

## Патоморфологические изменения плаценты при коронавирусной болезни (COVID-19)

Т. В. Савчук<sup>id</sup> \*A,B,C,D,E, С. Г. Гичка<sup>id</sup> A,C,E,F, И. В. Лещенко<sup>B,E</sup>

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина

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

### Ключевые слова:

плацента, коронавирусная болезнь (COVID-19), плацентарная недостаточность.

Патология. 2021.  
Т. 18, № 2(52).  
С. 128-135

### \*E-mail:

t.savchuk@nmu.ua

**Цель работы** – установить патоморфологические изменения плаценты при коронавирусной болезни (COVID-19) в анамнезе в разные сроки гестации.

**Материалы и методы.** Исследовали 53 плаценты женщин с диагностированной коронавирусной болезнью (COVID-19) (определение ПНК SARS-CoV-2) при данной беременности. Материал разделили на следующие группы: 1 и 2 – плаценты в случаях с отрицательным ПЦР-тестом у доношенных новорожденных, рожденных в удовлетворительном состоянии с высокими баллами по шкале Апгар. 1 группа (n = 29) – COVID-19 у матери на 34–39 неделях гестации; 2 (n = 17) – COVID-19 на 23–33 неделях гестации; 3 (n = 7) – плаценты при антенатальной гибели плода.

**Результаты.** Между исследуемыми группами выявлены статистически значимые различия: в 1 группе преобладал хориоамнионит (в 28 случаях (96,6 %); доверительный интервал (ДИ): 86,4–100 %;  $p_{1,2} = 0,004$ ); во 2 и 3 группах – артериосклероз (в 13 наблюдениях (76,5 %); ДИ: 52,2–93,9 %;  $p_{1,2} = 0,0003$ , и в 7 (100 %); ДИ 75,7–100,0 %;  $p_{1,3} = 0,001$  соответственно). COVID-19 был диагностирован в 1 группе с 34 по 39 неделю гестации (медиана – 36,5), во 2 группе – с 23 по 33 неделю (медиана – 28,0), в 3 группе – с 13 по 32 неделю (медиана – 24,5). Антенатальная гибель плодов произошла в сроке беременности от 14 до 41 недели (медиана – 31,4).

**Выводы.** Патоморфологические изменения плаценты при коронавирусной болезни COVID-19 зависели от длительности постковидного интервала (промежуток времени от диагностирования COVID-19 и моментом родов) и обусловлены последовательной сменой фаз воспалительного процесса: альтерации, экссудации и пролиферации с последующим фиброзом. Формирование острой плацентарной недостаточности при коронавирусной болезни, диагностированной за 1–6 недель до родов, связано с развитием выраженных дисциркуляторных расстройств и острой экссудативной воспалительной реакции разной степени выраженности. Формирование хронической плацентарной недостаточности связано с пролиферативной стадией воспаления. Указанные изменения приводят к развитию фиброза стенок артериол и межворсинчатого пространства. Наиболее существенные структурные изменения плаценты, ведущие к плацентарной недостаточности, наблюдали во 2 группе – в сроках инфицирования в период 23–33 недели беременности. Коронавирусная болезнь COVID-19 у матери во втором триместре беременности является фактором риска по перинатальным потерям, которые обусловлены описанными выше изменениями плаценты с увеличением длительности постковидного интервала.

### Ключові слова:

плацента, коронавірусна хвороба (COVID-19), плацентарна недостатність.

Патологія. 2021.  
Т. 18, № 2(52).  
С. 128-135

## Патоморфологічні зміни плаценти при коронавірусній хворобі (COVID-19)

Т. В. Савчук, С. Г. Гичка, І. В. Лещенко

**Мета роботи** – встановити патоморфологічні зміни плаценти при коронавірусній хворобі (COVID-19) в анамнезі в різні терміни гестації.

**Матеріали та методи.** Дослідили 53 плаценти жінок із коронавірусною хворобою (COVID-19) (визначення ПНК SARS-CoV-2), яку діагностували при цій вагітності. Матеріал поділили на групи: 1 та 2 – плаценти у випадках із негативним ПЦР-тестом у доношених новонароджених, народжених у задовільному стані з високими балами за шкалою Апгар. 1 група (n = 29) – COVID-19 у матері на 34–39 тижнях гестації; 2 (n = 17) – COVID-19 на 23–33 тижнях гестації; 3 (n = 7) – плаценти при антенатальній загибелі плода.

**Результати.** Між групами, що досліджували, виявили статистично значущі відмінності: в 1 групі переважав хориоамніоніт (у 28 випадках (96,6 %); довірчий інтервал (ДІ): 86,4–100 %;  $p_{1,2} = 0,004$ ); у 2 і 3 групах – артеріосклероз (у 13 спостереженнях (76,5 %); ДІ: 52,2–93,9 %;  $p_{1,2} = 0,0003$  та у 7 (100 %); ДІ: 75,7 – 100,0%;  $p_{1,3} = 0,001$  відповідно). COVID-19 діагностували в 1 групі на 34–39 тижнях гестації (медіана – 36,5), у 2 групі – з 23 до 33 тижня (медіана – 28,0), у 3 – з 13 до 32 тижня (медіана – 24,5). Антенатальна загибель плодів відбулась у термінах вагітності від 14 до 41 тижня (медіана – 31,4).

**Висновки.** Патоморфологічні зміни плаценти при коронавірусній хворобі COVID-19 залежали від тривалості постковидного інтервалу (проміжок часу між діагностуванням COVID-19 і моментом пологів) та зумовлені послідовною зміною фаз запального процесу: альтерації, екссудації, проліферації з дальшим фіброзом. Формування гострої плацентарної недостатності при коронавірусній хворобі, яку діагностовано за 1–6 тижнів до пологів, пов'язане з розвитком виражених дисциркуляторних розладів і гострої екссудативної запальної реакції різного ступеня вираженості. Формування хронічної плацентарної недостатності пов'язане з проліферативною стадією запалення. Ці зміни призводять до розвитку фіброзу стінок артеріол і міжворсинчатого простору. Найбільш істотні структурні зміни плаценти, що призводять до плацентарної

недостатності, спостерігали у 2 групі – в термінах інфікування в період 23–33 тижні вагітності. Коронавірусна хвороба COVID-19 у матері у другому триместрі вагітності – фактор ризику перинатальних утрат, що зумовлені описаними вище змінами плаценти зі збільшенням тривалості постковідного інтервалу.

## Pathomorphological changes of the placenta in coronavirus disease (COVID-19)

T. V. Savchuk, S. H. Gychka, I. V. Leshchenko

**The aim** of this research was to study the pathomorphological changes in the placenta in case of coronavirus disease (COVID-19) in the anamnesis during different periods of gestation.

**Materials and methods.** 53 placentas of women with the coronavirus disease (COVID-19) (RNA determination of the SARS-CoV-2) during the pregnancy were studied. The material was divided into the following groups: 1 and 2 – placentas in cases with a negative PCR test in full-term newborns who were born in satisfactory condition and high Apgar score. Group 1 (n = 29) – mother's history of COVID-19 at 34–39 weeks of gestation; group 2 (n = 17) – mother's history of COVID-19 at 23–33 weeks of gestation; 3 (n = 7) – placenta in case of antenatal fetal death.

**Results.** Statistically significant differences were revealed between study groups: chorioamnionitis prevailed in group 1 (in 28 cases (96.6 %); confidence interval (CI): 86.4–100.0 %;  $P_{1-2} = 0.004$ ); in groups 2 and 3 – arteriosclerosis (in 13 cases (76.5 %); CI: 52.2–93.9 %;  $P_{1-2} = 0.0003$  and in 7 cases (100 %); CI: 75.7–100.0 %;  $P_{1-3} = 0.001$ ; respectively). COVID-19 was diagnosed in group 1 from 34 to 39 weeks of gestation (median 36.5), group 2 from 23 to 33 weeks (median 28.0), in group 3 from 13 to 32 weeks with a median of 24.5. Antenatal fetal death was observed between 14 and 41 weeks (median 31.4).

**Conclusions.** Pathomorphological changes in the placenta in the coronavirus disease COVID-19 depended on the duration of the post-COVID interval (the time interval from the diagnosis of COVID-19 and the moment of delivery), due to the sequential change in the phases of the inflammatory process: alteration, exudation and proliferation, followed by fibrosis. The formation of acute placental insufficiency in coronavirus disease COVID-19, diagnosed up to 1–6 weeks to delivery, is associated with the development of severe disorders of circulation and acute exudative inflammatory reactions of varying severity. The formation of chronic placental insufficiency is associated with the proliferative stage of inflammation. These changes lead to the development of fibrosis in the wall of arterioles and intervillous space. The most significant structural changes in the placenta, leading to placental insufficiency, were observed in group 2 – at the time of infection in the period from 23–33 weeks of pregnancy. Coronavirus disease COVID-19 in the mother in the second trimester of pregnancy is a risk factor for perinatal losses, which are caused by the changes in the placenta described above with an increase in the duration of the post-COVID interval.

### Key words:

placenta, coronavirus disease (COVID-19), placental insufficiency.

### Pathologia

2021; 18 (2), 128-135

Коронавірус (SARS-CoV-2) являється збудителем нової вірусної хвороби – COVID-19. Преимущественный аспирационный механизм распространения в первую очередь приводит к повреждению альвеолоцитов [1]. В ответ на гибель клеток (пироптоз) [2] активируются макрофаги и нейтрофилы, повреждая эндотелий сосудов с ухудшением реологических свойств крови и активацией тромбоцитов, с последующим нарушением микроциркуляции и, как следствие, активации фибробластов с последующим развитием фиброза. Клинически и морфологически это проявляется развитием ДВС-синдрома, генерализованным микротромбозом, полиорганной недостаточностью [3]. В связи с преимущественной гибелью больных COVID-19 от дыхательной недостаточности особого внимания требует изучение изменений в легких, вызванных данным вирусом. Описана стадийность течения пневмонии при COVID-19 в виде трех клинико-морфологических фаз: фульминантной, персистирующей и фибротической, с особенностью последней в виде развития тотального интраальвеолярного и интерстициального фиброза [4].

Существует вероятность вертикальной передачи SARS-CoV-2 от матери к плоду [5]. Плацента в большинстве случаев выполняет барьерную функцию [6], что подтверждается рождением ПЦР-негативных новорожденных от ПЦР-позитивных женщин [7]. Защитный механизм против вертикальной передачи – снижение активности (коэкспрессии) и концентрации в плаценте протеина ангиотензинпревращающего

фермента II типа (ACE2), являющегося рецептором для связывания с S-белком (Spike Protein) оболочки SARS-CoV-2, и трансмембранной сериновой протеазы типа 2 (TMPRSS2), активирующей S-белок [3,8,9]. Несмотря на это, описаны наблюдения внутриутробного инфицирования и внутриутробной гибели плода, преждевременной отслойки плаценты и преждевременных родов, обусловленных COVID-19 [10,11].

### Цель работы

Установить патоморфологические изменения плаценты при коронавирусной болезни (COVID-19) в анамнезе в разные сроки гестации.

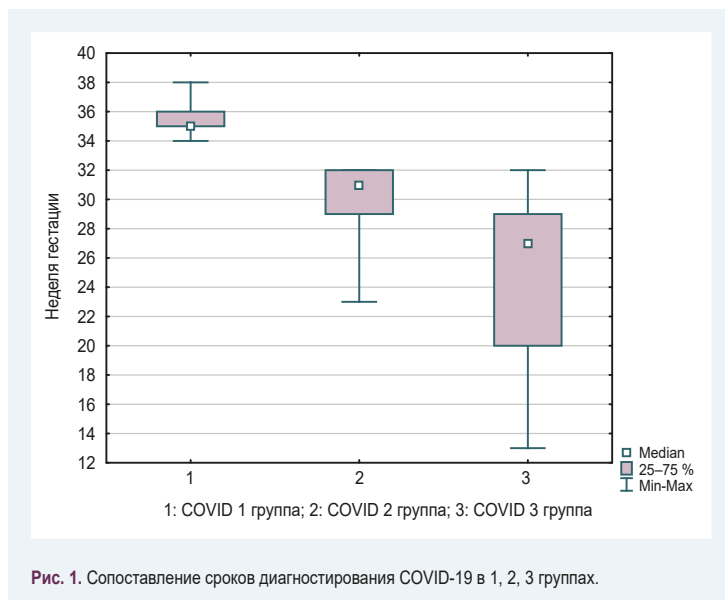
### Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципов Хельсинкской декларации. Материал получен в НДСЛ «ОХМАТДИТ» МОЗ Украины в отделении детской патологической анатомии согласно договору. Материалом исследования были 53 плаценты, полученные после информированного согласия на исследование, женщин с проявлением коронавирусной болезни (COVID-19) и положительным ПЦР-тестом (определение РНК SARS-CoV-2) при данной беременности. Материал разделили на группы: 1 и 2 – плаценты в случаях с отрицательным ПЦР-тестом у новорожденных, рожденных в удовлетворительном

**Таблиця 1.** Распределение материала по группам согласно срокам родов и диагностированию COVID-19 (неделя гестации)

Группа	Срок родов, неделя гестации	COVID-19 <sup>1</sup> , неделя гестации
1 (n = 29)	38–40	34–39
2 (n = 17)	38–40	23–33
3 (n = 7)	14	13
	26–27	22–23
	30	29
	34–35	21–22
	36–37	32–33
	39–40	27–28
	41	27–28

1: срок беременности, в котором был диагностирован COVID-19.



состоянии и с высокими баллами по шкале Апгар, однако, группы формировали по сроку гестации, в котором беременная заболела COVID-19; 3 – плаценты при антенатальной гибели плода (табл. 1).

Применяли макроскопический, огранометрический, микроскопический и статистический методы исследования. После осмотра и измерения массы плаценты брали на исследование 6–7 кусочков для проведения микроскопического исследования. Материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, проводили по спиртам нарастающей концентрации по общепринятой методике и изготавливали парафиновые блоки. С парафиновых блоков на микротоме Leica SM 2000 R делали серийные срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гистологическими красителями: гематоксилином и эозином (ГЭ), MSB в модификации Д. Д. Зербино, Л. Л. Лукасевич (ОГК) для выявления фибрина и коллагеновых волокон.

Статистический анализ результатов и графическое представление результатов проведены с использованием пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, USA, серийный номер STA862D175437Q) и MedStat (серийный номер 85684586). Для статистической обработки полученных данных применяли методы вариационной статистики. Нормальность распре-

деления данных проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Для множественного межгруппового сравнения средних значений использовали непараметрический ранговый анализ Краскела–Уоллиса с последующим применением парных сравнений групп в диалоге теста Краскела–Уоллиса. Для оценки различий между сравниваемыми средними значениями двух независимых совокупностей при малых выборках применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U Test). Количественные данные приведены в формате среднее арифметическое ± ошибка среднего ( $M \pm m$ ), а ранговые – в формате медиана с нижним и верхним квартилями (Me [Q1; Q3]). Различия считали статистически значимыми, если значение вероятности было больше или равно 95 % ( $p \leq 0,05$ ).

Первая группа объединила 29 плацент женщин, родивших живых доношенных новорожденных и переболевших COVID-19 в сроках беременности 34–39 недель. Во вторую группу включили 17 плацент женщин, переболевших коронавирусной болезнью COVID-19 в сроках 23–33 недели. Третья группа включила плаценты семи антенатально погибших плодов на 14, 26, 30, 34, 36, 39 и 41 неделях гестации. Причем промежутки времени от заболевания COVID-19 и до антенатальной гибели был от 1 недели до 13 недель (табл. 1).

## Результаты

COVID-19 был диагностирован 1 группе на сроке 34–39 недель гестации (медиана – 36,5), во 2 – 23–33 недели (медиана – 28,0), в 3 группе – с 13 по 32 неделю (медиана – 24,5) (рис. 1). Антенатальная гибель плодов произошла в сроках беременности от 14 до 41 недели (медиана – 31,4).

При морфометрическом исследовании плацент 1 и 2 групп достоверных различий в массе (г) не выявлено (1 группа –  $521,7 \pm 23,2$ ; 2 группа –  $505,3 \pm 39,3$ ), не выявлено таковых различий между плацентами 1 и 3 групп (при антенатальной асфиксии на 37–41 неделях гестации). При микроскопическом исследовании в плацентах первой группы преобладали дисциркуляторные расстройства. Во всех плацентах этой группы отмечены кровоизлияния в межворсинчатое пространство, стазы в сосудах терминальных ворсин (рис. 2 А). В 13 случаях (44,8 %) имел место ангиоматоз терминальных ворсин (табл. 2; рис. 2 Б). В 28 случаях (96,6 %; доверительный интервал (ДИ): 86,4–100 %;  $p_{1-2} = 0,004$ ) установлена лейкоцитарная инфильтрация амниотической оболочки и в 16 наблюдениях (55,2 %) – лимфоцитарная и лейкоцитарная инфильтрация базальной пластинки. Интервиллузит и виллузит установлен в 7 случаях (24,1 %; ДИ: 10,1–41,9 %) (рис 3 А). Выявлено утолщение стенок мелких артерий, артериол стволовых и полустволовых ворсин с фибриноидным некрозом, повреждение эндотелия с пролиферативными реакциями в стенке артериолы, суживающими ее просвет (рис. 2 В, Г). В плацентах 2 группы в артериолах и мелких артериях наблюдали подобные пролиферативные изменения. Кроме того, просвет отдельных артериол был обли-

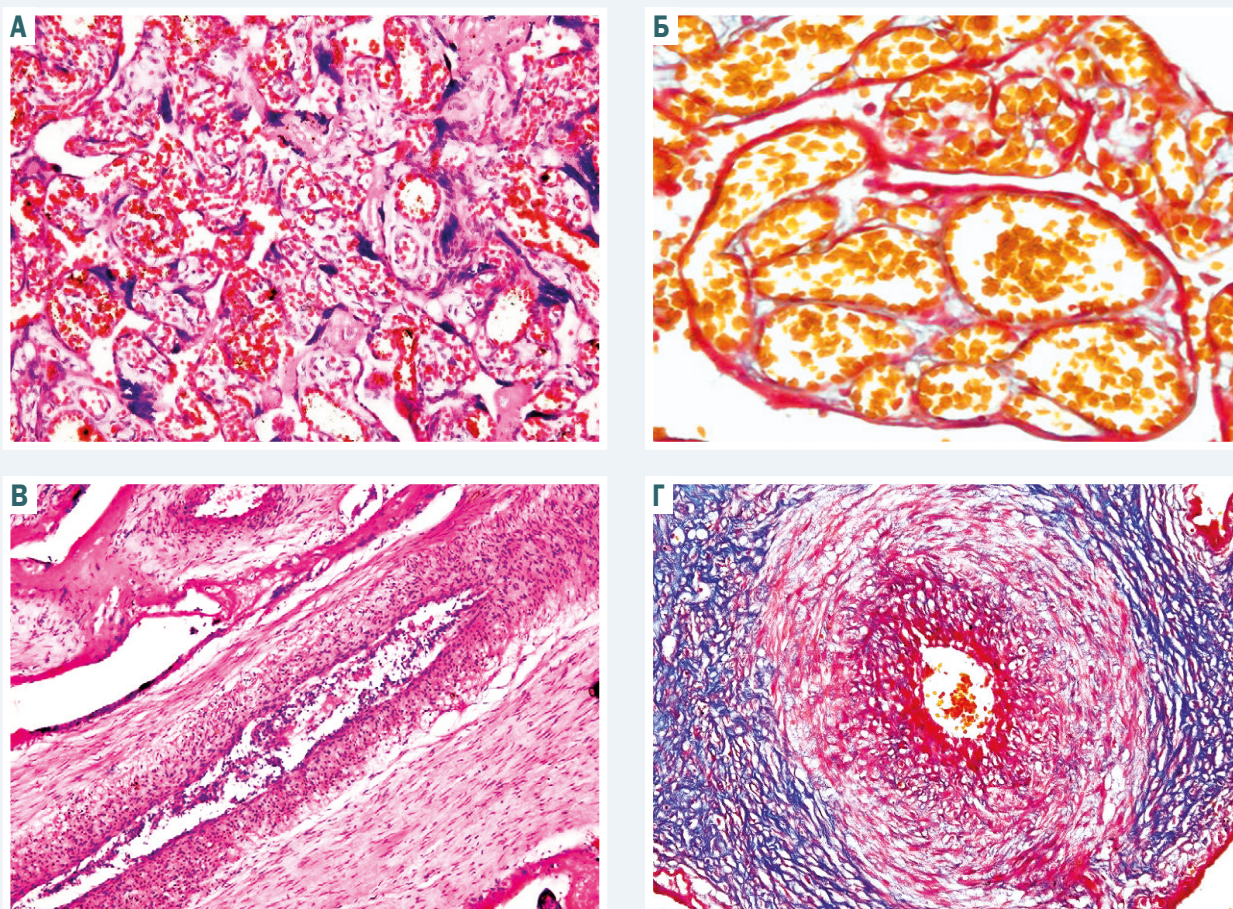


Рис. 2. Структурные изменения плацент при COVID-19. А: стазы в венах, ангиоматоз терминальных ворсин, увеличение количества синцитиальных почек,  $\times 100$ ; Б: ангиоматоз ворсин,  $\times 400$ ; В: пролиферативные изменения в стенке артериолы,  $\times 100$ ; Г: утолщение стенки артерии стволковой ворсины, сужение просвета в результате пролиферативных изменений стенки,  $\times 200$ .

А, В – окраска ГЭ; Б, Г – окраска MSB в модификации Зербино Д.Д., Лукаевич Л.Л. (ОГК).

