenko N. V., MD, PhD, Researcher of the Department of Prevention and Treatment of Emergency Conditions, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Rodionova Yu. V., MD, PhD, Researcher of the Department of Prevention and Treatment of Emergency Conditions, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Сведения об авторах:

Кобець А. В., младший научный сотрудник отдела профилактики и лечения неотложных состояний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Копица Н. П., д-р мед. наук, профессор, зав. отделом профилактики и лечения неотложных состояний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Титаренко Н. В., канд. мед. наук, научный сотрудник отдела профилактики и лечения неотложных состояний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Родионова Ю. В., канд. мед. наук, научный сотрудник отдела профилактики и лечения неотложных состояний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Список літератури

- Соколов М. Ю. Реестр перкутаных коронарных вмешательств. Изменения за 2015-2018 гг. – случайный всплеск активности или системные преобразования? *Серце і судини*. 2019. № 3. С. 12-33. <http://doi.org/10.30978/HV2019-3-12>
- Новый маркер раннего ремоделирования сердца у больных с острым инфарктом миокарда с элевацией сегмента ST / А. Н. Пархоменко, Я. М. Лутай, А. А. Стелура, О. И. Иркин. *Медицина неотложных состояний*. 2014. № 3. С. 11-18.
- Проблеми здоров'я і тривалості життя в сучасних умовах: посібник. За ред. В. М. Коваленка, В. М. Корнацького. ННЦ «Інститут кардіології імені М. Д. Стражеска». Київ: Гордон, 2017. С. 300.
- Correlates and Long-Term Implications of Left Ventricular Mechanical Dispersion by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction / R. Abou, L. Goedemans, P. van der Bijl et al. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2020. Vol. 33, Iss. 8. P. 964-972. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2020.03.010>
- Speckle tracking imaging as a predictor of left ventricular remodeling 6 months after first anterior ST elevation myocardial infarction in patients managed by primary percutaneous coronary intervention / I. Bastawy, M. Ismail, H. Hanna, W. El Kilany. *The Egyptian Heart Journal*. 2018. Vol. 70, Iss. 4. P. 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2018.06.006>
- Regional Longitudinal Myocardial Deformation Provides Incremental Prognostic Information in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction / T. Biering-Sørensen, J. S. Jensen, S. H. Pedersen et al. *PLoS one*. 2016. Vol. 11, Iss. 6. e0158280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158280>

- [7] Post-systolic shortening predicts heart failure following acute coronary syndrome / P. Brainin, K. G. Skaarup, A. Z. Iversen et al. *International journal of cardiology*. 2019. Vol. 276. P. 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.11.106>
- [8] Brown J., Jenkins C., Marwick T. H. Use of myocardial strain to assess global left ventricular function: a comparison with cardiac magnetic resonance and 3-dimensional echocardiography. *American heart journal*. 2009. Vol. 157, Iss. 1. P. 102.e1-102.e1025. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2008.08.032>
- [9] Differentiation of Subendocardial and Transmural Infarction Using Two-Dimensional Strain Rate Imaging to Assess Short-Axis and Long-Axis Myocardial Function / J. Chan, L. Hanekom, C. Wong et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006. Vol. 48, Iss. 10. P. 2026-2033. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.07.050>
- [10] Global longitudinal speckle-tracking strain is predictive of left ventricular remodeling after coronary angioplasty in patients with recent non-ST elevation myocardial infarction / A. D'Andrea, R. Cocchia, P. Caso et al. *International Journal of Cardiology*. 2011. Vol. 153, Iss. 2. P. 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.08.025>
- [11] Influence of Myocardial Ischemia Extent on Left Ventricular Global Longitudinal Strain in Patients After ST-Segment Elevation Myocardial Infarction / A. Dimitriu-Leen, A. Scholte, S. Katsanos et al. *The American Journal of Cardiology*. 2017. Vol. 119, Iss. 1. P. 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.08.091>
- [12] Postsystolic shortening is a strong predictor of recovery of systolic function in patients with non-ST-elevation myocardial infarction / C. Eek, B. Grenne, H. Brunvand et al. *European Journal of Echocardiography*. 2011. Vol. 12, Iss. 7. P. 483-489. <https://doi.org/10.1093/ejehcard/jer055>
- [13] Prediction of all-cause mortality and heart failure admissions from global left ventricular longitudinal strain in patients with acute myocardial infarction and preserved left ventricular ejection fraction / M. Ersbøll, N. Valeur, U. Mogensen et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013. Vol. 61, Iss. 23. P. 2365-2373. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.061>
- [14] Strain Echocardiography Improves Risk Prediction of Ventricular Arrhythmias After Myocardial Infarction / K. H. Haugaa, B. L. Grenne, C. H. Eek et al. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 2013. Vol. 6, Iss. 8. P. 841-850. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2013.03.005>
- [15] Mechanical Dispersion Assessed by Myocardial Strain in Patients After Myocardial Infarction for Risk Prediction of Ventricular Arrhythmia / K. H. Haugaa, M. K. Smedsrud, T. Steen et al. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 2010. Vol. 3, Iss. 3. P. 247-256. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2009.11.012>
- [16] Longitudinal and Circumferential Strain Rate, Left Ventricular Remodeling, and Prognosis After Myocardial Infarction / C. Hung, A. Verma, H. Uno et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010. Vol. 56, Iss. 22. P. 1812-1822. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.06.044>
- [17] Prediction of Left Ventricular Remodeling after a Myocardial Infarction: Role of Myocardial Deformation: A Systematic Review and Meta-Analysis / O. Huttin, S. Coiro, C. Seltou-Suty et al. *PLoS one*. 2016. Vol. 11, Iss. 12. P. e0168349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168349>
- [18] Longitudinal strain in patients with STEMI using speckle tracking echocardiography. Correlation with peak infarction mass and ejection fraction / A. Ismail, W. Samy, R. Aly et al. *The Egyptian Journal of Critical Care Medicine*. 2015. Vol. 3, Iss. 2-3. P. 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.ejccm.2015.10.002>
- [19] Echocardiographic global longitudinal strain is associated with infarct size assessed by cardiac magnetic resonance in acute myocardial infarction / G. Joseph, T. Zaremba, M. Johansen et al. *Echo Research and Practice*. 2019. Vol. 6, Iss. 4. P. 81-89. <https://doi.org/10.1530/ERP-19-0026>
- [20] Prediction of Ventricular Arrhythmias With Left Ventricular Mechanical Dispersion / H. Kawakami, N. Nerlekar, K. Haugaa et al. *JACC: Cardiovascular Imaging*. 2020. Vol. 13, Iss. 2. P. 562-572. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2019.03.025>
- [21] Cardiovascular mortality attributable to dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study / T. Meier, K. Gräfe, F. Senn et al. *European journal of epidemiology*. 2019. Vol. 34, Iss. 1. P. 37-55. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0473-x>
- [22] Left ventricular dyssynchrony acutely after myocardial infarction predicts left ventricular remodeling / S. A. Mollema, S. S. Liem, M. S. Suffoletto et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 50, Iss. 16. P. 1532-1540. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.07.025>
- [23] Global longitudinal strain predicts incident atrial fibrillation and stroke occurrence after acute myocardial infarction / F. J. Olsen, S. Pedersen, J. S. Jensen, T. Biering-Sørensen. *Medicine*. 2016. Vol. 95, Iss. 44. P. e5338. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005338>
- [24] Prognostic value of longitudinal strain after primary reperfusion therapy in patients with anterior-wall acute myocardial infarction / Y. Park, S. Kang, J. Song et al. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2008. Vol. 21, Iss. 3. P. 262-267. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2007.08.026>
- [25] Global longitudinal strain and mechanical dispersion improves risk stratification of malignant ventricular arrhythmias and major adverse cardiac events over ejection fraction alone / R. Perry, S. Patil, M. Horsfall et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018. Vol. 71, Suppl. 11. P. A1663.