Таблица 2. Патоморфологические изменения в плацентах разных групп при COVID-19

Группы	1 (n = 29)	2 (n = 17)	3 (n = 7)
Хориоамнионит	n = 28 96,6 % (95 % ДИ: 86,4–100,0 %) $p_{1,2} = 0,004$	n = 11 64,7 % (95 % ДИ: 39,3–86,3 %)	n = 7 100,0 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %)
Интервиллизит	n = 7 24,1 % (95 % ДИ: 10,1–41,9 %)	n = 1 5,9 % (95 % ДИ: 0,0–23,2 %)	n = 3 42,9 % (95 % ДИ: 6,2–85,2 %)
Виллизит	n = 7 24,1 % (95 % ДИ: 10,1–41,9 %)	n = 1 5,9 % (95 % ДИ: 0,0–23,2 %)	n = 1 14,3 % (95 % ДИ: 0,0–56,4 %)
Базальный децидуит	n = 16 55,2 % (95 % ДИ: 36,3–73,3 %)	n = 8 47,1 % (95 % ДИ: 22,9–72,0 %)	n = 7 100 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %)
Облитерация просвета артериол	n = 2 6,9 % (95 % ДИ: 0,6–19,4 %)	n = 13 76,5 % (95 % ДИ: 52,2–93,9 %) $p_{1,2} = 0,0003$	n = 7 100 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %) $p_{1,3} = 0,001$
Пролиферативные изменения в стенке артериол	n = 29 100 % (95 % ДИ: 93,6–100,0 %)	n = 17 100 % (95 % ДИ: 89,4–100,0 %)	n = 7 100 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %)
Фибриноидные некрозы стенки артериол	n = 28 96,6 % (95 % ДИ: 86,4–100,0 %)	n = 17 100 % (95 % ДИ: 89,4–100,0 %)	n = 7 100 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %)
Стазы, тромбозы, кровоизлияния	n = 29 100 % (95 % ДИ: 93,6–100,0 %)	n = 16 94,1 % (95 % ДИ: 76,8–100,0 %)	n = 3 42,9 % (95 % ДИ: 6,2–85,2 %)
Увеличение количества синцитиальных почек	n = 29 100 % (95 % ДИ: 93,6–100,0 %)	n = 17 100 % (95 % ДИ: 89,4–100,0 %)	n = 7 100 % (95 % ДИ: 75,7–100,0 %)
Ангиоматоз терминальных ворсин	n = 13 44,8 % (95 % ДИ: 26,7–63,7 %)	n = 6 35,3 % (95 % ДИ: 13,7–60,7 %)	n = 0 0,0 % (95 % ДИ: 0,0–24,3 %)
Внутрисосудистые септы	n = 0 0,0 % (95 % ДИ: 0,0–6,4 %)	n = 5 29,4 % (95 % ДИ: 9,7–54,5 %)	n = 3 42,9 % (95 % ДИ: 6,2–85,2 %)

$p_{1,2} = 0,004$  (хориоамнионит);  $p_{1,2} = 0,0003$  и  $p_{1,3} = 0,001$  (облитерация просвета артериол).

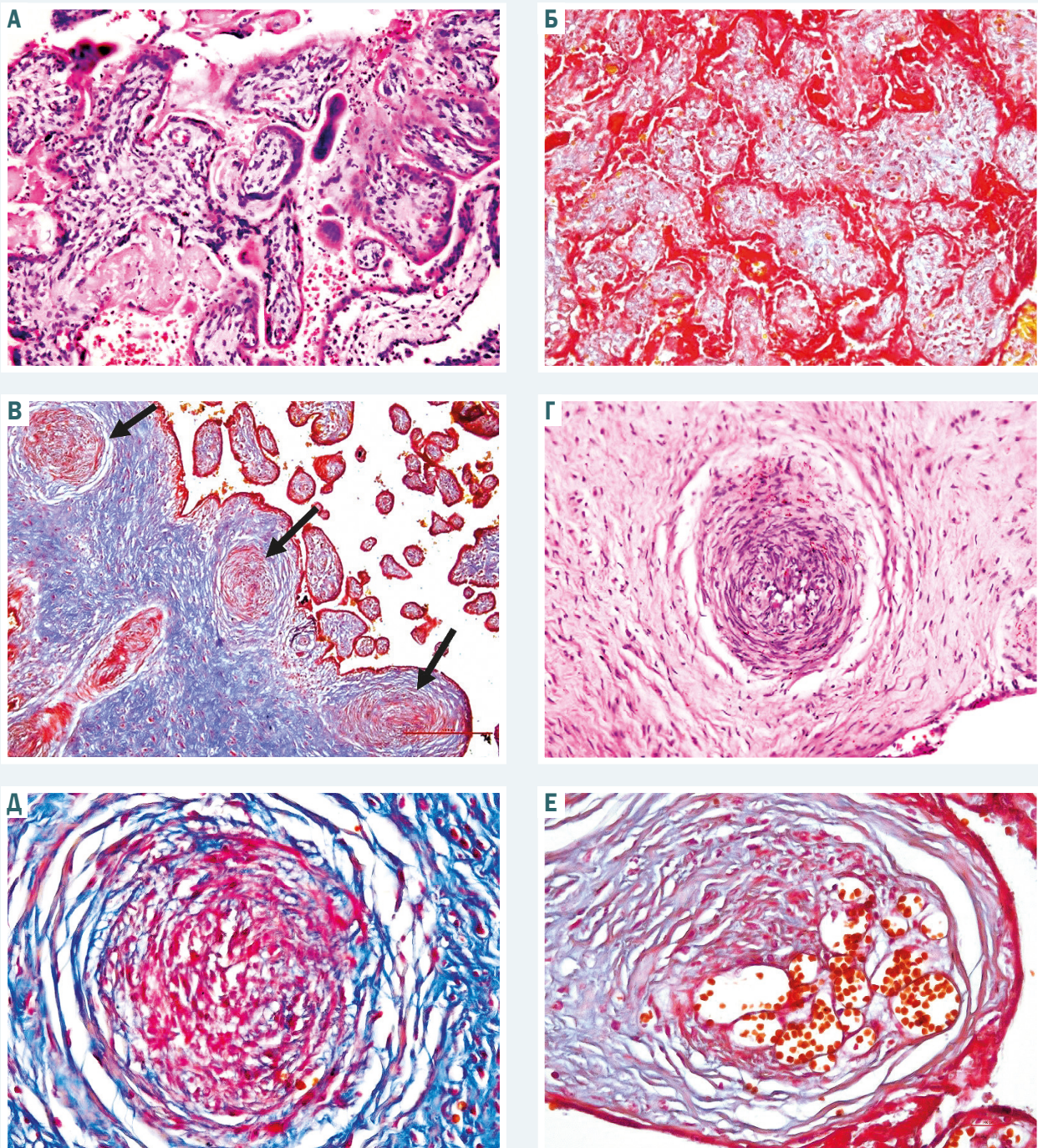


Рис. 3. Структурные изменения плацент при COVID-19. А: лимфоцитарная и лейкоцитарная инфильтрация стромы ворсин и межворсинчатого пространства, увеличение количества синцитиальных почек,  $\times 100$ . Б: фибриноид в межворсинчатом пространстве (фибрин, входящий в состав фибриноида, окрашен в красный цвет),  $\times 200$ ; В: стволовая ворсина с облитерированными просветами артерий (стрелка),  $\times 100$ . Г, Д: облитерация просвета артерии,  $\times 200$ ,  $\times 400$ ; Е: изменения в артерии через 12 недель после диагностирования COVID-19: формирование множественных просветов,  $\times 200$ .

Окраска: А, Г – гематоксиллин и эозин; Б, В, Д, Е – MSB в модификации Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. (ОГК).

терирован (13 случаев (76,5 %; ДИ: 52,2–93,9 %);  $p_{1-2} = 0,0003$ ), строма ворсин фиброзирована. Отмечено увеличение фибриноида в межворсинчатом пространстве (рис. 3 Б). Вместе с этим наблюдали компенсаторные реакции в виде увеличения количества синцитиальных почек и расширения просветов сохранных артериол. В 11 наблюдениях (64,7 %; ДИ:

39,3–86,3 %) выявлена лейкоцитарная инфильтрация амниотических оболочек разной степени выраженности. В плацентах всех случаев 3 группы, в отличие от предыдущих, наблюдали прогрессирующее сужение просветов мелких артерий и артериол, тотальную облитерацию (рис. 3 В, Г, Д). В трех плацентах при антенатальной гибели плодов, произошедшей через

10–12 недель после диагностированного COVID-19, в 5 наблюдениях 2 группы были выявлены изменения в мелких артериях и артериолах в виде внутрисосудистых септ – перегородок, формирующих несколько просветов (рис. 3 Е). При окрашивании MSB обращало на себя внимание изменение цвета волокон стенки артериолы: в начале пролиферативных изменений преобладал красный цвет (рис. 2 Г), тогда как в облитерированных артериолах голубой (рис. 3 Д, Е), что свидетельствует о замещении гладкомышечных волокон стенки артериолы коллагеновыми. Все случаи этой группы сопровождались хориоамнионитом и базальным децидуитом.

Проведено сравнение данных 1, 2 и 3 групп. Установлено, что при диагностированном COVID-19 за 1–6 недель до родов (1 группа) в плацентах преобладали воспалительные изменения, в частности – хориоамнионит в 28 случаях (96,6 %), тогда как через 7–17 недель (2 группа) подобные изменения – лишь в 11 наблюдениях (64,7 %). Облитерация просвета артериол выявлена в 1 группе в двух случаях (6,9 %; ДИ: 0,6–19,4 %), во 2 группе – в 13 случаях (76,5 %; ДИ: 52,2–93,9 %;  $p_{1,2} = 0,0003$ ) и в 3 группе – во всех наблюдениях (ДИ: 75,7–100,0 %;  $p_{1,3} = 0,001$ ) (табл. 2).

## Обсуждение

Нами были изучены 53 плаценты женщин, переболевших COVID-19 в разные сроки беременности. В 1 группе были 29 плацент женщин, родивших живых доношенных детей с высокими баллами по шкале Апгар через 1–6 недель после перенесенного заболевания. ПЦР-тест у новорожденных был позитивным только в одном случае, и при этом новорожденный был оценен по шкале Апгар в 3 балла, отмечены признаки внутриутробного инфицирования. В случаях рождения плодов с негативным ПЦР тестом изменения локализовались в плаценте. В плацентах первой группы преобладали дисциркуляторные расстройства: кровоизлияния в межворсинчатое пространство, стазы, ангиоматоз терминальных ворсин. Также наблюдали хориоамнионит (28 случаев (96,5 %)), базальный децидуит (16 наблюдений (55,1 %)), реже интервиллусит и виллусит (7 случаев (24,1 %)), в частности у плода с позитивным ПЦР-тестом. Однако в других случаях, где в плацентах был выявлен плацентит, ПЦР-тесты плодов оказались негативными. Подобные результаты представлены в работах других авторов [5,6], где описаны воспалительные изменения в плаценте при COVID-19 при отсутствии вертикальной передачи вируса. В литературе описаны защитные механизмы, препятствующие вертикальной передаче вируса SARS-CoV-2 благодаря снижению активности и концентрации в плаценте ангиотензинпревращающего фермента типа II (ACE2) и трансмембранной сериновой протеазы типа 2 (TMPRSS2). Несмотря на это, авторы отмечали вероятность мальперфузии материнских сосудов в плаценте [8]. Нами отмечены следующие изменения в стенках артериол: утолщение, фибриноидный некроз, повреждение эндотелия с пролиферативными реакциями в стенке артериолы, суживающими ее просвет.

К 3 группе отнесли плаценты семи антенатально погибших плодов на 14, 26, 30, 34, 36, 39 и 41 неделях гестации. Постковидный интервал (промежуток времени от диагностирования COVID-19 до родов) в 3 группе составил от 1 до 13 недель. Во всех случаях в плацентах 3 группы (в отличие от первой) наблюдали прогрессирующее сужение просвета артериол, приводящее к их тотальной облитерации. В трех из семи случаев при антенатальной гибели плода, наступившей через 10–12 недель после перенесенного матерью COVID-19, в плацентах были выявлены пролиферативные изменения с формированием перегородок в просвете артериолы и появлением нескольких новообразованных просветов сосудов. Возможно, это является одним из компенсаторных механизмов – реваскуляризацией, цель которой – восстановление просвета в артериоле, что подтверждается наличием подобных изменений во 2 группе (5 случаев – 29,4 %; ДИ: 9,7–54,5 %) при отсутствии таковых в 1 группе.

Плаценты 2 группы отличались от плацент первой облитерацией просветов отдельных артериол, фибриноидными некрозами стромы стволовых ворсин и увеличением количества фибриноида в межворсинчатом пространстве, а также менее выраженными дисциркуляторными расстройствами. В отличие от 3 группы, здесь были выявлены компенсаторные реакции в виде расширенного просвета сохранных артериол и увеличения количества синцитиальных почек. При этом в отдельных артериолах сохранялись пролиферативные изменения. Интересен тот факт, что, несмотря на морфологические изменения в этой группе плацент, трактуемые как плацентарная недостаточность, средняя масса тела при рождении новорожденных (г) была  $4106 \pm 35,6$ ; а состояние при рождении было оценено по шкале Апгар в 8–9 баллов. Невзирая на это, в двух случаях клиницистами при ультразвуковом исследовании выявлено многоводие после перенесенной матерью коронавирусной болезни.

Отметили, что состояние плода при рождении не зависело от тяжести течения коронавирусной болезни у матери. В случае рождения новорожденного с позитивным ПЦР-тестом, 3–4 баллами по шкале Апгар, отмечено легкое течение болезни у матери, тогда как в 7 случаях рождения новорожденных с негативным ПЦР-тестом, 7–8 баллами по шкале Апгар, у матерей было тяжелое течение заболевания COVID-19 (двусторонняя пневмония). Однако, независимо от тяжести болезни матери, все плаценты характеризовались увеличением количества фибриноида и синцитиальных почек, а также воспалительными изменениями, выраженными в разной степени. Вероятно, компенсаторные механизмы в виде ангиоматоза, обнаруженного в 44,8 % наблюдениях (95 % ДИ: 26,7–63,7 %), и гиперплазии терминальных ворсин позволяли обеспечить адекватное плацентарно-плодовое кровообращение [12]. Подобные изменения преобладали в 1 группе наблюдений, тогда как во 2 группе отмечено диссоциированное созревание ворсин хориона (участки гиперплазии терминальных ворсин чередовались с задержкой их созревания). Однако это не было предметом нашего исследования

и нуждается в дальнейшем изучении и, возможно, связано с повреждением створовых и полустворовых ворсин хориона вследствие коронавирусной болезни COVID-19. В частности, увеличение фибриноида по периметру полустворовых ворсин не дает возможности дальнейшего пространственного роста хориона с образованием терминальных ворсин, проявляется задержкой созревания плаценты. Вероятно, от возможности созревания ворсин хориона после болезни зависит исход беременности. Это подтверждается различием в сроках диагностирования COVID-19 в 1 группе (с 34 по 39 неделю гестации, медиана – 36,5) и при антенатальной асфиксии (с 13 по 32 неделю, медиана – 24,5;  $p_{1-3} = 0,0004$ ) (рис. 2). Мы не выявили ни одного случая антенатальной асфиксии, где COVID-19 диагностирован после 34 недели гестации, что объясняется компенсаторными механизмами зрелой плаценты со сформированными терминальными ворсинками, тогда как COVID-19, диагностированный во втором триместре, влечет за собой плацентарную дисфункцию – острую, возникающую через 1–2 недели, связанную с плацентитом, или хроническую, формирующуюся в более поздние сроки, в результате атеросклероза створовых ворсин и нарушения созревания плаценты.

Описано течение пневмонии при COVID-19 с последовательной сменой клинико-морфологических фаз: экссудативная стадия с развитием фульминантной фазы COVID-19 интерстициальной пневмонии, пролиферативная стадия с развитием персистирующей фазы и фибротической [4]. Особенность последней – развитие тотального интраальвеолярного и интерстициального фиброза, приводящего к дыхательной недостаточности. Максимальную выраженность экссудативной фазы авторы отмечали на 3 день, пролиферация достигала максимума с 8 по 20 день, с 8 дня отмечали начало интерстициального фиброза, максимальная выраженность которого проявлялась к 29 дню от начала заболевания [4]. Аналогичную последовательную смену фаз воспалительного процесса мы смогли наблюдать и в плаценте, что объясняло отличия в морфологии плацент в зависимости от постковидного интервала. Преобладание дисциркуляторных расстройств (стазы, кровоизлияния) и выраженная лейкоцитарная инфильтрация в плаценте первой группы соответствовали фазе экссудации, появление пролиферативных реакций в стенках артериол – начале второй фазы, пролиферации, а облитерация просветов артериол (артериосклероз), наиболее выраженная в плацентах 3 группы (при антенатальной гибели плодов), свидетельствовала о развитии фиброза. Прогрессирование фиброза от момента диагностирования COVID-19 объясняло антенатальную гибель плодов через 1–17 недель после болезни. Из этого следует, что коронавирусная болезнь COVID-19 у матери во втором триместре беременности является фактором риска по перинатальным потерям, которые обусловлены описанными выше изменениями плаценты с увеличением длительности постковидного интервала.

## Выводы

1. Между исследуемыми группами выявлены статистически значимые различия: в 1 группе преобладал хориоамнионит (в 28 случаях (96,6 %); доверительный интервал: 86,4–100 %;  $p_{1,2} = 0,004$ ); во 2 и 3 группах – атеросклероз (13 случаев (76,5 %); доверительный интервал: 52,2–93,9 %;  $p_{1,2} = 0,0003$  и 7 случаев, доверительный интервал (ДИ): 100 % (75,7–100,0 %;  $p_{1,3} = 0,001$  соответственно). Выявленные структурные изменения плаценты при коронавирусной болезни COVID-19 зависели от длительности постковидного интервала и обусловлены последовательной сменой фаз воспалительного процесса: альтерации, экссудации и пролиферации с последующим фиброзом.

2. Формирование острой плацентарной недостаточности при коронавирусной болезни, диагностированной за 1–6 недель до родов, связано с развитием выраженных дисциркуляторных расстройств и острой экссудативной воспалительной реакции разной степени выраженности. Формирование хронической плацентарной недостаточности связано с пролиферативной стадией воспаления. Указанные изменения приводят к развитию фиброза стенок артериол и межворсинчатого пространства.

3. Наиболее существенные структурные изменения плаценты, ведущие к плацентарной недостаточности, наблюдали во 2 группе – в сроках инфицирования в период 23–33 недели беременности. Коронавирусная болезнь COVID-19 у матери во втором триместре беременности является фактором риска по перинатальным потерям, которые обусловлены описанными выше изменениями плаценты с увеличением длительности постковидного интервала.

**Перспективы дальнейших исследований.** Нами изучены изменения в плаценте при COVID-19 в конце второго, третьем триместрах беременности. Дальнейшие исследования интересны тем, что в настоящее время на исследование поступают плаценты при диагностированном у беременных COVID-19 в более ранние сроки (первый, начало второго триместра), что связано с пиком заболеваемости в ноябре – декабре 2020 года. Продолжается набор материала, проводится анализ данных анамнеза, сопоставляются патоморфологические изменения плаценты с состоянием плода при рождении для создания протокола по ведению беременности при коронавирусной болезни (COVID-19) в анамнезе. Наиболее интересным и требующим изучения остается вопрос вертикальной передачи вируса, защитных и компенсаторных возможностей плаценты.

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках НИР Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца «Розробка науково обґрунтованих критеріїв патоморфозу і морфологічної діагностики соціально значущої інфекційної патології, серцево-судинних хвороб, захворювань жіночої репродуктивної системи», № держреєстрації 0119U103946.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

**Благодарности**

Заведующому відділенню дитячої патологічної анатомії НДСЛ «ОХМАТДИТ» МЗ України В. Н. Жежеру, врачам М. Б. Чистякової, Н. Л. Савостикової, лаборантам за допомогу в наборі матеріала. Врачам КНП «КГРДЗ», перинатального центра, МЦ ADONIS (г. Киев, Украина) за предоставление полной клинической информации о пациентах.

Надійшла до редакції / Received: 23.02.2021

Після доопрацювання / Revised: 19.07.2021

Прийнято до друку / Accepted: 30.07.2021

**Сведения об авторах:**

Савчук Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии № 2, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

ORCID ID: [0000-0002-7218-0253](https://orcid.org/0000-0002-7218-0253)

Гичка С. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии № 2, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

ORCID ID: [0000-0002-6821-0085](https://orcid.org/0000-0002-6821-0085)

Лещенко И. В., старший преподаватель каф. физиологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина

**Відомості про авторів:**

Савчук Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії № 2, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Гичка С. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії № 2, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Лещенко І. В., старший викладач каф. фізіології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

**Information about authors:**

Savchuk T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy 2, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Gychka S. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy 2, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Leshchenko I. V., Senior Lecturer of the Department of Physiology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

**Список литературы**

- [1] Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody / X. Tian, C. Li, A. Huang et al. *Emerging microbes & infections*. 2020. Vol. 9, Iss. 1. P. 382-385. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729069>
- [2] Вартанян А. А., Косорук В. С. Пироптоз – воспалительная форма клеточной гибели. *Клиническая онкогематология*. 2020. Т. 13, № 2. С. 129-135.
- [3] Патогенез COVID-19 / А. Е. Абагуров, Е. А. Агафонова, Е. Л. Кривуша, А. А. Никулина. *Здоров'я дитини*. 2020. Т. 15, № 2. С. 133-144. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.15.2.2020.200598>
- [4] Патологическая анатомия легких при новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Предварительный анализ аутопсийных исследований / Ф. Г. Забозлаев, Э. В. Кравченко, А. Р. Галлямова, Н. Н. Летуновский. *Клиническая практика*. 2020. Т. 11, № 2. С. 21-37. <https://doi.org/10.17816/clinpract34849>
- [5] Vertical transmission of SARS-CoV-2 infection and preterm birth / B. Pulinx, D. Kieffer, I. Michiels et al. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2020. Vol. 39, Iss. 12. P. 2441-2445. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03964-y>
- [6] Probable congenital SARS-CoV-2 infection in a neonate born to a woman with active SARS-CoV-2 infection / M. Kirtsman, Y. Diambomba, S. M. Poutanen et al. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal*. 2020. Vol. 192, Iss. 24. E647-E650. <https://doi.org/10.1503/cmaj.200821>
- [7] Komine-Aizawa S., Takada K., Hayakawa S. Placental barrier against COVID-19. *Placenta*. 2020. Vol. 99. P. 45-49. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.07.022>
- [8] Assessment of Maternal and Neonatal SARS-CoV-2 Viral Load, Transplacental Antibody Transfer, and Placental Pathology in Pregnancies During the COVID-19 Pandemic / A. G. Edlow, J. Z. Li, A. Y. Collier et al.




- al. *JAMA network open*. 2020. Vol. 3, Iss. 12. e2030455. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.30455>
- [9] TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein / A. Heurich, H. Hofmann-Winkler, S. Gierer et al. *Journal of virology*. 2014. Vol. 88, Iss. 2. P. 1293-1307. <https://doi.org/10.1128/JVI.02202-13>
- [10] Савчук Т. В., Лещенко І. В. Патоморфологічні особливості плаценти з COVID-19 в анамнезі у різні терміни вагітності. *Today's problems in medicine, pharmacy and dentistry* : International scientific and practical conference, December 17-18, 2020. Arad. P. 174-178.
- [11] Савчук Т. В., Лещенко І. В., Савостикова Н. Л. Патоморфологічні зміни плаценти при вагітностях з COVID-19 в анамнезі. Власні спостереження. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2020. № 3. С. 63-67.
- [12] Савчук Т. В., Куркевич А. А., Лещенко І. В. Клинико-патологоанатомический анализ случая синдрома левосторонней гипоплазии сердца у одного из близнецов при беременности, наступившей с применением экстракорпорального оплодотворения. Собственное наблюдение. *Georgian Medical News*. 2020. № 307. С. 62-68.

**References**

- [1] Tian, X., Li, C., Huang, A., Xia, S., Lu, S., Shi, Z., Lu, L., Jiang, S., Yang, Z., Wu, Y., & Ying, T. (2020). Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerging microbes & infections*, 9(1), 382-385. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729069>
- [2] Vartanyan, A. A., & Kosorukov, V. S. (2020). Piroptoz – vospalitel'naya forma kletочноi gibel'i [Pyroptosis as inflammatory cell death]. *Clinical oncology*, 13(2), 129-135. [in Russian].
- [3] Abaturov, A. E., Agafonova, E. A., Krivusha, E. L., & Nikulina, A. A. (2020). Patogenez COVID-19 [Pathogenesis of COVID-19]. *Zdorovia dityni*, 15(2), 133-144. [in Russian]. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.15.2.2020.200598>
- [4] Zabozlaev, F. G., Kravchenko, E. V., Gallyamova, A. R., & Letunovsky, N. N. (2020). Patologicheskaya anatomiya legkikh pri novoi koronavirusnoi infektsii (COVID-19). Predvaritel'nyi analiz avtopsiyinykh issledovaniy [Pulmonary pathology of the new coronavirus disease (COVID-19). The preliminary analysis of post-mortem findings]. *Klinicheskaya praktika*, 11(2), 21-37. [in Russian]. <https://doi.org/10.17816/clinpract34849>
- [5] Pulinx, B., Kieffer, D., Michiels, I., Petermans, S., Strybol, D., Delvaux, S., Baldewijns, M., Raymaekers, M., Cartuyvels, R., & Maurissen, W. (2020). Vertical transmission of SARS-CoV-2 infection and preterm birth. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 39(12), 2441-2445. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03964-y>
- [6] Kirtsman, M., Diambomba, Y., Poutanen, S. M., Malinowski, A. K., Vlachodimitropoulou, E., Parks, W. T., Erdman, L., Morris, S. K., & Shah, P. S. (2020). Probable congenital SARS-CoV-2 infection in a neonate born to a woman with active SARS-CoV-2 infection. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal*, 192(24), E647-E650. <https://doi.org/10.1503/cmaj.200821>
- [7] Komine-Aizawa, S., Takada, K., & Hayakawa, S. (2020). Placental barrier against COVID-19. *Placenta*, 99, 45-49. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.07.022>
- [8] Edlow, A. G., Li, J. Z., Collier, A. Y., Atyeo, C., James, K. E., Boatin, A. A., Gray, K. J., Bordt, E. A., Shook, L. L., Yonker, L. M., Fasano, A., Diouf, K., Croul, N., Devane, S., Yockey, L. J., Lima, R., Shui, J., Matute, J. D., Lerou, P. H., Akinwunmi, B. O., ... Alter, G. (2020). Assessment of Maternal and Neonatal SARS-CoV-2 Viral Load, Transplacental Antibody Transfer, and Placental Pathology in Pregnancies During the COVID-19 Pandemic. *JAMA network open*, 3(12), e2030455. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.30455>
- [9] Heurich, A., Hofmann-Winkler, H., Gierer, S., Liepold, T., Jahn, O., & Pöhlmann, S. (2014). TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *Journal of virology*, 88(2), 1293-1307. <https://doi.org/10.1128/JVI.02202-13>
- [10] Savchuk, T. V., & Leshchenko, I. V. (December 17-18, 2020). Patomorfologichni osoblyvosti platsenty z COVID-19 v anamnezi u rizni terminy vahitnosti [Pathomorphological features of the placenta with a history of COVID-19 at different stages of pregnancy]. *Today's problems in medicine, pharmacy and dentistry*. International scientific and practical conference (pp. 174-178). [in Ukrainian].
- [11] Savchuk, T., Leshchenko, I., & Savostikova, N. (2020). Patomorfologichni zminy platsenty pry vahitnostiakh z COVID-19 v anamnezi. Vlasni sposterezhenia [Pathomorphological changes of the placenta during pregnancy with a history of COVID-19. Own observations]. *Ukrainian scientific medical youth journal*, (3), 63-67. [in Ukrainian].
- [12] Savchuk, T., Kurkevych, A., & Leshchenko, I. (2020). Kliniko-patologo-anatomicheskii analiz sluchaya sindroma levostoronnei gipoplazii serdtsa u odnogo iz bliznetsov pri beremennosti, nastupivshei s primeneniem ekstrakorporal'nogo oplodotvorennya. Sobstvennoe nablyudeniye [Clinical and pathological analysis of the hypoplastic left heart syndrome in one of the twins in pregnancy which occurred using in vitro fertilization. Own observation]. *Georgian medical news*, (307), 62-68. [in Russian].



# Immunohistochemical features of gastrointestinal stromal tumors and the role of expression of p16ink4A, Ki-67, VEGF and MMP-9 in their behavior

I. I. Yakovtsova  \*1,A,E,F, Ya. M. Miroshnychenko  1,2,B,C,D,F,  
T. M. Chertenko  1,C,E

<sup>1</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine, <sup>2</sup>Communal Non-Commercial Enterprise of Merefa City Council "Merefian Central District Hospital", 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:

gastrointestinal stromal tumor, cytoplasmic expression of p16ink4A, MMP-9, Ki-67, VEGF, metastases of gastrointestinal stromal tumors, aggressive behavior of gastrointestinal stromal tumors.

## Pathologia

2021; 18 (2), 136-141

## \*E-mail:

[docpathomorph@gmail.com](mailto:docpathomorph@gmail.com)

**Aim:** to clarify the prognostic value of cytoplasmic p16ink4A, VEGF, MMP-9 and Ki-67 expressions in gastrointestinal stromal tumors (GISTs) and connection of different levels of these markers expression with aggressive transformation of GISTs.

**Materials and methods.** Our study included 36 samples of primary tumors and 10 relapses of GIST and metastases in liver after primary combined treatment (surgery and chemotherapy with imatinib). The immunohistochemical study was performed with 4 primary antibodies: Ki-67, p16ink4A, VEGF and MMP-9. We used formalin fixed and paraffin embedded (FFPE) tissue samples for immunohistochemical study.

**Results.** In our study we showed significant connection between levels of cytoplasmic expression of p16ink4A in primary GISTs and such markers of tumor aggressive behaviour as Ki-67, MMP-9 and VEGF (Fisher's exact P-value = 0.000753; 0.000101 and 0.000048 respectively).

Between cytoplasmic expression of p16ink4A and VEGF and also between p16ink4A and MMP-9 strong direct correlation was found ( $\gamma = 0.829$ ,  $P < 0.05$  and  $r_s = 0.961$ ,  $P < 0.05$  respectively). The correlation between expression of Ki-67 and p16ink4A was also direct and strong ( $r_s = 0.754$ ,  $P < 0.05$ ), but with some exclusions, that's why this correlation needs further investigation in larger groups with preciser molecular analysis. Analysis of metastatic GISTs samples showed prominent levels of MMP-9 and VEGF expression.

**Conclusions.** Our study has shown very important role of cytoplasmic expression of p16ink4A in GIST as one of the markers of aggressive behavior, which can be used in complex with other markers for more accurate prognosis of GISTs progression. Prominent levels of MMP-9 and VEGF expression in metastatic GISTs can be a marker of resistance to imatinib. So probably evaluation of MMP-9 and VEGF expression can be used as a tool for correct choice of chemotherapy for patients with GISTs.

## Ключові слова:

гастроінтестинальна стромальна пухлина, цитоплазматична експресія p16ink4A, MMP-9, Ki-67, VEGF, метастази гастроінтестинальної стромальної пухлини, агресивна поведінка гастроінтестинальної стромальної пухлини.

## Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 136-141

## Імуногістохімічні особливості гастроінтестинальних стромальних пухлин і роль експресії p16ink4A, Ki-67, VEGF і MMP-9 у поведінці цих пухлин

I. I. Яковцова, Я. М. Мірошніченко, Т. М. Чертенко

**Мета роботи** – з'ясувати прогностичне значення цитоплазматичної експресії p16ink4A та експресії таких маркерів, як VEGF, MMP-9 і Ki-67 при гастроінтестинальних стромальних пухлинах (ГІСП), виявити зв'язок різних рівнів експресії цих маркерів з агресивною поведінкою ГІСП.

**Матеріали та методи.** Дослідження включало 36 випадків первинних ГІСП і 10 випадків метастазів ГІСП у печінку після первинної комбінованої терапії (хірургічне видалення пухлини та терапія іматинібом), що представлені матеріалом пухлин у парафінових блоках, із них робили зрізи для імуногістохімічного дослідження з маркерами p16ink4A, VEGF, MMP-9 і Ki-67.

**Результати.** Виявили статистично значущий зв'язок між рівнем цитоплазматичної експресії p16ink4A в первинних ГІСП і такими маркерами агресивної поведінки, як Ki-67, MMP-9 і VEGF (р-значення за точним критерієм Фішера становило 0,000753, 0,000101 і 0,000048 відповідно).

Між цитоплазматичною експресією p16ink4A і VEGF, а також між p16ink4A і MMP-9 встановили сильний прямий кореляційний зв'язок ( $\gamma = 0,829$ ,  $p < 0,05$  та  $r_s = 0,961$ ,  $p < 0,05$  відповідно). Прямий і сильний ( $r_s = 0,754$ ,  $p < 0,05$ ) кореляційний зв'язок визначили також між експресією Ki-67 і p16ink4A. Аналіз метастатичних ГІСП показав значущу експресію MMP-9 і VEGF.

**Висновки.** Результати дослідження показали, що рівень експресії p16ink4A корелює з рівнем експресії інших маркерів агресивної поведінки пухлин – Ki-67, MMP-9 і VEGF.

Тому оцінювання експресії p16ink4A можна застосовувати для прогнозування перебігу ГІСП. Значуща експресія MMP-9 і VEGF у метастатичних ГІСП може бути маркером резистентності до іматинібу. Отже, ймовірно, оцінювання експресії MMP-9 і VEGF можна використовувати для коректного призначення хіміотерапії пацієнтам із ГІСП.

## Иммуногистохимические особенности гастроинтестинальных стромальных опухолей и роль экспрессии p16ink4A, Ki-67, VEGF и MMP-9 в поведении этих опухолей

И. И. Яковцова, Я. Н. Мирошниченко, Т. Н. Чертенко

**Цель работы** – уточнение прогностического значения цитоплазматической экспрессии p16ink4A и экспрессии таких маркеров, как VEGF, MMP-9 и Ki-67 при гастроинтестинальных стромальных опухолях (ГИСО), установление связи между разными уровнями экспрессии этих маркеров и агрессивным поведением ГИСО.

**Материалы и методы.** Исследование включало 36 случаев первичных ГИСО и 10 случаев метастазов ГИСО в печень после комбинированной терапии (хирургического удаления опухоли и терапии иматинибом), представленных материалом опухолей в парафиновых блоках, из которых в последующем делали срезы для иммуногистохимического исследования с маркерами p16ink4A, VEGF, MMP-9 и Ki-67.

**Результаты.** Установлена статистически значимая связь между уровнем цитоплазматической экспрессии p16ink4A в первичных ГИСО и такими маркерами агрессивного поведения опухолей, как Ki-67, MMP-9 и VEGF (p-значение точного критерия Фишера составило 0,000753, 0,000101 и 0,000048 соответственно).

Между цитоплазматической экспрессией p16ink4A и VEGF, а также между p16ink4A и MMP-9 установлена сильная прямая корреляционная связь ( $\gamma = 0,829$ ,  $p < 0,05$  и  $r_s = 0,961$ ,  $p < 0,05$  соответственно). Корреляционная связь между экспрессией Ki-67 и p16ink4A также прямая и сильная ( $r_s = 0,754$ ,  $p < 0,05$ ). Анализ метастатических ГИСО выявил значительную экспрессию MMP-9 и VEGF.

**Выводы.** Результаты исследования показали, что уровень экспрессии p16ink4A коррелирует с уровнем экспрессии других маркеров агрессивного поведения опухолей – Ki-67, MMP-9 и VEGF. Поэтому оценка экспрессии p16ink4A может быть использована для прогноза течения ГИСО. Выраженная экспрессия MMP-9 и VEGF в метастатических ГИСО может быть маркером резистентности к иматинибу. Поэтому, вероятно, оценку экспрессии MMP-9 и VEGF можно использовать для корректного назначения химиотерапии пациентам с ГИСО.

### Ключевые слова:

гастроинтестинальная стромальная опухоль, цитоплазматическая экспрессия p16ink4A, MMP-9, Ki-67, VEGF, метастазы гастроинтестинальной стромальной опухоли, агрессивное поведение гастроинтестинальной стромальной опухоли.

Патология. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 136-141

Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most common mesenchymal tumors of digestive tract [1]. These tumors have variable behavior; many of them are characterized by indolent course. However, at the same time, there are too less histological criteria, that allow to predict progression of GISTs. Criteria that were used in last histological classification of digestive system tumors include mitotic rate, tumor size and tumor site of location and only 1<sup>st</sup> criterion in this list is histological. Probably due to this fact all GISTs in last classification are coded as malignant tumors (8936/3) [1,2].

Immunohistochemical analysis is a useful tool in routine pathomorphological practice that helps to put more accurate diagnosis and choose correct treatment for patients. There is a specter of immunohistochemical markers that shows the aggressive potential of different tumors, such as the ability of a tumor to invasion (MMP-9), angiogenesis (VEGF) and proliferative activity (Ki-67). In different studies, there were shown effectiveness of Ki-67, VEGF and MMP-9 as powerful predictive markers of GISTs outcome, but there are no studies, that investigated the role of these markers in tumor progression in complex.

In research paper from 2014 it was shown, that Ki-67 index more than 8 % can be an exact factor of worse prognosis and poor response for иматиниб treatment for patients with primary GISTs [3]. Naiqing Liu et al. in their study of 52 primary GISTs show that the expression levels of MMP-9 and VEGF were significantly higher in malignant GIST than that in benign GIST. Their expression levels were associated with the GIST tumor size, invasion and metastasis, mitotic count and central necrosis [4,5].

The situation with such a marker as p16ink4A is more ambiguous. P16ink4a is a particularly potent effector of cell cycle progression that functions in concert with CDK4/Cyclin D and RB in coordinating proliferation. Application of immunohistochemical analysis with p16ink4A can be

used as a novel biomarker for the detection of cancer cells in early stages [6]. The high-level expression of p16ink4a in tumors is associated with aggressive subtypes of disease, and in certain clinical settings elevated p16ink4a expression is an important determinant for disease prognosis and therapeutic response [6–8]. Some authors have shown that there are 2 patterns of p16ink4A expression in GISTs: nuclear and cytoplasmic. Each of these patterns plays an independent role in progression of GISTs. Haller et al. in their study confirmed that the low nuclear expression of p16ink4a and high cytoplasmic expression of p16ink4A in tumor cells are independently associated with progression in GISTs [7]. But in their study they also said that for the quality of nuclear expression of p16ink4a can influence different factors, such as the age of individual tumor samples, in contrast to it cytoplasmic expression was more stable and non-tumor cells had never shown cytoplasmic expression of p16ink4a [7]. Other authors have shown that the nuclear expression of p16ink4a with or without cytoplasmic expression was higher in GISTs with the shortest recurrence free period [9,10]. This data contradicts partially to Haller's results, because told about the role of high nuclear expression in tumor progression. However, if to study this data more careful, we can see that authors didn't mention what percentage of tumors in their group have cytoplasmic expression of p16ink4a, that's why we are not able to totally exclude role of cytoplasmic expression of p16ink4a in aggressive behavior of GISTs.

There are also no complex studies, that have shown the role of p16ink4A, Ki-67, VEGF and MMP-9 expression not only in primary GISTs, but also in their metastases. However, this information will be very useful not only for understanding the biological characteristics of metastases of GISTs, but also for evaluation of effectiveness of treatment and for choosing the better strategy of therapy.

## Aim

To investigate aggressive potential of primary GISTs by examining expression of Ki-67, MMP-9, VEGF and p16ink4A in these tumors. In addition, to study the levels of expression of these markers in metastases of GISTs obtained from patients who underwent chemotherapy with imatinib. Since p16ink4A is not a popular marker of aggressive potential, but it plays a crucial role in oncogenesis, we put as an aim of this research to determine the role of different levels of cytoplasmic expression of p16ink4A in GIST behavior by comparing expression of this marker with expression of well-studied markers of tumor proliferative activity (Ki-67), invasiveness (MMP-9) and neoangiogenesis (VEGF).

## Materials and methods

The study was performed on formalin fixed and paraffin embedded (FFPE) tumor samples of GISTs. The material included tumor samples of primary GISTs obtained from 36 patients, who have undergone surgical excision of tumors and tumor samples of metastases of GISTs in liver from 10 patients, who were treated with imatinib after surgical excision of primary tumor. Postoperative tumor material was obtained from pathology departments of "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine and "National Cancer Institute", Kyiv, Ukraine. All surgical resections were performed between 2016 and 2019.

Eligibility criteria included the availability of follow-up data at least for a year after surgical resection of primary tumor and information about treatment for patients with metastases, good quality and sufficient quantity of tumor material for immunohistochemical analysis, positive immunohistochemical staining with CD117 and DOG-1 confirming diagnosis GIST. We divided primary tumor samples by location on gastric and non-gastric sites and by size into 4 groups:  $\leq 2$  cm;  $> 2$  cm to  $\leq 5$  cm;  $> 5$  cm to  $\leq 10$  cm and  $> 10$  cm. Such a subdivision was based on prognostic parameters given by United States Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) and recommended in last WHO classification of digestive system tumors (2019) [1].

The immunohistochemical study was performed with 4 primary antibodies: Ki-67, p16ink4A, VEGF and MMP-9. The characteristics of these antibodies are given in *Table 1*. We used formalin fixed and paraffin embedded (FFPE) tissue samples for immunohistochemical study. The whole study was performed according to the Dako protocol for manual IHC staining.

Quantitative method was used for evaluation of Ki-67, MMP-9 and p16ink4A expression.

Ki-67 score was expressed as the percentage of the number of immunopositive nuclei among the total number of nuclei of tumor cells regardless of the immunostaining intensity. The counting was performed in three areas of most intensive staining ("hot spot" areas) at  $\times 400$  magnification. The expression of proliferation index Ki-67 is categorized into 3 groups:  $\leq 5$  % positive cells, 6–8 % positive cells and  $> 8$  % positive cells according to cutoff levels given in Wen-Yi Zhao and coauthors study of 418 GISTs in 2014 [3].

MMP-9 expression was also evaluated with use of quantitative method and then divided into groups: score 0 – negative staining with MMP-9, score 1 – percentage of positive cells less than 30 %, score 2 – percentage of positive cells between 30 % and 70 %, score 3 – percentage of positive cells more than 70 % [5].

Expression of p16ink4A was calculated as the percentage of the number of immunopositive cells (positive cytoplasmic staining with or without nuclear staining) among the total number of tumor cells in three areas of most intensive staining (in cases of heterogeneous expression) at  $\times 400$  magnification. Then all cases were subdivided into groups according to Remmele and Stegner method [11] and important cutoff value at 10 %: score 0 (-) – negative staining with p16ink4A, score 1 (+) – 1 % to 9 % of positive cells, score 2 (++) – 10 % to 49 %, score 3 (+++) – 50 % and more positive cells. We analyzed 2 important groups in our study: negative or low (+) expression of p16ink4A compared to moderate (++) or high (+++) expression of p16ink4A.

The semiquantitative approach was used for the assessment of VEGF expression. The granular cytoplasmic expression of VEGF was scored in such a scale: score 0 (-) – no expression, score 1 (+) – weak positive staining, score 2 (++) – positive staining, score 3 (+++) – strong positive staining [5].

Results were visualized and photographed using light microscope (ZEISS Primo Star, ZEISS Axiocam ERc5).

The relationship between different clinicopathological parameters of tumors were estimated using the Fisher's exact test (Fisher's exact P-value  $< 0.05$ ). Spearman's rank correlation and Gamma coefficients were used for the measurement of rank correlation between quantitative variables and between quantitative and semiquantitative variables, respectively. An extensive parameter (%) was used to describe qualitative characteristics. All statistical analyses were performed using Microsoft Excel 2013 and MedCalc.

The design of the study and all the methods used in the study were approved by the Bioethics Committee of the above institutions and complied with the requirements of the Declaration of Helsinki. Such clinicomorphological criteria as gender, site of tumor and its size were obtained from case histories, where we analyzed surgical protocols, data about chemotherapy and data from histological conclusions.

## Results

**Primary GISTs.** We divided primary GISTs into 2 groups using as a cutoff value 10 % of p16ink4A positive cells in tumor sample. The first group included 19 patients with score 0 (-) or score 1 expression of p16ink4A. The second group consists of 17 patients with expression of p16ink4A  $\geq 10$  % (score 2 and 3). The aim of such subdivision was to find the relationship between different clinicopathological parameters of GISTs and p16ink4A expression. Gender of study objects was well matched. Some parameters as tumor location, size, proliferative index, expression of MMP-9 and VEGF according to multiple data play role in risk of tumor progression. All data that we get are shown in *Table 2*. As we see from this table the statistically signifi-

ificant results with P exact value < 0.001 were given only for Ki-67 expression and p16ink4A, for VEGF expression and p16ink4A, for MMP-9 expression and p16ink4A.