- [26] Global myocardial strain assessment by different imaging modalities to predict outcomes after ST-elevation myocardial infarction: A systematic review / A. Shetye, S. A. Nazir, I. B. Squire, G. P. McCann. *World journal of cardiology*. 2015. Vol. 7, Iss. 12. P. 948-960. <https://doi.org/10.4330/wjc.v7.i12.948>
- [27] Diagnostic capability and reproducibility of strain by Doppler and by Speckle Tracking in patients with acute myocardial infarction / B. Sjolvi, S. Orn, B. Grenne et al. *JACC Cardiovascular imaging*. 2009. Vol. 2, Iss. 1. P. 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2008.10.007>
- [28] Myocardial strain imaging: how useful is it in clinical decision making? / O. A. Smiseth, H. Torp, A. Opdahl et al. *European heart journal*. 2016. Vol. 37, Iss. 15. P. 1196-1207. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv529>
- [29] European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019 / A. Timmis, N. Townsend, C. Gale et al. *European Heart Journal*. 2020. Vol. 41, Iss. 1. P. 12-85. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz859>
- [30] Early prediction of infarct size by strain Doppler echocardiography after coronary reperfusion / T. Vartdal, H. Brunvand, E. Pettersen et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 49, Iss. 16. P. 1715-1721. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.12.047>
- [31] Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association / S. S. Virani, A. Alonso, E. J. Benjamin et al. *Circulation*. 2020. Vol. 141, Iss. 9. P. e139-e596. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>
- [32] Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging / J. U. Voigt, G. Pedrizzetti, P. Lysyansky et al. *European heart journal cardiovascular imaging*. 2015. Vol. 16, Iss. 1. P. 1-11. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jeu184>

References

- [1] Sokolov, M. Yu. (2019). Reestr perkutannykh koronarnykh vmeshatel'stv. Izmneniya za 2015-2018 gg. – sluchainyi vsplesk aktivnosti ili sistemnye preobrazovaniya? [Register of percutaneous coronary interventions. Are changes for 2015-2018 a casual splash of activities or system transformations?]. *Sertse i sudyny*, (3), 12-33. [in Russian]. <http://doi.org/10.30978/HV2019-3-12>
- [2] Parkhomenko, A. N., Lutai, Ya. M., Stepura, A. A., & Irkin, O. I. (2014). Novyi marker rannego remodelirovaniya serdtsa u bol'nykh s ostrym infarktom miokarda s elevatsiei segmenta ST [New marker of early heart remodeling in patients with acute myocardial infarction with ST segment elevation]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyanii*, (3), 11-18. [in Russian].
- [3] Kovalenko, V. M., & Kornatskiy, V. M. (Eds.). (2017). *Problemy zdorovia i tryvalosti zhyttia v suchasnykh umovakh* [Problems of health and life expectancy in modern conditions]. Kyiv: Gordon. [in Ukrainian].
- [4] Abou, R., Goedemans, L., van der Bijl, P., Fortuni, F., Prihadi, E. A., Mertens, B., Schali, M. J., Ajmone Marsan, N., Baj, J. J., & Delgado, V. (2020). Correlates and Long-Term Implications of Left Ventricular Mechanical Dispersion by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 33(8), 964-972. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2020.03.010>
- [5] Bastawy, I., Ismail, M., Hanna, H. F., & El Kilany, W. (2018). Speckle tracking imaging as a predictor of left ventricular remodeling 6 months after first anterior ST elevation myocardial infarction in patients managed by primary percutaneous coronary intervention. *The Egyptian heart journal*, 70(4), 343-352. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2018.06.006>
- [6] Biering-Sørensen, T., Jensen, J. S., Pedersen, S. H., Galatius, S., Fritz-Hansen, T., Bech, J., Olsen, F. J., & Mogelvang, R. (2016). Regional Longitudinal Myocardial Deformation Provides Incremental Prognostic Information in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *PLoS one*, 11(6), e0158280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158280>
- [7] Brainin, P., Skaarup, K. G., Iversen, A. Z., Jørgensen, P. G., Platz, E., Jensen, J. S., & Biering-Sørensen, T. (2019). Post-systolic shortening predicts heart failure following acute coronary syndrome. *International journal of cardiology*, 276, 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.11.106>
- [8] Brown, J., Jenkins, C., & Marwick, T. H. (2009). Use of myocardial strain to assess global left ventricular function: a comparison with cardiac magnetic resonance and 3-dimensional echocardiography. *American heart journal*, 157(1), 102.e1-102.e1025. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2008.08.032>