Spearman's rank correlation coefficient was used to show exact relationship between p16ink4A expression and other immunohistochemical parameters of tumor aggressive behavior (Ki-67, MMP-9). Gamma coefficient was used for description of relationships between semiquantitative parameters as VEGF expression and quantitative variables such as expression of p16ink4A.

We obtained the following results. The direct very strong relationship according to Chedock's scale was found between expression of MMP-9 and expression of p16ink4A in primary GISTs ( $r_s = 0.961$ ,  $P < 0.05$ ). This result means that with the elevation of MMP-9 expression the expression of p16ink4A will also rise.

The direct strong relationship according to Chedock's scale was found between expression of VEGF and p16ink4A in primary GISTs ( $\gamma = 0.829$ ,  $P < 0.05$ ).

Almost the same results were obtained between expression of Ki-67 and p16ink4A ( $r_s = 0.754$ ,  $P < 0.05$ ), but here relationship was strong compared with very strong relationships in previous calculations. Additionally, we have to describe some cases those were not typical for general results. We had one case with quite high expression of Ki-67 (38 %), but low expression of p16ink4A (8 %). Expression of VEGF in this case was moderate (++) and expression of MMP-9 was 50 %. But this tumor had size of 6.5 cm and was localized in stomach, so using prognostic criteria given in WHO histological classification of digestive system tumors [1] risk of progression for this tumor is 55 % compared to 85 % for similar tumor with intestinal location. The next 2 cases were in group with Ki-67  $\leq 8$  %. These tumors had high expression of p16ink4A (31 % and 95 %, respectively). Both tumors are localized in small intestine, their size were less than 5cm, expression of MMP-9 were 15 % and 78 %, respectively. So if we take into account all clinicopathological features of these tumors, we will see that despite of low Ki-67, expression of MMP-9 and tumor location besides of expression of p16ink4A can show that these tumors have quite prominent risk of tumor progression.

**Metastatic GISTs.** For group of metastatic GISTs we got following results. The expression of all markers in metastatic GISTs were heterogenous with areas of higher expression and with areas where expression was quite low. The mean expression of Ki-67 was  $8.4 \pm 2.9$  %. All metastatic GISTs in our study had p16ink4A expression lower than 10 % ( $5.2 \pm 2.7$  %). At the same time, expression of VEGF and MMP-9 were quite prominent. 6 GISTs among 10 showed strong positive staining with VEGF (+++) and 4 GISTs (4/10) had moderate expression of VEGF (++) . The levels of MMP-9 expressions were very variable. The mean expression of MMP-9 in metastatic GISTs was  $38 \pm 30$  %. Due to small amount of cases in group of metastatic GISTs we didn't make any correlation analysis here.

## Discussion

In our study we have shown the direct strong relationship between moderate and high expression of p16ink4A and

**Table 1.** List of primary antibodies used in our study

Primary antibody	Clon	Dilution	Manufacturer
MMP-9	Ab-1 GE-213	1:200	ThermoFisher Scientific, USA
Ki-67	SP6	1:400	ThermoFisher Scientific, USA
VEGF	JH121	1:20	ThermoFisher Scientific, USA
P16ink4A	1D7D2	1:200	ThermoFisher Scientific, USA

**Table 2.** Clinicopathological features of primary GISTs and their relationships with cytoplasmic p16ink4A expression

Clinicopathological characteristics	p16ink4A cytoplasmic staining (-/+) (number of cases)	p16ink4A cytoplasmic staining (++/+++)(number of cases)	P value
<b>Gender</b>			
Male	11	7	0.34311
Female	8	10	
<b>Tumor site</b>			
Stomach	8	3	0.15596
Non-gastric site	11	14	
<b>Tumor size (cm)</b>			
$\leq 2$	3	1	0.138
>2 to $\leq 5$	10	7	
>5 to $\leq 10$	6	5	
>10	0	4	
<b>Ki-67 expression (%)</b>			
$\leq 5$	11	2	0.000753*
6-8	4	0	
>8	4	15	
<b>VEGF expression</b>			
-/+	15	1	0.000048*
++	4	6	
+++	0	10	
<b>MMP-9 expression</b>			
Score 0	11	0	0.000101*
Score 1	7	2	
Score 2	1	10	
Score 3	0	5	

\*: P-value <0.001 (Fisher's exact test).

important markers of aggressive potential of tumors, such as Ki-67 (proliferative index), MMP-9 (invasive capacity) and VEGF (the marker of angiogenesis in tumors). Recent data has shown that expression of cell cycle regulators such as cyclin D1, CDK4 and p16ink4A is associated with high risk of GIST recurrence [12,13]. Shaffer and coauthors in their paper demonstrated significant association between strong and diffuse p16 protein expression in GISTs and loss of MAX or p16ink4A coding sequence mutations. At the same paper they said that inactivation of MAX gene is a common event in GIST progression [14].

The investigation of cytoplasmic expression of p16ink4A in GISTs was one of our main issues, because the role of cytoplasmic expression in GISTs is not enough elucidated in scientific papers. Only F. Haller et al. in their article described the cytoplasmic expression of p16ink4A as an independent factor of worse prognosis in GISTs [7]. Other authors studied only nuclear expression of p16ink4A in GISTs [9,10] and very often did not take into account the presence or absence of cytoplasmic expression in their cases [10]. However, the independent role of cytoplasmic expression of p16ink4A as a factor of poor prognosis were described in such tumors as laryngeal

squamous cell carcinomas (SCC) [11], neuroendocrine tumors of digestive system [15] and concurrent nuclear and cytoplasmic overexpression of p16ink4A in diffuse gliomas was associated with a worse outcome [16]. Moreover, the latest data demonstrate, that cytoplasmic p16ink4A is not an artefact and can be involved in the dissociation of focal adhesions, and then related to the cell invasion [8]. Our finding supports this position to show direct strong correlation between levels of MMP-9 and p16ink4A in tumor cells. Additionally, S. Mendaza et al. found relationship between cytoplasmic p16 and Angiotensin II receptor associated protein (AGRAP) [8] that can increase expression of VEGF in tumor cells [17] and due to this pathway stimulate angiogenesis and tumor growth. In our study, we found direct strong correlation between expression of p16ink4A and VEGF. It is also important to mention, that expression of MMP-9 and VEGF are closely related probably due to influence of epidermal growth factor receptor (EGFR) on their production [18]. That is why to discover the molecular connections between cytoplasmic p16ink4A, MMP-9 and VEGF can be an issue of many future studies.

The study of laryngeal squamous cell carcinomas has shown similar association between Ki-67 expression and cytoplasmic p16ink4A, as we got in our study [11]. The expression of cytoplasmic p16 ink4A increased in laryngeal SCC with increasing of tumor grade [11]. But as we saw in some our cases, not always we can see strong correlation between Ki-67 and p16ink4A, that's why expression of these markers has to be analyzed in combination with other clinical and pathological factors of tumor progression. Moreover, additional molecular studies are needed to clarify the connection between Ki-67 and p16ink4A expression.

The metastatic GISTs have shown ambiguous results, from one side they had quite low levels of Ki-67 and p16ink4a expression, from the other side expression of VEGF and MMP-9 were prominent. Probably such results are associated with small number of cases in this group or it can also be a feature of chemotherapeutic effects, because all patients were treated with imatinib. Anyway, it has to be mentioned, that different scientific papers point out that high VEGF expression is associated with low therapeutic response to imatinib and as a result leads to tumor progression [19–21]. We observed in the group of metastatic GISTs quite high expression of VEGF, that probably can be a marker of resistance to imatinib and for those patients therapy with sunitinib is highly recommended. Additionally, we have found the study demonstrating loss of sensitivity to imatinib in p16-deleted metastatic GISTs [22]. Hence, low levels of p16ink4A expression in metastatic GISTs in our study might be a sign of such resistance.

## Conclusions

1. Our study has shown a very important role of cytoplasmic expression of p16ink4A in GIST as one of the markers of aggressive behaviour, which can be used in complex with other markers for a more accurate prognosis of GISTs progression. We showed significant connection between levels of cytoplasmic expression

of p16ink4A in primary GISTs and such markers of tumor aggressive behaviour as Ki-67, MMP-9 and VEGF (Fisher's exact P-value = 0.000753; 0.000101 and 0.000048, respectively). Between cytoplasmic expression of p16ink4A and VEGF and also between p16ink4A and MMP-9 strong direct correlation was found ( $\gamma = 0.829$ ,  $P < 0.05$  and  $r_s = 0.961$ ,  $P < 0.05$  respectively). The correlation between expression of Ki-67 and p16ink4A was also direct and strong ( $r_s = 0.754$ ,  $P < 0.05$ ), but with some exclusions, that's why this correlation needs further investigation in larger groups with preciser molecular analysis.

2. Analysis of metastatic GISTs samples showed prominent levels of MMP-9 and VEGF expression, that can be a marker of resistance to imatinib. So probably evaluation of MMP-9 and VEGF expression can be used as a tool for correct choice of chemotherapy for patients with GISTs. Our study of metastatic GISTs has some limitations due to small number of tumors in this group, that's why further studies in larger groups are needed.

## Acknowledgments

The authors thank the Department of Pathology of "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine and "National Cancer Institute", Kyiv, Ukraine for providing post-operative human gastrointestinal stromal tumors tissue samples. We are also grateful to the Archives of these hospitals for provided access to patients' case histories and follow-up data about their treatment.

## Funding

This study was made as a part of research work: "Pathohistological and immunohistochemical diagnostics and prognosis of malignant tumors of different localisations based on their biological features and clinical course", state registration No. 0117U000594.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.05.2021

Після доопрацювання / Revised: 20.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 07.06.2021

## Information about authors:

Yakovtsova I. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-1027-9215](https://orcid.org/0000-0002-1027-9215)

Miroshnichenko Ya. M., PhD student, Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3742-2851](https://orcid.org/0000-0002-3742-2851)

Chertenko T. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4603-456X](https://orcid.org/0000-0002-4603-456X)

## Відомості про авторів:

Яковцова І. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

Мірошніченко Я. М., аспірантка каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

Чертенко Т. М., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

#### Сведения об авторах:

Яковцова И. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.  
 Мирошниченко Я. Н., аспирант каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.  
 Чертенко Т. Н., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

#### References

- [1] Lokuhetty, D. (2019). Gastrointestinal stromal tumour. In: *WHO Classification of Tumours: Digestive System Tumours*, (5th ed., pp. 439-443). Lyon.
- [2] National Cancer Institute: Surveillance, Epidemiology, and End Result Program. (2011, May 23). *SEER Inquiry System – View*. <https://seer.cancer.gov/seerinqury/index.php?page=view&id=20100014&type=q>
- [3] Zhao, W. Y., Xu, J., Wang, M., Zhang, Z. Z., Tu, L., Wang, C. J., Lin, T. L., Shen, Y. Y., Liu, Q., & Cao, H. (2014). Prognostic value of Ki67 index in gastrointestinal stromal tumors. *International journal of clinical and experimental pathology*, 7(5), 2298-2304.
- [4] Xu, D., Su, C., Guo, L., Yan, H., Wang, S., Yuan, C., Chen, G., Pang, L., & Zhang, N. (2019). Predictive Significance of Serum MMP-9 in Papillary Thyroid Carcinoma. *Open life sciences*, 14, 275-287. <https://doi.org/10.1515/biol-2019-0031>
- [5] Liu, N., Huang, J., Sun, S., Zhou, Z., Zhang, J., Gao, F., & Sun, Q. (2015). Expression of matrix metalloproteinase-9, cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor are increased in gastrointestinal stromal tumors. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(4), 6495-6501.
- [6] Inoue, K., & Fry, E. A. (2018). Aberrant expression of p16<sup>INK4a</sup> in human cancers – a new biomarker?. *Cancer reports and reviews*, 2(2), 10.15761/CRR.1000145. <https://doi.org/10.15761/CRR.1000145>
- [7] Haller, F., Agaimy, A., Cameron, S., Beyer, M., Gunawan, B., Happel, N., Langer, C., Ramadori, G., von Heydebreck, A., & Füzési, L. (2010). Expression of p16INK4A in gastrointestinal stromal tumours (GISTs): two different forms exist that independently correlate with poor prognosis. *Histopathology*, 56(3), 305-318. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2010.03478.x>
- [8] Mendaza, S., Fernández-Irigoyen, J., Santamaría, E., Zudaire, T., Guarch, R., Guerrero-Setas, D., Vidal, A., Santos-Salas, J., Matias-Guiu, X., Ausin, K., Díaz de Cerio, M. J., & Martín-Sánchez, E. (2020). Absence of Nuclear p16 Is a Diagnostic and Independent Prognostic Biomarker in Squamous Cell Carcinoma of the Cervix. *International journal of molecular sciences*, 21(6), 2125. <https://doi.org/10.3390/ijms21062125>
- [9] Ricci, R., Arena, V., Castri, F., Martini, M., Maggiano, N., Murazio, M., Pacelli, F., Potenza, A. E., Vecchio, F. M., & Larocca, L. M. (2004). Role of p16/INK4a in gastrointestinal stromal tumor progression. *American journal of clinical pathology*, 122(1), 35-43. <https://doi.org/10.1309/MJ4X-N2M5-7HNC-8X5H>
- [10] Schmieder, M., Wolf, S., Danner, B., Stoehr, S., Juchems, M. S., Wuerl, P., Henne-Bruns, D., Knippschild, U., Hasel, C., & Kramer, K. (2008). p16 expression differentiates high-risk gastrointestinal stromal tumor and predicts poor outcome. *Neoplasia*, 10(10), 1154-1162. <https://doi.org/10.1593/neo.08646>
- [11] Ciesielska, U., Zatonski, T., Nowinska, K., Ratajczak-Wielgomias, K., Grzegorzolka, J., Piotrowska, A., Olbromski, M., Pula, B., Podhorska-Okolow, M., & Dziegiel, P. (2017). Expression of Cell Cycle-related Proteins p16, p27 and Ki-67 Proliferating Marker in Laryngeal Squamous Cell Carcinomas and in Laryngeal Papillomas. *Anticancer research*, 37(5), 2407-2415. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11580>
- [12] Koga, Y., Iwatsuki, M., Yamashita, K., Kiyozumi, Y., Kurashige, J., Masuda, T., Eto, K., Iwagami, S., Harada, K., Ishimoto, T., Baba, Y., Yoshida, N., Miyanari, N., Takamori, H., Ajani, J. A., & Baba, H. (2019). The role of FBXW7, a cell-cycle regulator, as a predictive marker of recurrence of gastrointestinal stromal tumors. *Gastric cancer*, 22(6), 1100-1108. <https://doi.org/10.1007/s10120-019-00950-y>
- [13] Ihle, M. A., Huss, S., Jeske, W., Hartmann, W., Merkelbach-Bruse, S., Schildhaus, H. U., Büttner, R., Sihto, H., Sundby Hall, K., Eriksson, M., Reichardt, P., Joensuu, H., & Wardelmann, E. (2018). Expression of cell cycle regulators and frequency of TP53 mutations in high risk gastrointestinal stromal tumors prior to adjuvant imatinib treatment. *PLoS one*, 13(2), e0193048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193048>
- [14] Schaefer, I. M., Wang, Y., Liang, C. W., Bahri, N., Quattrone, A., Doyle, L., Mariño-Enríquez, A., Lauria, A., Zhu, M., Debiec-Rychter, M., Grunewald, S., Hechtman, J. F., Dufresne, A., Antonescu, C. R., Beadling, C., Scicsina, E. T., van de Rijn, M., Demetri, G. D., Ladanyi, M., Corless, C. L., ... Fletcher, J. A. (2017). MAX inactivation is an early event in GIST development that regulates p16 and cell proliferation. *Nature communications*, 8, 14674. <https://doi.org/10.1038/ncomms14674>
- [15] Song, L. -J., Zhang, X. -M., Wang, T., Yuan, L., Yue, H., Fu, G. -H., & Shen, W. -W. (2018). Cytoplasmic Expression of P16 is Related to Low Infiltration of CD8+ T cell and Poor Prognosis in Digestive Neuroendocrine Carcinoma. *Journal of Diagnostic Techniques and Biomedical Analysis*, 7(1). <https://doi.org/10.4172/2469-5653.1000125>
- [16] Park, J. W., Kang, J., Lim, K. Y., Kim, H., Kim, S. I., Won, J. K., Park, C. K., & Park, S. H. (2021). The prognostic significance of p16 expression pattern in diffuse gliomas. *Journal of pathology and translational medicine*, 55(2), 102-111. <https://doi.org/10.4132/jptm.2020.10.22>
- [17] Pinter, M., & Jain, R. K. (2017). Targeting the renin-angiotensin system to improve cancer treatment: Implications for immunotherapy. *Science translational medicine*, 9(410), eaan5616. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan5616>
- [18] Regad T. (2015). Targeting RTK Signaling Pathways in Cancer. *Cancers*, 7(3), 1758-1784. <https://doi.org/10.3390/cancers7030860>
- [19] Den Hollander, D., Van der Graaf, W., Desar, I., & Le Cesne, A. (2019). Predictive factors for toxicity and survival of second-line sunitinib in advanced gastrointestinal stromal tumours (GIST). *Acta oncologica*, 58(11), 1648-1654. <https://doi.org/10.1080/0284186X.2019.1637017>
- [20] Basilio-de-Oliveira, R. P., & Pannain, V. L. (2015). Prognostic angiogenic markers (endoglin, VEGF, CD31) and tumor cell proliferation (Ki67) for gastrointestinal stromal tumors. *World journal of gastroenterology*, 21(22), 6924-6930. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i22.6924>
- [21] Fudalej, M. M., & Badowska-Kozakiewicz, A. M. (2021). Improved understanding of gastrointestinal stromal tumors biology as a step for developing new diagnostic and therapeutic schemes. *Oncology letters*, 21(5), 417. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12678>
- [22] Toulmonde, M., Blay, J. Y., Bouche, O., Mir, O., Penel, N., Isambert, N., Duffaud, F., Bompas, E., Esnaud, T., Boidot, R., Geneste, D., Ghiringhelli, F., Lucchesi, C., Bellera, C. A., Le Loarer, F., & Italiano, A. (2019). Activity and Safety of Palbociclib in Patients with Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors Refractory to Imatinib and Sunitinib: A Biomarker-driven Phase II Study. *Clinical cancer research*, 25(15), 4611-4615. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3127>

# Ультразвукове дослідження як метод ранньої «приліжкової» діагностики гострого пошкодження нирок у геріатричних пацієнтів після ургентної абдомінальної хірургії

Н. В. Момот  \*A,B,C,D,E, Н. В. Туманська  A,C,E,F, С. І. Воротинцев  A,C,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:**  
геріатричні пацієнти, гостре пошкодження нирок, нирковий резистивний індекс.

**Патологія.** 2021.  
Т. 18, № 2(52).  
С. 142-151

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

Геріатричні пацієнти особливо схильні до розвитку післяопераційних ускладнень, одним із яких є гостре пошкодження нирок (ГПН). Рання діагностика ГПН – важлива складова ефективності його профілактики та лікування. Вважають, що ультразвукове дослідження ниркового кровотоку може бути перспективним методом «приліжкової» діагностики ГПН.

**Мета роботи** – визначити прогностичну цінність величини ниркового резистивного індексу (RRI) та напівкількісного оцінювання ниркової перфузії (SQP) як методів ранньої діагностики ГПН у геріатричних пацієнтів після ургентної абдомінальної хірургії.

**Матеріали та методи.** У проспективне одноцентрове дослідження залучили 40 пацієнтів (72,5 (65,0; 81,5) року), яким визначали ризик розвитку, наявність і стадію ГПН, додатково вимірювали показники гемодинаміки, внутрішньочеревний тиск (ВЧТ), внутрішньочеревний перфузійний тиск (ВЧПТ). Нирковий резистивний індекс (RRI), SQP визначали за допомогою ультразвукової доплерографії (ультразвуковий датчик CH-6, SIEMENS, Acuson Antares). Статистичний аналіз виконали за допомогою програми Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

**Результати.** В післяопераційному періоді ГПН спостерігали у 26 (65 %) осіб. Порівняно з пацієнтами без ГПН вони мали на 14 % нижчий рівень середнього артеріального тиску ( $p = 0,008$ ), в середньому на 4 мм рт. ст. вищий ВЧТ ( $p = 0,005$ ) та суттєво нижчий ВЧПТ ( $p = 0,0348$ ). У пацієнтів із ГПН RRI на 13,9 % вищий, ніж у хворих без ГПН (0,75 (0,72; 0,81) в. од. проти 0,66 (0,61; 0,69) в. од. відповідно,  $p = 0,000001$ ), але ступінь SQP нирок вірогідно не відрізнявся у групах ( $p = 0,636$ ). Логістичний регресійний аналіз показав, що у хворих із високим RRI в 15 разів частіше виникає ГПН. ROC-аналіз засвідчив, що  $RRI > 0,71$  в. од. є пороговим рівнем для розвитку ГПН із чутливістю 87,2 % та специфічністю 73,5 %, має велику прогностичну цінність (площа під кривою AUC 0,868,  $p < 0,0001$ ). CI, ВЧТ і ВЧПТ вірогідно дуже слабо корелювали з RRI ( $r = -0,31$ ;  $r = 0,26$ ,  $r = -0,28$  відповідно,  $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Високі значення RRI в геріатричних пацієнтів після ургентної абдомінальної хірургії пов'язані з розвитком ГПН. RRI може бути інструментом «приліжкової» діагностики ГПН, на відміну від SQP нирок, яка не показала прогностичної цінності.

**Key words:**  
elderly, acute kidney injury, renal resistive index.

**Pathologia**  
2021; 18 (2), 142-151

## Ultrasound examination as a method of early “bedside” diagnosis of acute kidney injury in geriatric patients after urgent abdominal surgery

N. V. Momot, N. V. Tumanska, S. I. Vorotyntsev

Geriatric patients are particularly vulnerable to the development of postoperative complications, one of which is acute kidney injury (AKI). Early diagnosis of AKI is an important component of the effectiveness of its prevention and treatment. It is believed that ultrasound examination of renal blood flow may be a promising method for “bedside” diagnosis of AKI.

**The aim** is to evaluate the predictive value of renal resistance index (RRI) and semiquantitative renal perfusion (SQP) as methods for early diagnosis of AKI in geriatric patients after urgent abdominal surgery.

**Materials and methods.** A prospective single-center study included 40 patients (72.5 (65; 81.5) r. u.) who were assessed for the risk of development, the presence and stage of AKI, and additionally hemodynamic parameters, intra-abdominal pressure (IAP), and abdominal perfusion pressure (APP) were measured. Renal resistance index (RRI) and semi-quantitative renal perfusion score (SQP) were determined using Doppler ultrasound (ultrasound probe CH-6, SIEMENS, Acuson Antares). Statistical analysis was performed using the Statistica for Windows 13 program (StatSoft Inc., No. JPZ8041382130ARCN10-J).

**Results.** In the postoperative period, AKI developed in 26 patients (65 %). Compared with patients without AKI, they had a 14 % lower level of mean arterial pressure ( $P = 0.008$ ), as well as an average of 4 mmHg higher IAP ( $P = 0.005$ ) and significantly lower APP ( $P = 0.0348$ ). Patients with AKI had a 13.9 % higher RRI than patients without AKI (0.75 (0.72; 0.81) r. u. vs 0.66 (0.61; 0.69) r. u., respectively,  $P = 0.000001$ ), however, the degree of SQP of the kidneys did not differ significantly between the groups ( $P = 0.636$ ). Logistic regression analysis showed that patients with a high RRI were 15 times more likely to develop AKI. ROC analysis showed that  $RRI > 0.71$  r. u. is the threshold level for AKI with 87.2 % sensitivity and 73.5 % specificity, and it has a high predictive value (area under the curve AUC 0.868,  $P < 0.0001$ ). CI, IAP, and APP were significantly very weakly correlated with RRI ( $r = -0.31$ ;  $r = 0.26$ ,  $r = -0.28$ , respectively,  $P < 0.05$ ).

**Conclusions.** High RRI values are associated with AKI in geriatric patients after urgent abdominal surgery. RRI may be a “bedside” diagnostic tool for AKI, in contrast to renal SQP, which has shown no predictive value.

## Ультразвуковое исследование как метод ранней «прикроватной» диагностики острого повреждения почек у гериатрических пациентов после ургентной абдоминальной хирургии

Н. В. Момот, Н. В. Туманская, С. И. Воротынец

Гериатрические пациенты особенно уязвимы для развития послеоперационных осложнений, одним из которых является острое повреждение почек (ОПП). Ранняя диагностика ОПП – важная составляющая эффективности его профилактики и лечения. Считается, что ультразвуковое исследование почечного кровотока может быть перспективным методом «прикроватной» диагностики ОПП.

**Цель работы** – установить прогностическую ценность величины почечного резистивного индекса (RRI) и полуколичественной оценки почечной перфузии (SQP) как методов ранней диагностики ОПП у гериатрических пациентов после ургентной абдоминальной хирургии.

**Материалы и методы.** В проспективное одноцентровое исследование включили 40 пациентов (72,5 (65,0; 81,5) года), которым определяли риск развития, наличие и стадию ОПП, дополнительно измеряли показатели гемодинамики, внутрибрюшное давление (ВБД), внутрибрюшное перфузионное давление (ВБПД). Почечный резистивный индекс (RRI) и полуколичественную оценку почечной перфузии (SQP) определяли с помощью ультразвуковой доплерографии (ультразвуковой датчик CH-6, SIEMENS, Acuson Antares). Статистический анализ проведен с помощью программы Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

**Результаты.** В послеоперационном периоде ОПП развилось у 26 (65 %) больных. По сравнению с пациентами без ОПП у них на 14 % ниже уровень среднего артериального давления ( $p = 0,008$ ), в среднем на 4 мм рт. ст. выше ВБД ( $p = 0,005$ ) и значительно ниже ВБПД ( $p = 0,0348$ ). У пациентов с ОПП RRI на 13,9 % выше, чем у больных без ОПП (0,75 (0,72; 0,81) отн. ед. против 0,66 (0,61; 0,69) отн. ед. соответственно,  $p = 0,000001$ ), но степень SQP почек достоверно не отличалась в группах ( $p = 0,636$ ). Логистический регрессионный анализ показал, что у больных с высоким RRI в 15 раз чаще возникает ОПП. ROC-анализ показал, что RRI  $>0,71$  отн. ед. – пороговый уровень для развития ОПП с чувствительностью 87,2 % и специфичностью 73,5 %, имеет высокую прогностическую ценность (площадь под кривой AUC 0,868,  $p < 0,0001$ ). СИ, ВБД, ВБПД достоверно очень слабо коррелировали с RRI ( $r = -0,31$ ;  $r = 0,26$ ,  $r = -0,28$  соответственно,  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Высокие значения RRI у гериатрических пациентов после ургентной абдоминальной хирургии связаны с развитием ОПП. RRI может быть инструментом «прикроватной» диагностики ОПП, в отличие от SQP почек, которая не показала прогностической ценности.

**Ключевые слова:** гериатрические пациенты, острое повреждение почек, почечный резистивный индекс.

Патология. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 142-151

Гостре пошкодження нирок (ГПН) – поширене явище в госпіталізованих хірургічних пацієнтів, що має негативний вплив на результати лікування. ГПН пов'язане зі збільшенням витрат на лікування, тривалішим перебуванням у лікарні, підвищенням рівня короткочасної та віддаленої летальності [1–7]. Після епізоду ГПН частина хворих, які вижили, так і не відновлюють ниркову функцію повністю та потребують замісної ниркової терапії [8,9]. Отже, післяопераційне ГПН викликає особливий інтерес для лікаря, оскільки є вимірюваним показником періопераційного ушкодження та важливою потенційною метою для втручання [6].

Вікові зміни функції нирок, множинні супутні захворювання можуть збільшити схильність літніх людей до ГПН [1]. Вік визнаний одним з основних факторів ризику ГПН [10,11] та прогностичним критерієм смертності у пацієнтів із ГПН [12]. Саме тому гериатричні хворі потребують особливої уваги в аспекті запобігання розвитку ГПН у післяопераційному періоді.

Рання діагностика ГПН – важливий компонент ефективності його профілактики, лікування [13]. Основна наявних прогностичних шкал розвитку ГПН – величина сироваткового креатиніну, але рівень креатиніну та швидкість його підвищення залежить від багатьох факторів (ступінь волемії, використання протеїнового харчування або стероїдів, травма м'язів тощо) і не завжди коректно показує ступінь пошкодження функції нирок. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), що вимірюють за допомогою проби Реберґа, є точнішим методом діагностики ГПН, але техніка її виконання –

трудомістка й витратна за часом. Сучасні роботи показують високу надійність визначення таких біомаркерів ГПН, як ліпокалін, асоційований із желатиназою нейтрофілів (NGAL) [14], інтерлейкін 18 [15], цистатин С [16]. Висока вартість цих досліджень робить їх недоступними для більшості лікарень.

Нирковий резистивний індекс (RRI) – показник ультразвукового дослідження нирок, що використовують для оцінювання ниркової мікроциркуляції, кількісно показує зміни як ниркового судинного опору, так і податливості судин. Bellos I. et al. [17] здійснили метааналіз 10 досліджень (загальна кількість пацієнтів – 911), у них вивчали визначення RRI як метод діагностики післяопераційного ГПН. Автори підсумували, що RRI – корисний прогностичний маркер, адже в пацієнтів, які мали епізод ГПН, виявили вищі значення цього індексу до операції (середня різниця (СР) 0,02; 95 % довірчий інтервал (ДІ): 0,00–0,03), відразу після (СР 0,07; 95 % ДІ: 0,04–0,11) і через 24 години після операції (СР 0,07; 95 % ДІ: 0,04–0,09). Сумарна чутливість методу становила 81,8 %, специфічність – 77,6 %, площа під кривою – 0,866. Але ці дослідження включали хворих тільки після кардіальних та ортопедичних втручань. Отже, питання його прогностичної цінності в абдоминальній хірургії залишається відкритим, особливо в гериатричних хворих, в яких інтерпретація значень RRI може бути ускладнена через жорсткість аорти, підвищений діастолічний артеріальний тиск, атеросклеротичне ураження судин [18,19].



Таблиця 1. Критерії класифікації KDIGO при ГПН

Стадія	Креатинін сироватки (SCr)	Темп діурезу (UO)
1	Зростання в 1,5–1,9 раза від базового рівня в межах 7 днів або зростання $\geq 27$ мкмоль/л (0,3 мг/дл) у межах 48 годин.	$< 0,5$ мл/кг-год протягом 6–12 годин.
2	Зростання у 2,0–2,9 раза від базового рівня в межах 7 днів.	$< 0,5$ мл/кг-год протягом $\geq 12$ годин.
3	Зростання в 3,0 раза від базового рівня в межах 7 днів або зростання $\geq 354$ мкмоль/л ( $\geq 4$ мг/дл), або початок замісної ниркової терапії.	$< 0,3$ мл/кг-год протягом $\geq 24$ годин або анурія $\geq 12$ годин.

Таблиця 2. УЗ-ознаки під час напівкількісного оцінювання ниркової перфузії

Ступінь	Якість ниркової перфузії, що оцінена за допомогою кольорової доплерографії
0	Судини не ідентифікуються.
1	Мала кількість судин у ділянці миски.
2	Судини у ділянці миски та міждолькові судини в більшій частині ниркової паренхіми.
3	Ниркові судини ідентифікуються до дугоподібних артерій у всьому полі зору.

Таблиця 3. Антропометричні показники прооперованих пацієнтів

Показники, одиниці вимірювання	Усі пацієнти (n = 40)	ГПН (n = 26)	Без ГПН (n = 14)	P
Вік, роки	72,5 (65,0; 81,5)	72 (65,0; 76,0)	80,5 (65,0; 84,0)	0,480
Чоловіча стать, n (%)	14 (35 %)	7 (26,9 %)	7 (50 %)	0,239
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	24,2 (22,7; 31,0)	26,4 (23,3; 31,2)	22,9 (21,6; 27,8)	0,094

ІМТ: індекс маси тіла.

Напівкількісне оцінювання перфузії нирок (semi-quantitative perfusion, SQP) – ще один метод визначення ниркового кровотоку за допомогою кольорової доплерографії. За даними досліджень [20,21], ця техніка є простішою, ніж визначення RRI, але вона може надати подібну інформацію щодо функції нирок.

## Мета роботи

Визначити прогностичну цінність величини ниркового резистивного індексу та напівкількісного оцінювання ниркової перфузії як методів ранньої діагностики гострого пошкодження нирок у гериатричних пацієнтів після ургентної абдомінальної хірургії.

## Матеріали і методи дослідження

Одноцентрове проспективне дослідження (вересень 2020 – квітень 2021 року) здійснене на базі відділення інтенсивної терапії (ВІТ) КНП «Міська лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги» м. Запоріжжя. Після отримання згоди комісії з питань біоетики Запорізького державного медичного університету та інформованої згоди пацієнтів у дослідження увійшли 50 осіб, яким в ургентному порядку виконали оперативні втручання на органах черевної порожнини з приводу перитоніту.

Критерії залучення: вік понад 60 років, первинне ургентне оперативне втручання з приводу перитоніту, надходження у ВІТ одразу після операції. Критерії

виключення: неможливість виконання ультразвукового дослідження нирок, хронічна ниркова недостатність (ХНН) в анамнезі, перитоніт на тлі важкого панкреатиту або панкреонекрозу, надходження у ВІТ після релапаротомії.

Періопераційно пацієнтам виконали стандартний моніторинг, додатково визначаючи ризик розвитку ГПН за допомогою калькулятора ACS-NSQIP [22], тяжкість стану хворих – за шкалою SOFA [23], серцевий індекс (CI) – за технологією esCOO (монітор Vismo PVM-2701K, «Nihon Kohden», Японія), внутрішньочеревний тиск (ВЧТ) – за допомогою непрямого методу (Kron та Iberti, 1984), внутрішньочеревний перфузійний тиск (ВЧПТ) – як різницю між середнім артеріальним тиском і ВЧТ.

Наявність і стадію ГПН визначали відповідно до класифікації KDIGO [24], щодня під час перебування пацієнтів у ВІТ (табл. 1).

Резистивний індекс (RI) вимірювали за допомогою ультразвукової доплерографії з використанням конвексного датчика з частотою 3 МГц (ультразвуковий датчик CH-6, SIEMENS, Acuson Antares). Після візуалізації нирки та ниркових артерій у В-режимі та режимах кольорової та імпульсної доплерографії виконали три послідовні вимірювання RRI в сегментарних або міждолькових артеріях (рис. 1). Для аналізу використовували найліпше значення резистивного індексу.

Напівкількісне оцінювання перфузії (SQP) нирок здійснили за допомогою кольорового доплерівського картування, визначаючи ступінь кровотоку в балах згідно з таблицею 2 [20]. УЗ-зображення різних ступенів якості ниркового кровотоку наведено на рис. 2.

Статистичний аналіз виконали за допомогою програми Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., №JPZ8041382130ARCN10-J). Безперервні дані наведені як медіана та міжквартильний розмах. Категоріальні дані – як відсотки. Для порівняння клінічних характеристик і RRI пацієнтів із ГПН і без ГПН використовували U критерій Манна-Вітні. За допомогою ROC-аналізу та логістичної регресії визначали зв'язки між RRI та ГПН. Для визначення кореляції між показниками застосовували коефіцієнт Спірмена. Відмінності зі значенням  $p < 0,05$  вважали вірогідними.

З 50 пацієнтів, які спочатку увійшли в дослідження, 10 хворих виключили через наявність панкреонекрозу ( $n = 2$ ) або ХНН в анамнезі ( $n = 2$ ), через технічну неможливість виконання ультразвукового дослідження нирок ( $n = 6$ ). Врешті у дослідження залучили 40 пацієнтів, характеристика яких наведена в таблиці 3 (показники визначені як для всіх пацієнтів, так і окремо для пацієнтів із ГПН і без ГПН). Групи зіставні за віком, статтю, індексом маси тіла хворих (табл. 3).

## Результати

За даними, що наведені в таблиці 3, у 26 (65 %) пацієнтів у післяопераційному періоді спостерігали розвиток ГПН. За даними ASC-NSQIP, вони мали вищий понад удвічі вихідний допустимий ризик ГПН ( $p = 0,0135$ ) порівняно з пацієнтами без ГПН. Але фактичний ризик ГПН вірогідно не відрізнявся в гру-

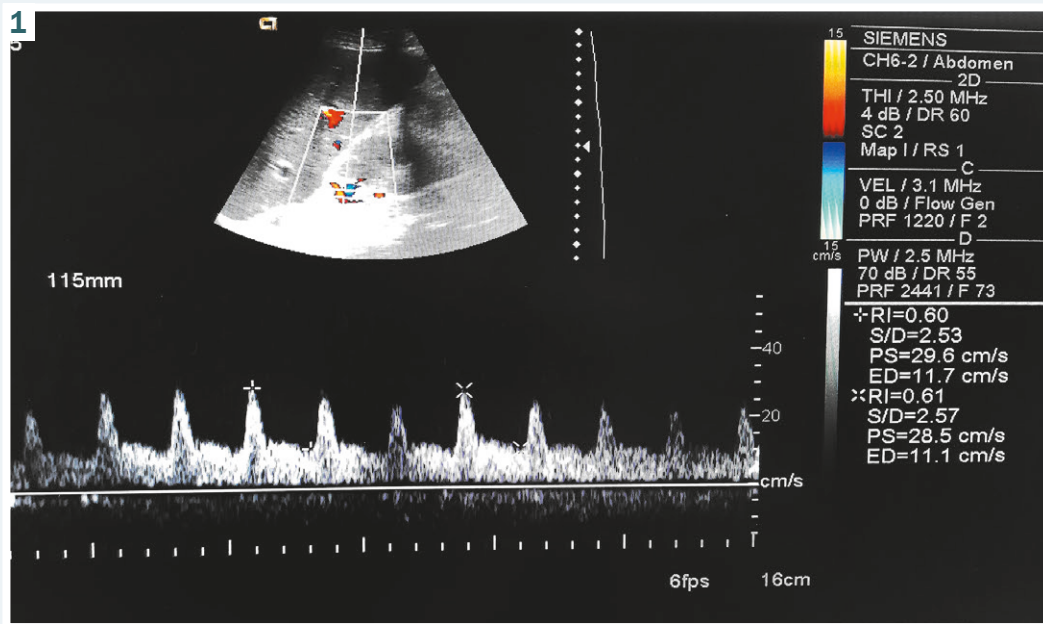


Рис. 1. Ультразвукове визначення ниркового резистивного індексу (RRI).

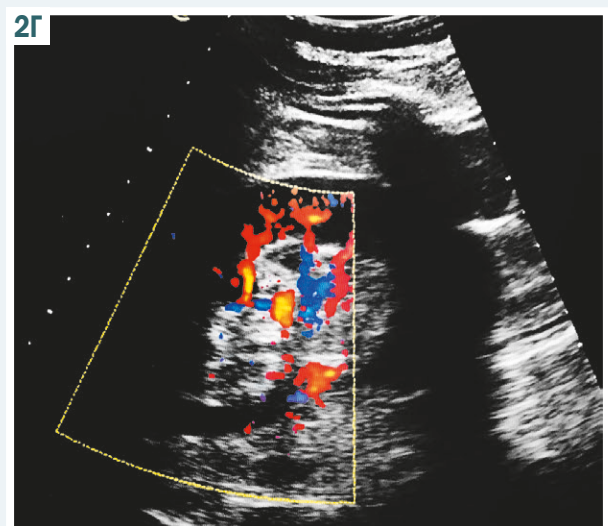
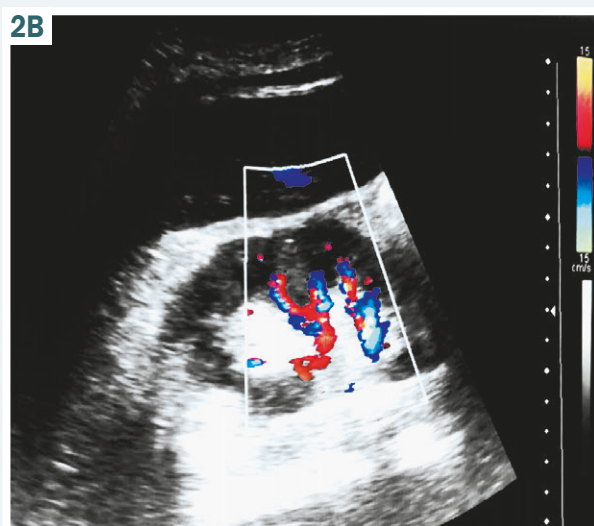
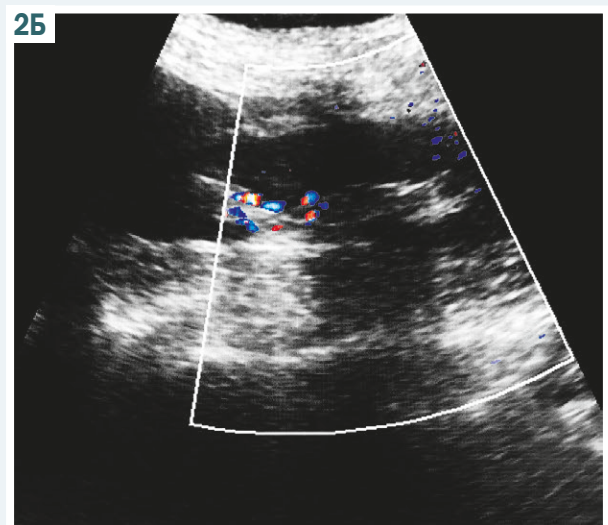
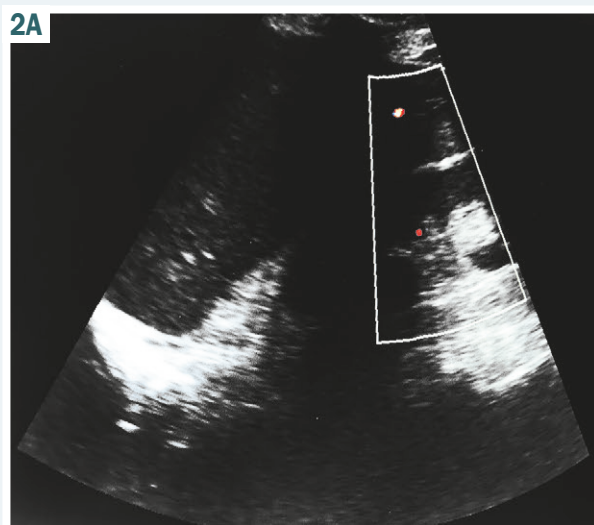


Рис. 2. Ультразвукове зображення якості перфузії нирок: А: 0 ступінь, Б: 1 ступінь, В: 2 ступінь, Г: 3 ступінь.