- [9] Chan, J., Hanekom, L., Wong, C., Leano, R., Cho, G. Y., & Marwick, T. H. (2006). Differentiation of subendocardial and transmural infarction using two-dimensional strain rate imaging to assess short-axis and long-axis myocardial function. *Journal of the American College of Cardiology*, 48(10), 2026-2033. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.07.050>
- [10] D'Andrea, A., Cocchia, R., Caso, P., Riegler, L., Scarafilo, R., Salerno, G., Golia, E., Di Salvo, G., Calabrò, P., Bigazzi, M. C., Liccardo, B., Esposito, N., Cuomo, S., Bossone, E., Russo, M. G., & Calabrò, R. (2011). Global longitudinal speckle-tracking strain is predictive of left ventricular remodeling after coronary angioplasty in patients with recent non-ST elevation myocardial infarction. *International journal of cardiology*, 153(2), 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.08.025>
- [11] Dimitriu-Leen, A. C., Scholte, A. J., Katsanos, S., Hoogslag, G. E., van Rosendaal, A. R., van Zwet, E. W., Bax, J. J., & Delgado, V. (2017). Influence of Myocardial Ischemia Extent on Left Ventricular Global Longitudinal Strain in Patients After ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *The American journal of cardiology*, 119(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.08.091>
- [12] Eek, C., Grenne, B., Brunvand, H., Aakhus, S., Endresen, K., Smiseth, O. A., Edvardsen, T., & Skulstad, H. (2011). Postsystolic shortening is a strong predictor of recovery of systolic function in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. *European journal of echocardiography*, 12(7), 483-489. [https://doi.org/10.1093/ejehocardiography/12\(7\).483-489](https://doi.org/10.1093/ejehocardiography/12(7).483-489)
- [13] Ersbøll, M., Valeur, N., Mogensen, U. M., Andersen, M. J., Møller, J. E., Velazquez, E. J., Hassager, C., Søgaard, P., & Køber, L. (2013). Prediction of all-cause mortality and heart failure admissions from global left ventricular longitudinal strain in patients with acute myocardial infarction and preserved left ventricular ejection fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(23), 2365-2373. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.02.061>
- [14] Haugaa, K. H., Grenne, B. L., Eek, C. H., Ersbøll, M., Valeur, N., Svendsen, J. H., Florian, A., Sjøli, B., Brunvand, H., Køber, L., Voigt, J. U., Desmet, W., Smiseth, O. A., & Edvardsen, T. (2013). Strain echocardiography improves risk prediction of ventricular arrhythmias after myocardial infarction. *JACC. Cardiovascular imaging*, 6(8), 841-850. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2013.03.005>
- [15] Haugaa, K. H., Smedsrud, M. K., Steen, T., Kongsgaard, E., Løennechen, J. P., Skjaerpe, T., Voigt, J. U., Willems, R., Smith, G., Smiseth, O. A., Amlie, J. P., & Edvardsen, T. (2010). Mechanical dispersion assessed by myocardial strain in patients after myocardial infarction for risk prediction of ventricular arrhythmia. *JACC. Cardiovascular imaging*, 3(3), 247-256. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2009.11.012>
- [16] Hung, C. L., Verma, A., Uno, H., Shin, S. H., Bourgoun, M., Hassanein, A. H., McMurray, J. J., Velazquez, E. J., Køber, L., Pfeffer, M. A., Solomon, S. D., & VALIANT investigators (2010). Longitudinal and circumferential strain rate, left ventricular remodeling, and prognosis after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(22), 1812-1822. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.06.044>
- [17] Huttin, O., Coiro, S., Selton-Suty, C., Juillière, Y., Donal, E., Magne, J., Sadoul, N., Zannad, F., Rossignol, P., & Girerd, N. (2016). Prediction of Left Ventricular Remodeling after a Myocardial Infarction: Role of Myocardial Deformation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS one*, 11(12), e0168349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168349>
- [18] Ismail, A. M., Samy, W., Aly, R., Fawzy, S., & Hussein, K. (2015). Longitudinal strain in patients with STEMI using speckle tracking echocardiography. Correlation with peak infarction mass and ejection fraction. *The Egyptian Journal of Critical Care Medicine*, 3(2-3), 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.ejccm.2015.10.002>
- [19] Joseph, G., Zaremba, T., Johansen, M. B., Ekeloef, S., Heiberg, E., Engblom, H., Jensen, S. E., & Søgaard, P. (2019). Echocardiographic global longitudinal strain is associated with infarct size assessed by cardiac magnetic resonance in acute myocardial infarction. *Echo research and practice*, 6(4), 81-89. <https://doi.org/10.1530/ERP-19-0026>
- [20] Kawakami, H., Nerlekar, N., Haugaa, K. H., Edvardsen, T., & Marwick, T. H. (2020). Prediction of Ventricular Arrhythmias With Left Ventricular Mechanical Dispersion: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JACC. Cardiovascular imaging*, 13(2 Pt 2), 562-572. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2019.03.025>