Таблиця 4. Загальна характеристика пацієнтів і факторів ризику ГПН

Показники, одиниці вимірювання	Усі пацієнти (n = 40)	ГПН (n = 26)	Без ГПН (n = 14)	p
<b>Коморбідна патологія</b>				
Серцева недостатність, n (%)	28 (70,0 %)	19 (73,0 %)	9 (64,3 %)	0,800
Гіпертонічна хвороба, n (%)	35 (87,5 %)	24 (92,3 %)	11 (85,7 %)	0,700
Цукровий діабет, n (%)	7 (17,5 %)	5 (19,23 %)	2 (14,3 %)	0,530
<b>Передопераційний період</b>				
ASA, клас	3 (3; 4)	3 (3; 4)	3 (3; 3)	0,117
<b>Ризик ГПН:</b>				
Допустимий, %	1,2 (0,7; 2,2)	1,60 (0,95; 2,50)	0,75 (0,4; 1,3)	0,014
Фактичний, %	2,1 (1,1; 3,3)	2,55 (1,35; 4,10)	1,8 (0,8; 3,3)	0,173
Нь вихідний, г/л	117,5 (91,5; 150,5)	113,0 (85,0; 138,0)	145,5 (105,0; 159,0)	0,122
Анемія, n (%)	15 (37,5 %)	12 (46,15 %)	3 (21,4 %)	0,210
<b>Інтраопераційний період</b>				
Операція:				
Лапаротомія, n (%)	36 (90 %)	24 (92,30 %)	12 (85,72 %)	0,740
Лапароскопія, n (%)	4 (10 %)	2 (7,69 %)	2 (14,28 %)	0,740
Тривалість операції, хв	100,0 (75,0; 160,0)	117,5 (80,0; 185,0)	90,0 (75,0; 110,0)	0,357
Тривалість анестезії, хв	112,5 (85,0; 165,0)	145,0 (95,0; 200,0)	102,5 (80,0; 125,0)	0,300
Загальна інфузія, мл	2200 (1400; 3400)	2300 (1200; 3546)	2100 (1400; 3400)	0,676
Вазопресори, n (%)	13 (32,50 %)	9 (34,61 %)	4 (28,57 %)	0,527
<b>Післяопераційний період</b>				
SOFA, бали	3 (2; 4)	3 (2; 5)	3 (2; 3)	0,410
Анемія, n (%)	30 (75,0 %)	22 (84,6 %)	8 (57,14 %)	0,126
Інфузія, мл/добу	2300 (1800; 3100)	2300 (1950; 3100)	2100(1600; 2800)	0,140
Вазопресори, n (%)	17 (42,50 %)	14 (53,84 %)	3 (21,43 %)	0,085
Гемотрансфузія, n (%)	11 (27,50 %)	9 (34,61 %)	2 (14,28 %)	0,189
CI, л/хв·м <sup>2</sup>	3,40 (2,78; 4,55)	3,25 (2,61; 4,14)	3,75 (3,09; 4,89)	0,179
CAT, мм рт. ст.	87,5 (73,0; 97,5)	80,0 (70,0; 93,0)	93 (82,0; 110,0)	0,008
ВЧТ, мм рт. ст.	12,0 (8,0; 16,5)	14,0 (10,0; 20,0)	10,0 (6,0; 13,0)	0,005
ВЧПТ, мм рт. ст.	74,4 (57,9; 82,0)	64,0 (54,0; 80,7)	82,2 (65,8; 112,1)	0,035

CI: серцевий індекс; CAT: середній артеріальний тиск; ВЧТ: внутрішньочеревний тиск; ВЧПТ: внутрішньочеревний перфузійний тиск.

Таблиця 5. Рівень креатиніну та показники УЗД нирок

Показники, одиниці вимірювання	Усі пацієнти (n = 40)	ГПН (n = 26)	Без ГПН (n = 14)	p
Креатинін вихідний, мкмоль/л	108 (84; 175)	113 (83; 188)	103 (93; 149)	0,910
Креатинін максимальний, мкмоль/л	154 (112; 261)	195 (140; 373)	115 (98; 154,8)	0,002
SQP нирок, ступінь	2 (1; 2)	2 (1; 2)	2 (1; 2)	0,636
RRI, відносні одиниці	0,73 (0,68; 0,8)	0,75 (0,72; 0,81)	0,66 (0,61; 0,69)	<0,001

пах дослідження ( $p = 0,173$ ), що дало можливість вважати їх зіставними за цим та іншими показниками (коморбідною патологією, тяжкістю стану, характеристиками оперативних утручань тощо) (табл. 4).

Також пацієнти у групах не відрізнялися за величиною серцевого індексу ( $p = 0,179$ ), який був у межах нормодинамії, що, ймовірно, пов'язано з використанням вазопресорів для підтримання оптимальних показників гемодинаміки. Але пацієнти з ГПН порівняно з хворими без ГПН періопераційно мали в середньому на 14 % нижчий рівень CAT ( $p = 0,008$ ), на 4 мм рт. ст. вищий ВЧТ ( $p = 0,005$ ) та, як наслідок, істотно нижчий ВЧПТ (64 (54; 80,7) мм рт. ст. проти 82,2 (65,8; 112,1) мм рт. ст. відповідно,  $p = 0,0348$ ). Отже, можна припустити, що саме ці показники – основні фактори ризику розвитку ГПН.

Вихідний рівень креатиніну не мав істотних відмінностей у пацієнтів груп, що досліджували, ( $p = 0,91$ ), але надалі в пацієнтів із ГПН він досяг рівня 195 (140; 373) мкмоль/л, що відповідало наявності в них 1–2 стадії ниркового пошкодження (табл. 5). Зареє-

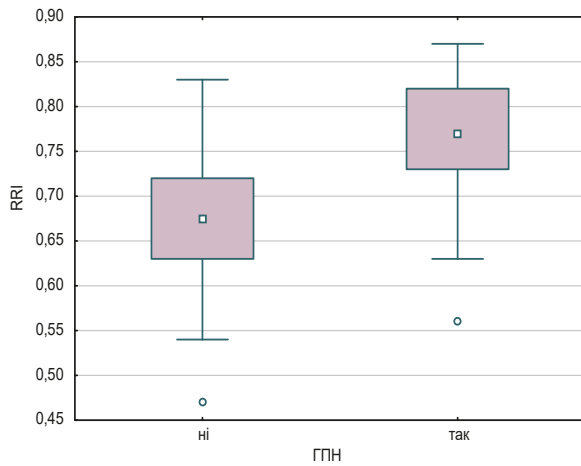
стровані значення RRI в цих пацієнтів перевищували величину RRI в осіб без ГПН у середньому на 13,9 % ( $p = 0,000001$ ) (рис. 3), але ступінь SQP нирок вірогідно не відрізнявся в групах дослідження ( $p = 0,636$ ) і характеризувався передусім наявністю кровотоку в судинах миски та міждолькових судинах у більшій частині ниркової паренхіми.

За результатами логістичного регресійного аналізу виявили зв'язок між високими значеннями RRI та розвитком гострого пошкодження нирок (рис. 4): показник відношення шансів (OR) дорівнював 15,4 при значенні критерію  $\chi^2 = 35,4$  ( $p < 0,0001$ ).

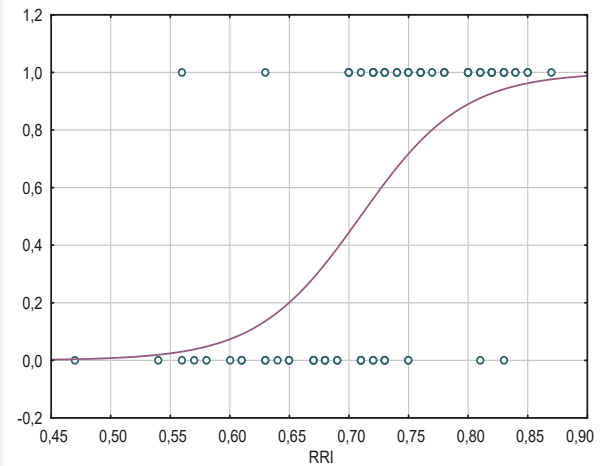
ROC-аналіз показав, що RRI  $>0,71$  в од. є пороговим рівнем для розвитку ГПН із чутливістю 87,2 % та специфічністю 73,5 %, а вимірювання саме RRI для ранньої діагностики ГПН у пацієнтів похилого віку після ургентної абдомінальної хірургії має велику прогностичну цінність (площа під кривою AUC 0,868 ( $p < 0,0001$ )) (рис. 5).

Кореляційний аналіз взаємозв'язку RRI з показниками гемодинаміки та ВЧТ виявив дуже слабкі

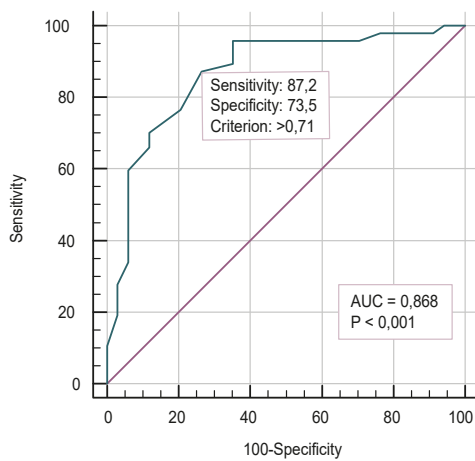
3



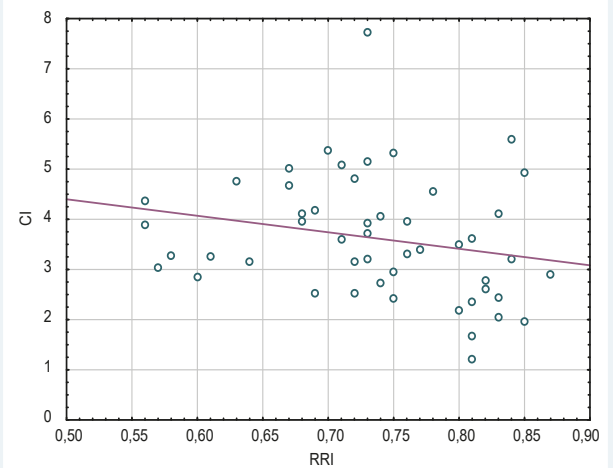
4



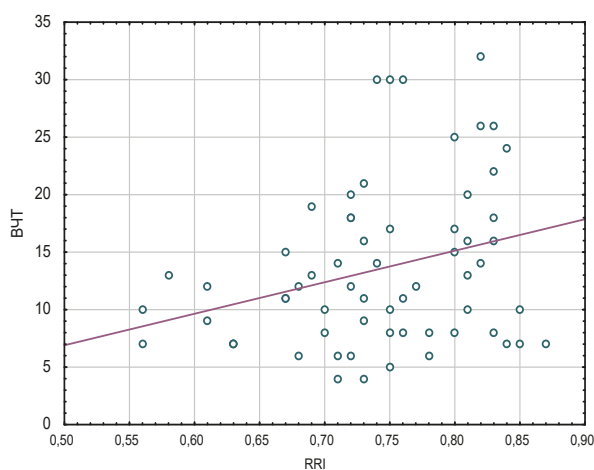
5



6a



6б



6в

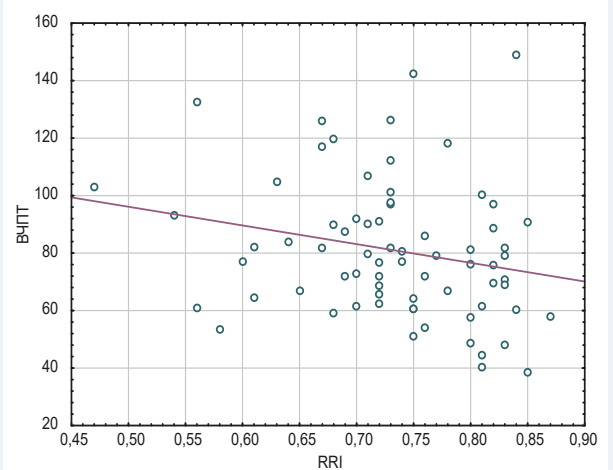


Рис. 3. Нирковий резистивний індекс у пацієнтів із гострим пошкодженням нирок (ГПН так) та без гострого пошкодження нирок (ГПН ні).

Рис. 4. Логістична крива залежності ймовірності розвитку гострого пошкодження нирок від значення ниркового резистивного індексу.

Рис. 5. ROC-крива значення ниркового резистивного індексу (RRI).

Рис. 6. Кореляційний аналіз між величиною ниркового резистивного індексу (RRI) та значеннями серцевого індексу – CI (а), внутрішньочеревного тиску – ВЧІТ (б), внутрішньочеревного перфузійного тиску – ВЧІПТ (в).

Таблиця 6. Кореляційний зв'язок між RRI та CAT, CI, BЧТ і ВЧПТ

	г-критерій Спірмена	p
RRI – CAT	-0,15	>0,05
RRI – CI	-0,31	<0,05
RRI – BЧТ	0,26	<0,05
RRI – ВЧПТ	-0,27	<0,05

**RRI:** нирковий резистивний індекс; **CAT:** середній артеріальний тиск; **CI:** серцевий індекс; **BЧТ:** внутрішньочеревний тиск; **ВЧПТ:** внутрішньочеревний перфузійний тиск.

різноспрямовані зсуви (табл. 6). Але якщо залежність RRI від величини CAT мала невірогідну тенденцію, то значення CI, BЧТ і ВЧПТ мали вірогідно дуже слабкий вплив на RRI (рис. 6).

## Обговорення

Частота гострого пошкодження нирок у нашому дослідженні становила 65 %. Це значення збігається з інцидентністю ГПН у ВІТ за даними робіт, в яких використовували критерій KDIGO як маркер ГПН [25–27]. Частота ГПН у них становила 55,6–74,5 %, але вік не був основним критерієм включення. У 2017 р. на V Паризькій міжнародній конференції з інтенсивної терапії представили метааналіз 11 досліджень поширеності ГПН у ВІТ [14]. Розбіжність відсотків інцидентності ГПН була більшою – від 19,2 % до 74,5 %. До того ж середній вік хворих у 10 з 11 цих досліджень був понад 60 років, що підтверджує значущість вивчення ГПН саме в таких пацієнтів.

Результати нашого дослідження вказують на вище значення ниркового резистивного індексу в осіб із ГПН порівняно з пацієнтами без ГПН. Такі результати узгоджуються з більшістю досліджень, що здійснені на змішаній популяції хворих ВІТ, пацієнтів із септичним шоком, осіб після ортопедичних і кардіохірургічних утручань [28–37]. І хоча абсолютні значення RRI остаточно не визначені для різних груп пацієнтів, тенденція до його збільшення може допомогти у прогнозуванні розвитку ГПН.

У 2018 р. M. Darmon et al. [38] опублікували відомості, що RRI на підставі доплера не є корисними для прогнозування стійкого ГПН, а всі попередні дослідження RRI як маркера ГПН мають суперечливі результати. На їхню думку, більшість досліджень мали високий ризик упередженості, в них наведені численні фактори, що можуть впливати на RRI [39–41], як-от жорсткість артерій, індекс пульсового тиску, середній артеріальний тиск і частота серцевих скорочень, внутрішньочеревний тиск тощо. У результаті нашого дослідження не виявили статистично значущий кореляційний зв'язок між RRI та CAT, а зв'язок між RRI та CI, BЧТ, ВЧПТ дуже слабкий. Враховуючи, що кореляція між названими показниками тиску та розвитком ГПН також слабка, можна стверджувати про незначний вплив цих факторів на величину RRI як маркера ГПН. Dewitte A. et al. [42] вимірювали RRI в пацієнтів із сепсисом після стабілізації гемодинаміки та виявили, що CAT мав середній кореляційний зв'язок із резистивним індексом тільки в хворих без ГПН, а в осіб із ГПН вірогідну кореляцію між CAT і RRI не виявили. Результати нашого дослідження мають аналогічну тенденцію.

Результати ефективності напівкількісного оцінювання ниркової перфузії для діагностики ГПН відрізняються від даних фахової літератури. Так, D. Schnell et al. [20] повідомляють: результати оцінювання RRI та SQP нирок зівставні, а надійність SQP нирок, схоже, така сама, як і надійність RRI. Крім того, автори стверджують, що SQP нирок із використанням кольорової доплерографії простіша у виконанні, ніж визначення RRI, та може надати подібну інформацію щодо функції нирок. На жаль, ми не виявили різниці за ступенями SQP нирок у геріатричних хворих з ГПН і без ГПН після ургентної абдомінальної хірургії, що примушує поставити під сумнів прогностичне значення цього методу. У нещодавньому дослідженні [38] також показано, що значення SQP нирок для визначення ГПН є перебільшеним (площа під кривою AUC становила 0,59 (95 % ДІ: 0,54–0,65), поріг чутливості та специфічності – 39 % (32–45 %) та 75 % (66–82 %) відповідно).

Суттєвим обмеженням у дослідженні резистивного індексу як маркера гострого пошкодження нирок є неоднорідність у розумінні його визначення. Bude R. O. et al. [43] показали, що зв'язок між судинним опором і RRI ставав слабкішим зі збільшенням артеріальної жорсткості. Автори стверджують, що RRI – неправильна назва, індекс фактично повинен називатися «індексом імпедансу», оскільки значення RRI та форма доплерографічної кривої залежать не тільки від судинного опору, але й від податливості судин. Отже, в геріатричних хворих, для яких характерна патологія серцево-судинної системи та, як наслідок, висока жорсткість судин, цілком зрозуміло є відсутність значущої кореляції між середнім артеріальним тиском, серцевим і резистивним індексами. Але це твердження потребує ретельної перевірки, може стати напрямом дальших досліджень.

## Висновки

1. Високі значення RRI в сегментарних або між-долькових артеріях нирок у геріатричних пацієнтів після ургентної абдомінальної хірургії пов'язані з розвитком гострого пошкодження нирок.

2. Нирковий резистивний індекс може бути інструментом «приліжкової» діагностики ГПН у геріатричних пацієнтів, на відміну від напівкількісного оцінювання ниркової перфузії, котра не показала прогностичної цінності.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.07.2021

Після доопрацювання / Revised: 23.07.2021

Прийнято до друку / Accepted: 27.07.2021

## Відомості про авторів:

Момот Н. В., аспірантка каф. анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0002-3355-4910](https://orcid.org/0000-0002-3355-4910)

Туманська Н. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0002-4290-7474](https://orcid.org/0000-0002-4290-7474)

Воротинцев С. І., д-р мед. наук, зав. каф. анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9159-6617](https://orcid.org/0000-0002-9159-6617)

### Information about authors:

Momot N. V., PhD student of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tumanska N. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Therapy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Vorotyntsev S. I., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

### Сведения об авторах:

Момот Н. В., аспирант каф. анестезиологии и интенсивной терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Туманская Н. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутренней медицины, лучевой диагностики и лучевой терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Воротынцев С. И., д-р мед. наук, зав. каф. анестезиологии и интенсивной терапии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

### Список літератури

- [1] Rewa O., Bagshaw S. M. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. *Nature reviews. Nephrology*. 2014. Vol. 10, Iss. 4. P. 193-207. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2013.282>
- [2] Minor Postoperative Increases of Creatinine Are Associated with Higher Mortality and Longer Hospital Length of Stay in Surgical Patients / F. Kork, F. Balzer, C. D. Spies et al. *Anesthesiology*. 2015. Vol. 123, Iss. 6. P. 1301-1311. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000891>
- [3] The incidence and risk factors of acute kidney injury after hepatobiliary surgery: a prospective observational study / E. Cho, S. C. Kim, M. G. Kim et al. *BMC nephrology*. 2014. Vol. 15. P. 169. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-15-169>
- [4] Cost and Mortality Associated with Postoperative Acute Kidney Injury / C. Hobson, T. Ozrazgat-Baslanti, A. Kuxhausen et al. *Annals of surgery*. 2015. Vol. 261, Iss. 6. P. 1207-1214. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000732>
- [5] Acute kidney injury after major abdominal surgery: a retrospective cohort analysis / C. Teixeira, R. Rosa, N. Rodrigues et al. *Critical care research and practice*. 2014. Vol. 2014. P. 132175. <https://doi.org/10.1155/2014/132175>
- [6] Acute kidney injury in major abdominal surgery: incidence, risk factors, pathogenesis and outcomes / J. Gameiro, J. A. Fonseca, M. *Annals of intensive care*. 2018. Vol. 8, Iss. 1. P. 22. <https://doi.org/10.1186/s13613-018-0369-7>
- [7] Incidence, risk factors, and outcomes of perioperative acute kidney injury in noncardiac and nonvascular surgery / M. Biteker, A. Dayan, A. İ. Tekkeşin et al. *American journal of surgery*. 2014. Vol. 207, Iss. 1. P. 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2013.04.006>
- [8] Características clínico-epidemiológicas de adultos e idosos atendidos em unidade de terapia intensiva pública da Amazônia (Rio Branco, Acre) [Clinical-epidemiological characteristics of adults and aged interned in an intensive care unit of the Amazon / K. Acuna, E. Costa, A. Grover et al. *Revista Brasileira de terapia intensiva*. 2007. Vol. 19, Iss. 3. P. 304-309.
- [9] Coca S. G., Singanamala S., Parikh C. R. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney international*. 2012. Vol. 81, Iss. 5. P. 442-448. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.379>
- [10] Acute kidney injury in the ICU: from injury to recovery: reports from the 5th Paris International Conference / R. Bellomo, C. Ronco, R. L. Mehta et al. *Annals of intensive care*. 2017. Vol. 7, Iss. 1. P. 49. <https://doi.org/10.1186/s13613-017-0260-y>
- [11] Bucuvic E. M., Ponce D., Balbi A. L. Risk factors for mortality in acute kidney injury. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2011. Vol. 57, Iss. 2. P. 158-163. <https://doi.org/10.1590/s0104-42302011000200012>
- [12] Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study / S. Uchino, J. A. Kellum, R. Bellomo et al. *JAMA*. 2005. Vol. 294, Iss. 7. P. 813-818. <https://doi.org/10.1001/jama.294.7.813>
- [13] Perioperative Acute Kidney Injury / S. D. Gumbert, F. Kork, M. L. Jackson et al. *Anesthesiology*. 2020. Vol. 132, Iss. 1. P. 180-204. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002968>
- [14] Prediction of delayed graft function and long-term graft survival by serum and urinary neutrophilgelatinase-associated lipocalin during the early postoperative phase after kidney transplantation / H. T. Maier, M. I. Ashraf, C. Denecke et al. *PLoS One*. 2018. Vol. 13, Iss. 1. e0189932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189932>
- [15] Prognostic value of levels of urine neutrophil gelatinase-associated Lipocalin and Interleukin-18 in patients with delayed graft function after kidney transplantation / L.-Y. Cui, X. Zhu, S. Yang et al. *Transplantation proceedings*. 2015. Vol. 47, Iss. 10. P. 2846-2851. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2015.10.042>
- [16] Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials / Z. Yong, X. Pei, B. Zhu et al. *Scientific reports*. 2017. Vol. 7. P. 41012. <https://doi.org/10.1038/srep41012>
- [17] Bellos I., Pergialiotis V., Kontzoglou K. Renal resistive index as predictor of acute kidney injury after major surgery: A systematic review and meta-analysis. *Journal of critical care*. 2019. Vol. 50. P. 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.11.001>
- [18] The relationship between renal resistive index, arterial stiffness, and atherosclerotic burden: the link between macrocirculation and microcirculation / J. Calabria, P. Torquet, I. Garcia et al. *Journal of clinical hypertension*. 2014. Vol. 16, Iss. 3. P. 186-191. <https://doi.org/10.1111/jch.12248>
- [19] Bellos I., Perrea D.N., Kontzoglou K. Renal resistive index as a predictive factor of delayed graft function: A meta-analysis. *Transplantation reviews*. 2019. Vol. 33, Iss. 3. P. 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.tre.2019.03.003>
- [20] Resistive Index or color-Doppler semi-quantitative evaluation of renal perfusion by inexperienced physicians: results of a pilot study / D. Schnell, M. Reynaud, M. Venot et al. *Minerva anesthesiologica*. 2014. Vol. 80, Iss. 12. P. 1273-1281.
- [21] Renal ultrasonography in critically ill patients / L. Barozzi, M. Valentino, A. Santoro et al. *Critical care medicine*. 2007. Vol. 35, Iss. 5. P. 198-205. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000260631.62219.B9>
- [22] ACS NSQIP Surgical Risk Calculator / American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program. URL : <https://riskcalculator.facs.org/RiskCalculator/>
- [23] Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score // MDCalc. URL : <https://www.mdcalc.com/sequential-organ-failure-assessment-sofa-score>
- [24] Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron. Clinical practice*, 2012. Vol. 120, Iss. 4. P. c179-c184. <https://doi.org/10.1159/000339789>
- [25] Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate / J. P. Bosch, A. Saccaggi, A. Lauer et al. *The American journal of medicine*. 1983. Vol. 75, Iss. 6. P. 943-950. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90873-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90873-2)
- [26] Ronco C., Rosner M. H. Acute kidney injury and residual renal function. *Critical care*. 2012. Vol. 16, Iss. 4. P. 144. <https://doi.org/10.1186/cc11426>
- [27] Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury / R. L. Mehta, J. A. Kellum, S. V. Shah et al. *Crit Care*. 2007. Vol. 11, Iss. 2. P. R 31. <https://doi.org/10.1186/cc5713>
- [28] Renal failure in septic shock: Predictive value of Doppler-based renal arterial resistive index / N. Lerolle, E. Guérot, C. Faisy et al. *Intensive care medicine*. 2006. Vol. 32, Iss. 10. P. 1553-1559. <https://doi.org/10.1007/s00134-006-0360-x>
- [29] Early detection of postoperative acute kidney injury by Doppler renal resistive index in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass / G. Bossard, P. Bourgoin, J. J. Corbeau et al. *British journal of anaesthesia*. 2011. Vol. 107, Iss. 10. P. 891-898. <https://doi.org/10.1093/bja/aer289>
- [30] Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients / M. Darmon, F. Schortgen, F. Vargas et al. *Intensive care medicine*. 2011. Vol. 37, Iss. 1. P. 68-76. <https://doi.org/10.1007/s00134-010-2050-y>
- [31] Renal Resistive Index Better Predicts the Occurrence of Acute Kidney Injury Than Cystatin C / D. Schnell, S. Deruddre, A. Harrois et al. *Shock*. 2012. Vol. 38, Iss. 6. P. 592-597. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318271a39c>
- [32] Can Renal Resistive Index Predict Acute Kidney Injury After Acute Type A Aortic Dissection Repair? / H. Wu, H. Qin, W. Ma et al. *The Annals of thoracic surgery*. 2017. Vol. 104, Iss. 5. P. 1583-1589. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2017.03.057>
- [33] Renal resistive index as an early predictor and discriminator of acute kidney injury in critically ill patients; A prospective observational cohort study / J. Haitsma Mulier, S. Rozemeijer, J. G. Röttgering et al. *PLoS one*. 2018. Vol. 13, Iss. 6. e0197967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197967>




- [34] Renal resistive index by transesophageal and transperietal echodoppler imaging for the prediction of acute kidney injury in patients undergoing major heart surgery / G. Regolisti, U. Maggiore, C. Cademartini et al. *Journal of nephrology*. 2017. Vol. 30, Iss. 2. P. 243-253. <https://doi.org/10.1007/s40620-016-0289-2>
- [35] Doppler renal resistive index for early detection of acute kidney injury after major orthopaedic surgery: a prospective observational study / P. Marty, S. Szatjnic, F. Ferre et al. *European journal of anaesthesiology*. 2015. Vol. 32, Iss. 1. P. 37-43. <https://doi.org/10.1097/EJA.000000000000120>
- [36] Renal Resistive Index and mortality in critical patients with acute kidney injury / M. Boddì, M. Bonizzoli, M. Chiostrì et al. *European journal of clinical investigation*. 2016. Vol. 46, Iss. 3. P. 242-251. <https://doi.org/10.1111/eci.12590>
- [37] Gornik I., Godan A., Gašparović V. Renal resistive index at ICU admission and its change after 24 hours predict acute kidney injury in sepsis. *Crit Care*. 2014. Vol. 18, Suppl. 1. P. 366. <https://doi.org/10.1186/cc13556>
- [38] Performance of Doppler-based resistive index and semi-quantitative renal perfusion in predicting persistent AKI: results of a prospective multicenter study / M. Darmon, A. Bourmaud, M. Reynaud et al. *Intensive care medicine*. 2018. Vol. 44, Iss. 11. P. 1904-1913. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5386-3>
- [39] Doppler-based renal resistive index for prediction of renal dysfunction reversibility: a systematic review and meta-analysis / S. Ninet, D. Schnell, A. Dewitte et al. *Journal of critical care*. 2015. Vol. 30, Iss. 3. P. 629-635. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2015.02.008>
- [40] Schnell D., Darmon M. Renal Doppler to assess renal perfusion in the critically ill: a reappraisal. *Intensive care medicine*. 2012. Vol. 38, Iss. 11. P. 1751-1760. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2692-z>
- [41] Lerolle N. Please don't call me RI anymore; I may not be the one you think I am! *Crit Care*. 2012. Vol. 16, Iss. 6. P. 174. <https://doi.org/10.1186/cc11831>
- [42] Doppler resistive index to reflect regulation of renal vascular tone during sepsis and acute kidney injury / A. Dewitte, J. Coquin, B. Meyssignac et al. *Crit Care*. 2012. Vol. 16, Iss. 5. P. R165. <https://doi.org/10.1186/cc11517>
- [43] Bude R. O., Rubin J. M. Relationship between the resistive index and vascular compliance and resistance. *Radiology*. 1999. Vol. 211, Iss. 2. P. 411-417. <https://doi.org/10.1148/radiology.211.2.r99ma48411>
- [10] Bellomo, R., Ronco, C., Mehta, R. L., Asfar, P., Boisramé-Helms, J., Darmon, M., Diehl, J. L., Duranteau, J., Hoste, E., Olivier, J. B., Legrand, M., Lerolle, N., Malbrain, M., Mårtensson, J., Oudemans-van Straaten, H. M., Parienti, J. J., Payen, D., Perinel, S., Peters, E., Pickkers, P., ... Laterre, P. F. (2017). Acute kidney injury in the ICU: from injury to recovery: reports from the 5th Paris International Conference. *Annals of intensive care*, 7(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13613-017-0260-y>
- [11] Bucuvic, E. M., Ponce, D., & Balbi, A. L. (2011). Risk factors for mortality in acute kidney injury. *Revista da Associação Médica Brasileira* (1992), 57(2), 158-163. <https://doi.org/10.1590/s0104-42302011000200012>
- [12] Uchino, S., Kellum, J. A., Bellomo, R., Doig, G. S., Morimatsu, H., Morgera, S., Schetz, M., Tan, I., Bouman, C., Macedo, E., Gibney, N., Tolwani, A., Ronco, C., & Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) Investigators (2005). Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*, 294(7), 813-818. <https://doi.org/10.1001/jama.294.7.813>
- [13] Gumbert, S. D., Kork, F., Jackson, M. L., Vanga, N., Ghebremichael, S. J., Wang, C. Y., & Eltzschig, H. K. (2020). Perioperative Acute Kidney Injury. *Anesthesiology*, 132(1), 180-204. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002968>
- [14] Maier, H. T., Ashraf, M. I., Denecke, C., Weiss, S., Augustin, F., Messner, F., Vallant, N., Böcklein, M., Margreiter, C., Göbel, G., Pratschke, J., Öfner-Velano, D., & Aigner, F. (2018). Prediction of delayed graft function and long-term graft survival by serum and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin during the early postoperative phase after kidney transplantation. *PLoS one*, 13(1), e0189932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189932>
- [15] Cui, L. Y., Zhu, X., Yang, S., Zhou, J. S., Zhang, H. X., Liu, L., & Zhang, J. (2015). Prognostic Value of Levels of Urine Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Interleukin-18 in Patients With Delayed Graft Function After Kidney Transplantation. *Transplantation proceedings*, 47(10), 2846-2851. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2015.10.042>
- [16] Yong, Z., Pei, X., Zhu, B., Yuan, H., & Zhao, W. (2017). Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials. *Scientific reports*, 7, 41012. <https://doi.org/10.1038/srep41012>
- [17] Bellos, I., Pergialiotis, V., & Kontzoglou, K. (2019). Renal resistive index as predictor of acute kidney injury after major surgery: A systematic review and meta-analysis. *Journal of critical care*, 50, 36-43. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2018.11.001>
- [18] Calabria, J., Torguet, P., Garcia, I., Martin, N., Mate, G., Marin, A., Molina, C., & Valles, M. (2014). The relationship between renal resistive index, arterial stiffness, and atherosclerotic burden: the link between macrocirculation and microcirculation. *Journal of clinical hypertension*, 16(3), 186-191. <https://doi.org/10.1111/jch.12248>
- [19] Bellos, I., Perrea, D. N., & Kontzoglou, K. (2019). Renal resistive index as a predictive factor of delayed graft function: A meta-analysis. *Transplantation reviews*, 33(3), 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.tre.2019.03.003>
- [20] Schnell, D., Reynaud, M., Venot, M., Le Maho, A. L., Dinic, M., Baulieu, M., Ducos, G., Terreaux, J., Zeni, F., Azoulay, E., Meziani, F., Duranteau, J., & Darmon, M. (2014). Resistive Index or color-Doppler semi-quantitative evaluation of renal perfusion by inexperienced physicians: results of a pilot study. *Minerva anesthesiologica*, 80(12), 1273-1281.
- [21] Barozzi, L., Valentino, M., Santoro, A., Mancini, E., & Pavlica, P. (2007). Renal ultrasonography in critically ill patients. *Critical care medicine*, 35(5 Suppl), S198-S205. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000260631.62219.B9>
- [22] American College of Surgeons. (2021). ACS NSQIP Surgical Risk Calculator. <https://riskcalculator.facs.org/RiskCalculator/>
- [23] MDCalc. (2021). Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score. <https://www.mdcalc.com/sequential-organ-failure-assessment-sofa-score>
- [24] Khwaja A. (2012). KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron. Clinical practice*, 120(4), c179-c184. <https://doi.org/10.1159/000339789>
- [25] Bosch, J. P., Saccaggi, A., Lauer, A., Ronco, C., Belledonne, M., & Glabman, S. (1983). Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *The American journal of medicine*, 75(6), 943-950. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90873-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)90873-2)
- [26] Ronco, C., & Rosner, M. H. (2012). Acute kidney injury and residual renal function. *Critical care*, 16(4), 144. <https://doi.org/10.1186/cc11426>
- [27] Mehta, R. L., Kellum, J. A., Shah, S. V., Molitoris, B. A., Ronco, C., Warnock, D. G., Levin, A., & Acute Kidney Injury Network (2007). Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical care*, 11(2), R31. <https://doi.org/10.1186/cc5713>
- [28] Lerolle, N., Guérot, E., Faisy, C., Bornstain, C., Diehl, J. L., & Fagon, J. Y. (2006). Renal failure in septic shock: predictive value of Doppler-based renal arterial resistive index. *Intensive care medicine*, 32(10), 1553-1559. <https://doi.org/10.1007/s00134-006-0360-x>

## References

- [29] Bossard, G., Bourgoin, P., Corbeau, J. J., Huntzinger, J., & Beydon, L. (2011). Early detection of postoperative acute kidney injury by Doppler renal resistive index in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *British journal of anaesthesia*, 107(6), 891-898. <https://doi.org/10.1093/bja/aer289>
- [30] Darmon, M., Schortgen, F., Vargas, F., Liazydi, A., Schlemmer, B., Brun-Buisson, C., & Brochard, L. (2011). Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients. *Intensive care medicine*, 37(1), 68-76. <https://doi.org/10.1007/s00134-010-2050-y>
- [31] Schnell, D., Deruddre, S., Harrois, A., Pottecher, J., Cosson, C., Adoui, N., Benhamou, D., Vicaut, E., Azoulay, E., & Duran-teau, J. (2012). Renal resistive index better predicts the occurrence of acute kidney injury than cystatin C. *Shock*, 38(6), 592-597. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318271a39c>
- [32] Wu, H. B., Qin, H., Ma, W. G., Zhao, H. L., Zheng, J., Li, J. R., & Sun, L. Z. (2017). Can Renal Resistive Index Predict Acute Kidney Injury After Acute Type A Aortic Dissection Repair?. *The Annals of thoracic surgery*, 104(5), 1583-1589. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2017.03.057>
- [33] Haitisma Mulier, J., Rozemeijer, S., Röttgering, J. G., Spoelstra-de Man, A., Elbers, P., Tuinman, P. R., de Waard, M. C., & Oudemans-van Straaten, H. M. (2018). Renal resistive index as an early predictor and discriminator of acute kidney injury in critically ill patients; A prospective observational cohort study. *PLoS one*, 13(6), e0197967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197967>
- [34] Regolisti, G., Maggiore, U., Cademartiri, C., Belli, L., Gherli, T., Cabassi, A., Morabito, S., Castellano, G., Gesualdo, L., & Fiaccadori, E. (2017). Renal resistive index by transesophageal and transperietal echo-doppler imaging for the prediction of acute kidney injury in patients undergoing major heart surgery. *Journal of nephrology*, 30(2), 243-253. <https://doi.org/10.1007/s40620-016-0289-2>
- [35] Marty, P., Szałjnic, S., Ferre, F., Conil, J. M., Mayeur, N., Fourcade, O., Silva, S., & Minville, V. (2015). Doppler renal resistive index for early detection of acute kidney injury after major orthopaedic surgery: a prospective observational study. *European journal of anaesthesiology*, 32(1), 37-43. <https://doi.org/10.1097/EJA.0000000000000120>
- [36] Boddi, M., Bonizzoli, M., Chiostrì, M., Begliomini, D., Molinaro, A., Tadini Buoninsegni, L., Gensini, G. F., & Peris, A. (2016). Renal Resistive Index and mortality in critical patients with acute kidney injury. *European journal of clinical investigation*, 46(3), 242-251. <https://doi.org/10.1111/eci.12590>
- [37] Gornik, I., Godan, A., & Gašparović, V. (2014). Renal resistive index at ICU admission and its change after 24 hours predict acute kidney injury in sepsis. *Critical Care*, 18(Suppl 1), P366. <https://doi.org/10.1186/cc13556>
- [38] Darmon, M., Bourmaud, A., Reynaud, M., Rouleau, S., Meziani, F., Boivin, A., Benyamina, M., Vincent, F., Lautrette, A., Leroy, C., Cohen, Y., Legrand, M., Morel, J., Terreaux, J., & Schnell, D. (2018). Performance of Doppler-based resistive index and semi-quantitative renal perfusion in predicting persistent AKI: results of a prospective multicenter study. *Intensive care medicine*, 44(11), 1904-1913. <https://doi.org/10.1007/s00134-018-5386-3>
- [39] Ninet, S., Schnell, D., Dewitte, A., Zeni, F., Meziani, F., & Darmon, M. (2015). Doppler-based renal resistive index for prediction of renal dysfunction reversibility: A systematic review and meta-analysis. *Journal of critical care*, 30(3), 629-635. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2015.02.008>
- [40] Schnell, D., & Darmon, M. (2012). Renal Doppler to assess renal perfusion in the critically ill: a reappraisal. *Intensive care medicine*, 38(11), 1751-1760. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2692-z>
- [41] Lerolle N. (2012). Please don't call me RI anymore; I may not be the one you think I am!. *Critical care*, 16(6), 174. <https://doi.org/10.1186/cc11831>
- [42] Dewitte, A., Coquin, J., Meyssignac, B., Joannès-Boyau, O., Fleureau, C., Roze, H., Ripoche, J., Janvier, G., Combe, C., & Ouattara, A. (2012). Doppler resistive index to reflect regulation of renal vascular tone during sepsis and acute kidney injury. *Critical care*, 16(5), R165. <https://doi.org/10.1186/cc11517>
- [43] Bude, R. O., & Rubin, J. M. (1999). Relationship between the resistive index and vascular compliance and resistance. *Radiology*, 211(2), 411-417. <https://doi.org/10.1148/radiology.211.2.r99ma48411>



## Ризик розвитку гострого пошкодження нирок у доношених новонароджених при використанні метилксантинів

Л. С. Стрижак \*<sup>A,B,C,D</sup>, І. О. Анікін <sup>E,F</sup>, О. В. Спахі <sup>F</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

### Ключові слова:

гостре пошкодження нирок, креатинін, метилксантини, новонароджений.

### Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).

С. 152-158

### \*E-mail:

[lilija\\_stryzhak@ukr.net](mailto:lilija_stryzhak@ukr.net)

Актуальним є вивчення нових можливостей застосування препаратів групи метилксантинів для запобігання прогресуванню гострого пошкодження нирок (ГПН) у доношених новонароджених із перинатальною асфіксією.

**Мета роботи** – оцінити ефективність та безпеку використання метилксантинів у доношених новонароджених для профілактики та консервативної терапії гострого пошкодження нирок.

**Матеріали та методи.** Для перевірки ефективності запропонованого способу терапії ГПН методом випадкового вибору обрали 38 немовлят, яких поділили на 2 групи. Догляд та інтенсивну терапію здійснили згідно з чинним законодавством (наказ МОЗ України № 225 від 28.03.2014 р.). Основна група (n = 20) отримувала терапію кофеїну цитратом, група порівняння (n = 18) – теофіліном, в яких запобігали розвитку гострого ураження нирок II та III стадії за KDIGO.

**Результати.** Вірогідна різниця за рівнем сироваткового креатиніну виявлена у групі кофеїну – показник був вищим за такий у групі порівняння, але не виходив за межі фізіологічної норми. Швидкість клубочкової фільтрації на 3 добу життя вища при використанні теофіліну, але в групі з використанням кофеїну була в межах референтних значень норми. Різницю за рівнем сечовини та темпом діурезу у групах не виявили. Результати показали відсутність статистичної значущості при використанні різних препаратів похідних метилксантинів, а саме теофіліну та кофеїну цитрату. Це пояснюється тим, що в основній групі 0 стадію ГПН за KDIGO мали 65,00 % (n = 13) пацієнтів, а I стадію – 35,00 % (n = 7), у групі порівняння – 55,56 % (n = 10) і 44,44 % (n = 8) відповідно. II та III стадії в обох групах дослідження не виявлені, отримані дані рівнозначні – U = 163,00, p = 0,6296. Однак застосування кофеїну цитрату може стати пріоритетним через кращий профіль безпеки порівняно з теофіліном. Кофеїн рідше викликає негативні наслідки, як-от непатологічне жовчне блювання, та має вірогідно нижчий відносний ризик виникнення цієї патології у малюків (RR 0,26 (95 % CI 0,10; 0,66)).

**Висновки.** Консервативна терапія метилксантинами в доношених новонароджених із перинатальною асфіксією запобігає розвитку II та III стадій ГПН за KDIGO. Необхідно продовжити накопичення матеріалу для підвищення статистичної вірогідності, а також для вивчення ранніх і віддалених наслідків такої терапії.

### Key words:

acute kidney injury, creatinine, methylxanthines, newborn.

### Pathologia

2021; 18 (2), 152-158

## The risk of development of acute kidney injury in full-term infants with administration of methylxanthines

L. S. Stryzhak, I. O. Anikin, O. V. Spakhi

Exploring new possibilities for the use of methylxanthines to prevent the development of acute kidney injury (AKI) in full-term infants with perinatal asphyxia.

**Aim:** to evaluate the efficacy and safety of methylxanthines in full-term infants for the prevention and conservative treatment of acute kidney injury.

**Materials and methods.** To test the effectiveness of the proposed method of AKI treatment, 38 infants were chosen and divided into 2 groups by random selection. Nursing and intensive care were according to current legislation (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 225 of March 28, 2014). The main group (n = 20) received therapy with caffeine citrate, the comparison group (n = 18) – theophylline. Both of these drugs were used to prevent the development of acute kidney injury – stage II and III according to KDIGO.

**Results.** A significant difference in serum creatinine was found in the main group - the level of serum creatinine was higher than in the comparison group, but did not exceed the physiological norm. GFR on the 3<sup>rd</sup> day of life was higher with administration of theophylline, but in the group of caffeine did not exceed the reference values of the norm. No differences between urea levels and diuresis rates were found in the groups. The initial results indicate the lack of statistical significance when using various drugs of the methylxanthine group, namely theophylline and caffeine citrate. This is explained by the fact that in the main group 65.00 % (n = 13) of patients had AKI stage 0 according to KDIGO, and 35.00 % (n = 7) had stage I. In the comparison group, 55.56 % (n = 10) and 44.44 % (n = 8), respectively. Stages II and III in both groups of the study did not develop, the obtained data are equivalent – U = 163,00; P = 0,6296. However, the use of caffeine citrate may become a priority due to a better safety profile compared to theophylline. Caffeine is less likely to cause adverse effects in the form of non-pathological bile vomiting and has significantly lower relative risk of non-pathological bile vomiting in infants (RR 0.26 (95 % CI 0.10; 0.66)).

**Conclusions.** Conservative methylxanthine therapy in full-term infants with perinatal asphyxia prevents the development of stages II and III of AKI according to KDIGO. However, it is necessary to continue the collection of material to increase the statistical significance, as well as to study the early and long-term consequences of this therapy.