- [21] Meier, T., Gräfe, K., Senn, F., Sur, P., Stangl, G. I., Dawczynski, C., März, W., Kleber, M. E., & Lorkowski, S. (2019). Cardiovascular mortality attributable to dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study. *European journal of epidemiology*, 34(1), 37-55. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0473-x>
- [22] Mollema, S. A., Liem, S. S., Suffoletto, M. S., Bleeker, G. B., van der Hoeven, B. L., van de Veire, N. R., Boersma, E., Holman, E. R., van der Wall, E. E., Schalij, M. J., Gorcsan, J., 3rd, & Bax, J. J. (2007). Left ventricular dyssynchrony acutely after myocardial infarction predicts left ventricular remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(16), 1532-1540. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.07.025>
- [23] Olsen, F. J., Pedersen, S., Jensen, J. S., & Biering-Sørensen, T. (2016). Global longitudinal strain predicts incident atrial fibrillation and stroke occurrence after acute myocardial infarction. *Medicine*, 95(44), e5338. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005338>
- [24] Park, Y. H., Kang, S. J., Song, J. K., Lee, E. Y., Song, J. M., Kang, D. H., Kim, Y. H., Lee, C. W., Hong, M. K., Kim, J. J., Park, S. W., & Park, S. J. (2008). Prognostic value of longitudinal strain after primary reperfusion therapy in patients with anterior-wall acute myocardial infarction. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 21(3), 262-267. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2007.08.026>
- [25] Perry, R., Patil, S., Horsfall, M., Marx, C., Chew, D., Joseph, M., Ganesan, A., McGavigan, A., Nucifora, G., & Selvanayagam, J. (2018). Global longitudinal strain and mechanical dispersion improves risk stratification of malignant ventricular arrhythmias and major adverse cardiac events over ejection fraction alone. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(11 Supplement), A1663.
- [26] Shetye, A., Nazir, S. A., Squire, I. B., & McCann, G. P. (2015). Global myocardial strain assessment by different imaging modalities to predict outcomes after ST-elevation myocardial infarction: A systematic review. *World journal of cardiology*, 7(12), 948-960. <https://doi.org/10.4330/wjc.v7.i12.948>
- [27] Sjøli, B., Ørn, S., Grenne, B., Ihlen, H., Edvardsen, T., & Brunvand, H. (2009). Diagnostic capability and reproducibility of strain by Doppler and by speckle tracking in patients with acute myocardial infarction. *JACC. Cardiovascular imaging*, 2(1), 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2008.10.007>
- [28] Smiseth, O. A., Torp, H., Opdahl, A., Haugaa, K. H., & Urheim, S. (2016). Myocardial strain imaging: how useful is it in clinical decision making? *European heart journal*, 37(15), 1196-1207. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv529>
- [29] Timmis, A., Townsend, N., Gale, C. P., Torbica, A., Lettino, M., Petersen, S. E., Mossialos, E. A., Maggioni, A. P., Kazakiewicz, D., May, H. T., De Smedt, D., Flather, M., Zuhke, L., Beltrame, J. F., Huculeci, R., Tavazzi, L., Hindricks, G., Bax, J., Casadei, B., Achenbach, S., ... European Society of Cardiology (2020). European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. *European heart journal*, 41(1), 12-85. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz859>
- [30] Vartdal, T., Brunvand, H., Pettersen, E., Smith, H. J., Lyseggen, E., Helle-Valle, T., Skulstad, H., Ihlen, H., & Edvardsen, T. (2007). Early prediction of infarct size by strain Doppler echocardiography after coronary reperfusion. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(16), 1715-1721. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.12.047>
- [31] Virani, S. S., Alonso, A., Benjamin, E. J., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., Chamberlain, A. M., Chang, A. R., Cheng, S., Delling, F. N., Djousse, L., Elkind, M., Ferguson, J. F., Fornage, M., Khan, S. S., Kissela, B. M., Knutson, K. L., Kwan, T. W., Lackland, D. T., Lewis, T. T., ... American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee (2020). Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 141(9), e139-e596. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>
- [32] Voigt, J. U., Pedrizzetti, G., Lysyansky, P., Marwick, T. H., Houle, H., Baumann, R., Pedri, S., Ito, Y., Abe, Y., Metz, S., Song, J. H., Hamilton, J., Sengupta, P. P., Kollas, T. J., d'Hooge, J., Aurigemma, G. P., Thomas, J. D., & Badano, L. P. (2015). Definitions for a common standard for 2D speckle tracking echocardiography: consensus document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to standardize deformation imaging. *European heart journal cardiovascular imaging*, 16(1), 1-11. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jeu184>