## Риск развития острого повреждения почек у доношенных новорожденных при использовании метилксантинов

Л. С. Стрижак, И. А. Аникин, О. В. Спахи

Сегодня актуальным является изучение новых возможностей применения препаратов группы метилксантинов для предотвращения прогрессирования острого повреждения почек (ОПП) у доношенных новорожденных с перинатальной асфиксией.

**Цель работы** – оценить эффективность и безопасность использования метилксантинов у доношенных новорожденных для профилактики и консервативной терапии острого повреждения почек.

**Материалы и методы.** Для проверки эффективности предложенного способа терапии ОПП методом случайного выбора отобраны 38 младенцев, которых поделили на 2 группы. Уход и интенсивная терапия проведены в соответствии с действующим законодательством (приказ МЗ Украины № 225 от 28.03.2014 г.). Основная группа (n = 20) получала терапию кофеина цитратом, группа сравнения (n = 18) – теофиллином, у которых предупреждали развитие острого поражения почек II и III стадии по KDIGO.

**Результаты.** Достоверная разница по уровню сывороточного креатинина установлена в основной группе – показатель был выше группы сравнения, но не выходил за пределы физиологической нормы. Скорость клубочковой фильтрации на 3 сутки жизни выше при использовании теофиллина, но в группе с применением кофеина не выходила за пределы референтных значений нормы. Разница по уровню мочевины и темпу диуреза в группах не установлена. Результаты указывают на отсутствие статистической разницы при использовании различных препаратов группы метилксантинов, а именно теофиллина и кофеина цитрата. Это объясняется тем, что в основной группе 0 стадия ОПП по KDIGO отмечена у 65,00 % (n = 13) пациентов, I стадия – 35,00 % (n = 7); в группе сравнения – 55,56 % (n = 10) и 44,44 % (n = 8) соответственно. II и III стадии в обеих группах исследования не диагностированы, полученные данные равнозначны – U = 163,00; p = 0,6296. Однако применение кофеина цитрата может стать приоритетным из-за лучшего профиля безопасности по сравнению с теофиллином. Кофеин реже вызывает негативные последствия в виде непатологической желчной рвоты и имеет достоверно ниже относительный риск возникновения этой патологии у детей (RR 0,26 (95 % CI 0,10; 0,66)).

**Выводы.** Консервативная терапия метилксантинами у доношенных новорожденных с перинатальной асфиксией предупреждает развитие II и III стадий ГПН по KDIGO. Однако необходимо продолжить набор материала для повышения статистической достоверности, а также для изучения ранних и отдаленных последствий этой терапии.

**Ключевые слова:**  
острое повреждение почек, креатинин, метилксантины, новорожденный.

**Патология. 2021.**  
Т. 18, № 2(52).  
С. 152-158

Гостре пошкодження нирок (ГПН) у новонароджених, госпіталізованих у відділення інтенсивної терапії (ВІТН), – серйозне захворювання, що є недооціненим і недостатньо вивченим в Україні та світі.

Гостре пошкодження нирок – швидке, протягом ≤48 годин підвищення рівня сироваткового креатиніну понад в 1,5 раза порівняно з вихідним рівнем або підвищення рівня креатиніну крові на 0,3 мг/дл і більше протягом 48 годин, та/або зниження темпу діурезу до значень менше ніж 0,5 мл/кг/год за 6 год [1].

Розрізняють низку етіологічних факторів ниркової дисфункції, але найчастішим є перинатальна асфіксія. Ренальна система – одна з найбільш уразливих щодо дії гіпоксії. Частота пошкодження нирок при перинатальній асфіксії із наступним розвитком гіпоксично-ішемічної енцефалопатії (ГІЕ) становить 65–70 % [2,3].

Порівняно з немовлятами старшого віку новонароджені мають певні фізіологічні характеристики, що підвищують ризик розвитку ГПН, включаючи вищу сприйнятливість до гіперперфузії, вищий судинний опір, підвищену активність реніну в плазмі та знижену реабсорбцію натрію в проксимальних канальцях [4].

Єдиним препаратом безпосередньо сечогінної дії є фуросемід – петльовий діуретик, який найчастіше використовують у невідкладних ситуаціях при ГПН у новонароджених [5]. Доведено, що профілактичне використання фуросеміду для інтенсивної терапії ураження нирок неефективне та навіть небезпечне. Будь-яких рекомендацій щодо частоти та тривалості застосування фуросеміду немає. Результати епідеміо-

логічних досліджень свідчать: застосування петльових діуретиків може збільшити смертність хворих із важким ураженням нирок у критичних станах.

Альтернативний спосіб – застосування антагоністів аденозинових рецепторів, тобто метилксантинів. Ця група препаратів може запобігати або корегувати аденозин-індуковану ренальну вазоконстрикцію. Використання метилксантинів – препаратів кофеїну цитрату та теофіліну – рекомендоване недоношеним новонародженим для профілактики приступів апное та регламентоване національним клінічним Протоколом надання допомоги новонародженій дитині з дихальними розладами (наказ МОЗ України № 484 від 21.08.2008 р.). Препарати цієї групи мають інші механізми дії, важливі для критично хворих пацієнтів, зокрема діуретичний і ренопротекторний ефекти [6].

Нині для малюків із важкою перинатальною асфіксією, які мають високий ризик розвитку гострого ураження нирок, єдиний спосіб профілактики – можливість одноразового використання теофіліну, рекомендованого міжнародною групою експертів Kidney Disease: Improving Global Outcomes (2012 р.) із рівнем доказовості 2B, але без оголошення конкретної дози та часу введення [1].

Отже, оптимізація способу лікування гострого пошкодження нирок різного ступеня тяжкості в доношених новонароджених шляхом вивчення нових можливостей застосування препаратів групи метилксантинів – перспективний напрям наукового пошуку з проблеми неонатальної інтенсивної терапії ГПН.

## Мета роботи

Оцінити ефективність і безпеку використання метилксантинів у доношених новонароджених для профілактики та консервативної терапії гострого пошкодження нирок на тлі гіпоксично-ішемічної енцефалопатії помірного або важкого ступеня.

## Матеріали і методи дослідження

Припустили, що раннє призначення метилксантинів у немовлят дасть змогу досягти зниження частоти розвитку ГПН у стадії II та III за KDIGO, а застосування кофеїну буде безпечнішим та ефективнішим щодо теофіліну.

Для перевірки гіпотези на базі відділення інтенсивної терапії новонароджених третинного рівня КНП «Запорізька обласна дитяча лікарня» ЗОР, яка є клінічною базою Запорізького державного медичного університету, здійснили проспективне, рандомізоване, контрольоване дослідження. У період із вересня 2019 р. до березня 2021 р. обрали 38 немовлят, народжених у терміні вагітності від 37 тижнів. Стаціонарну допомогу надавали новонародженим, які транспортовані з пологових будинків і госпіталів другого рівня надання допомоги.

Універсальна вимога – обов'язкова наявність діагностичних критеріїв асфіксії, а також клінічних ознак помірної або важкої гіпоксично-ішемічної енцефалопатії, яка потребувала у частини малюків виконання програми системної лікувальної гіпотермії, згідно з наказом МОЗ України від 28.03.2014 р. №225 (уніфікований клінічний протокол «Початкова, реанімаційна і післяреанімаційна допомога новонародженим в Україні»).

У дослідження залучили доношених новонароджених у гострому періоді помірної або важкої гіпоксично-ішемічної енцефалопатії, оцінка за шкалою Thompson (1979 р.)  $\geq 10$  балів (легка ГІЕ – 1–10 балів, помірна – 11–14 балів, важка –  $> 15$  балів), вік  $\leq 24$  го-

дин від народження. У дослідження не залучали дітей із проявами затримки внутрішньоутробного розвитку, септичного процесу та інфекційними ураженнями ЦНС, вродженими вадами розвитку, з пологовими травматичними чи геморагічними пошкодженнями ЦНС, немовлят із гестаційним віком  $\leq 37$  тижнів, малюків із I стадією гіпоксично-ішемічної енцефалопатії. Так, на початку, на етапі обстеження залучили 42 новонароджених, але надалі із дослідження виключили 4 малюків у зв'язку з вродженими вадами нирок ( $n = 2$ ), геморагічним ураженням ЦНС ( $n = 1$ ), розвитком раннього неонатального сепсису ( $n = 1$ ) (рис. 1).

Для вивчення особливостей впливу різних препаратів групи метилксантинів на стан ренальної системи немовлят їх рандомізували на 2 групи за допомогою таблиці випадкових чисел, згенерованих у програмі Statistica.

В основну групу включили 20 пацієнтів, які отримували терапію кофеїну цитратом (Peuona®) в дозі навантаження 10 мг/кг внутрішньовенно крапельно з інтервалом 12 годин у першу добу життя, в дозі підтримання 5 мг/кг з інтервалом 12 годин на 2 і 3 добу. Група порівняння – 18 новонароджених, репрезентативних за віком, статтю та терміном гестації, яким призначали лікування теофіліном (Еуфілін-Дарниця®) у дозі 3 мг/кг внутрішньовенно крапельно з інтервалом 6 годин протягом перших 3 днів життя. Функцію зовнішнього дихання в обох групах дітей протезували штучною вентиляцією легень (ШВЛ) до відновлення рівня свідомості, припинення судом та появи спроби самостійного дихання.

На 1, 3 і 5 добу після народження здійснювали комплексне оцінювання соматичного, неврологічного статусу малюків і стратифікацію ступеня тяжкості гострого пошкодження нирок за неонатальними модифікованими критеріями за шкалою KDIGO (2012 р.), використовуючи клінічні, біохімічні, ультразвукові методи дослідження та амплітудно-інтегровану енцефалографію (аЕЕГ) [7].

Для розрахунку швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за креатиніном використовували формулу Шварца:  $ШКФ (мл/хв/1,73 м^2) = k \times d (см) / \text{креатинін сироватки} (мкмоль/л) \times 0,0113$ , де  $k = 0,45$  для доношених новонароджених.

В обох групах із терапії виключили нефротоксичні препарати: аміноглікозиди, нестероїдні протизапальні засоби, амфотерицин В тощо.

Статистичний аналіз результатів виконали за допомогою пакетів прикладних комп'ютерних програм Statistica 13.0 (№ ліцензії JPZ8041382130ARCN10-J) та Microsoft Excel 2013 (№ ліцензії 00331-10000-00001-AA404). У тексті й таблицях дані наведені як  $M \pm SD$  (середнє арифметичне  $\pm$  стандартне відхилення) у разі нормального розподілу ознаки,  $Me (Q1; Q3)$  (медіана вибірки із зазначенням інтерквартильного розмаху верхнього (75 %) та нижнього (25 %) квантилів) – при розподілі, що відрізнявся від нормального. Категоріальні змінні наведені як абсолютна кількість випадків ( $n$ ) у групі та частота у відсотках (%). Для оцінювання вірогідності різниці абсолютних значень середніх величин між незалежними вибірками використовували непараметричні методи статистичного



Рис. 1. Критерії залучення та виключення пацієнтів із дослідження.

Таблиця 1. Характеристика груп дослідження

Показник, одиниці вимірювання	Основна група (n = 20)	Група порівняння (n = 18)	p	U
Термін гестації, тижні	39,00 (38,00; 40,00)	40,00 (38,00; 41,00)	0,3965	150,50
Маса тіла при народженні, кг	3,23 (2,96; 3,54)	3,46 (3,20; 3,57)	0,2604	141,00
Зріст, см	52,00 (51,00; 54,00)	53,00 (52,00; 55,00)	0,2422	139,50
Оцінка за шкалою Апгар на першій хвилині, бали	3,0 (2,50; 5,50)	4,00 (3,00; 6,00)	0,4130	151,50
Оцінка за шкалою Апгар на п'ятій хвилині, бали	5,50 (4,00; 7,00)	6,50 (5,00; 7,00)	0,3202	145,50
Реанімаційні заходи при народженні, n (%)	13 (65%)	13 (72,22%)	0,7148	167,00
Ступінь тяжкості ГІЕ за шкалою Thompson, бали	14,50 (13,00; 17,00)	13,00 (13,00; 16,00)	0,0593	115,00
Судоми, n (%)	16,00 (80,00 %)	16,00 (88,89 %)	0,6504	164,00
Лікувальна гіпотермія, n (%)	19,00 (95,00 %)	16 (88,89 %)	0,7589	169,00
Хлопчики, n (%)	12 (60 %)	12 (66,67 %)	0,7367	168,00
Дівчатка, n (%)	8 (40 %)	6 (33,33 %)		
Вагінальні пологи, n (%)	12 (60,00 %)	11 (61,11 %)	0,2729	142,00
Кесарів розтин, n (%)	8 (40,00 %)	7 (38,89 %)		
Вік на час надходження, години	7,50 (3,50; 10,50)	8,00 (6,00; 11,00)	0,4649	154,50

аналізу – критерій Манна–Вітні (U). Рівень  $p < 0,05$  визначили як вірогідний у всіх тестах.

Дослідження виконали відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено локальними етичними комітетами усіх наведених у роботі установ. На здійснення досліджень отримали інформовану письмову згоду батьків.

## Результати

Аналіз груп спостереження показав відсутність статистично вірогідної різниці за типом розродження матерів: в основну групу включили 12 (60,00 %) немовлят, народжених самостійно, та 8 (40,00 %) – шляхом кесаревого розтину; у групу порівняння – 11 (61,11 %) та 7 (38,89 %) відповідно,  $U = 142,00$ ,  $p = 0,2729$ . Середня оцінка за шкалою Апгар на першій хвилині життя в основній групі становила 3,00 (2,50; 5,50) бала, у групі порівняння – 4,00 (3,00; 6,00),  $U = 151,50$ ,  $p = 0,4130$ . На п'яту хвилину життя немовлята мали 5,50 (4,00; 7,00) та 6,50 (5,00; 7,00) бала відповідно,  $U = 145,50$ ,  $p = 0,3202$ . Первинну реанімацію в пологовій залі здійснили однакової кількості дітей – 13 (65,00 %) і 13 (72,00 %),  $U = 167,00$ ,  $p = 0,7148$ . Немовлята надходили у клініку в першу добу життя. Середній вік для основної групи – 7,50 (3,50; 10,50) години, для групи порівняння – 8,00 (6,00; 11,00) години відповідно, показники зіставні –  $U = 154,50$ ,  $p = 0,4649$ . Основна група та група порівняння репрезентативні за гестаційним віком, вагою при народженні, статтю (табл. 1).

Важкість стану малюків і перебіг ГІЕ підтверджено оцінкою за шкалою Thompson. Для немовлят основної групи показник становив 14,5 (13,0; 17,0) бала, а для групи порівняння – 13,0 (13,0; 16,0) бала,  $U = 115,00$ ,  $p = 0,0593$ . Додатково моніторинг церебральних функцій показав різноманіття патологічних патернів аЕЕГ, а також судомну активність, зареєстровану і клінічно, і на аЕЕГ. Судоми визначили в однакової кількості дітей із груп дослідження – 16,00 (80,00 %) і 16 (88,89 %),  $U = 164,00$ ,  $p = 0,6504$ .

Системну лікувальну гіпотермію здійснили за показаннями в обох групах дослідження: в основній – 19 (95,00 %), у групі порівняння – 16 (88,89 %) відповідно,  $U = 169,00$ ,  $p = 0,7589$ . Не виявили вірогідну різницю показників під час погодинного визначення темпу ді-

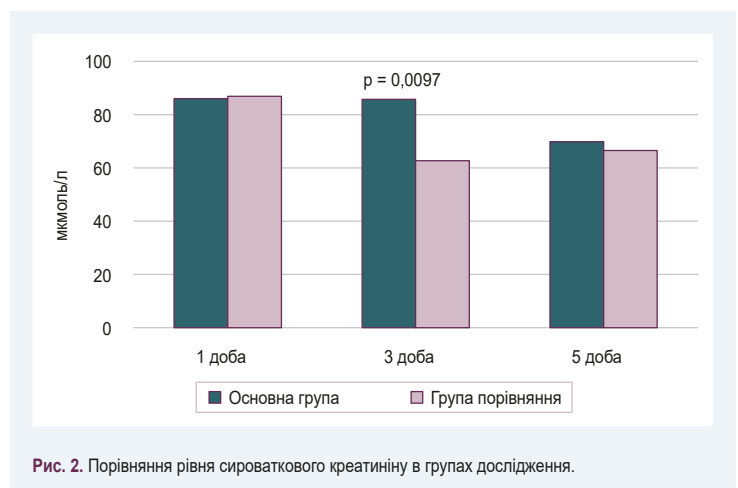


Рис. 2. Порівняння рівня сироваткового креатиніну в групах дослідження.

резу протягом перших 5 днів дослідження. Середні показники на 1, 3 та 5 добу для основної групи становили 2,20 (1,60; 3,65) мл/кг/год, 2,80 (2,40; 3,30) мл/кг/год і 2,50 (2,00; 3,55) мл/кг/год, для групи порівняння – 3,15 (2,60; 3,50) мл/кг/год, 3,00 (2,70; 3,60) мл/кг/год і 2,70 (2,20; 3,20) мл/кг/год відповідно,  $U = 135,50$ ,  $p = 0,1983$ ;  $U = 142,00$ ,  $p = 0,2729$ ;  $U = 163,00$ ,  $p = 0,6295$ .

Досліджуючи біохімічний профіль, виявили: за рівнем сироваткового креатиніну групи не відрізнялися на 1 та 5 добу життя, показники становили 85,96 (67,47; 110,60) мкмоль/л та 69,84 (52,89; 101,07) мкмоль/л для основної групи, 86,88 (70,50; 97,49) мкмоль/л та 66,50 (57,24; 77,69) мкмоль/л відповідно для групи порівняння,  $U = 157,00$ ,  $p = 0,5107$  та  $U = 164,00$ ,  $p = 0,6504$ . Однак виявили статистично вірогідне підвищення рівня креатиніну в немовлят, які отримували кофеїну цитрат, на 3 добу життя показник становив 85,76 (66,79; 98,93) мкмоль/л проти 62,71 (46,76; 72,72) мкмоль/л при застосуванні теофіліну. Втім рівень цього маркера в основній групі не перевищує гранично допустиму норму для новонароджених,  $U = 91,00$ ,  $p = 0,0097$  (рис. 2).

Аналізуючи рівень сечовини, визначили: в обох групах показники на 1, 3 та 5 добу відповідали фізіологічній нормі.

Показники ШКФ за креатиніном для обох груп у першу добу життя не мали статистично вірогідної різниці та становили 30,02 (22,54; 34,05) мл/хв/1,73м<sup>2</sup>

Таблиця 2. Порівняння наслідків лікування у групах дослідження

Показник, одиниці вимірювання	Основна група (n = 20)	Група порівняння (n = 18)	p	U
Тривалість ШВЛ, дні	5,99 (5,43; 7,99)	5,65 (4,62; 6,57)	0,1933	135,00
Тривалість перебування у ВАІТН, ліжко-дні	12,00 (9,50; 15,50)	11,00 (10,00; 13,00)	0,7925	170,50
Тривалість перебування у стаціонарі, ліжко-дні	24,00 (19,50; 32,50)	24,00 (20,00; 33,00)	0,9301	176,50

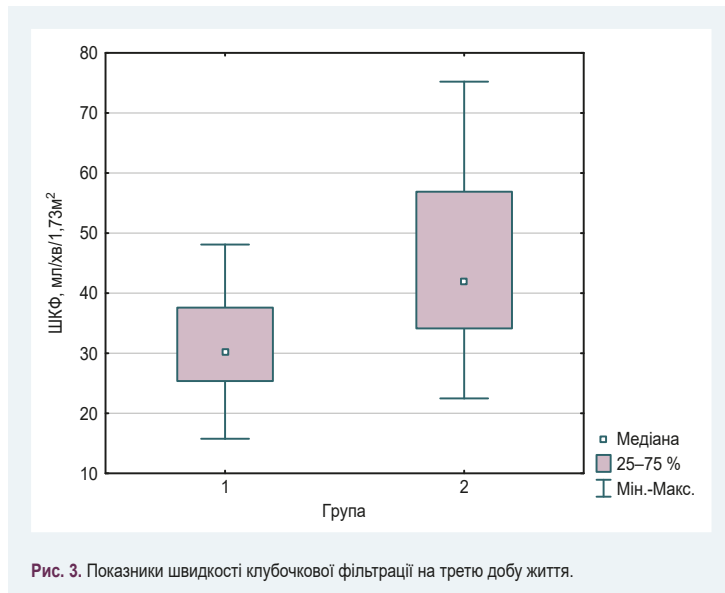


Рис. 3. Показники швидкості клубочкової фільтрації на третю добу життя.

для основної групи та 30,81 (27,49;37,55) мл/хв/1,73м<sup>2</sup> для групи порівняння, U = 143,00, p = 0,2860. На третю добу життя ШКФ достовірно вища при застосуванні теофіліну – 42,06 (34,14; 56,89) мл/хв/1,73м<sup>2</sup>, а використовуючи кофеїну цитрат – 30,25 (25,37; 37,60) мл/хв/1,73м<sup>2</sup>, U = 86,00, p = 0,0063, хоча результати не виходили за межі референтних значень норми (для новонароджених 3–7 днів – 20–30 мл/хв/1,73м<sup>2</sup>). На п'яту добу життя ШКФ не відрізнялася, становлячи 35,57 (26,01; 45,41) мл/хв/1,73м<sup>2</sup> в основній групі та 39,69 (31,95; 46,62) мл/хв/1,73м<sup>2</sup> у групі порівняння, U = 149,00; p = 0,3726 (рис. 3).

Додаткового призначення фуросеміду потребували 8 (40,00 %) немовлят основної групи та 5 (27,78 %) новонароджених групи порівняння за умови розвитку гіпергідратації в пацієнтів зі стабільною гемодинамікою та адекватним темпом діурезу, U = 158,00, p = 0,5296.

В основній групі у 65,00 % (n = 13) дітей вдалося запобігти розвитку ГПН, що відповідає 0 стадії за KDIGO, 35,00 % (n = 7) немовлят мали I стадію за KDIGO. У групі порівняння 0 стадія за KDIGO виявлена у 55,56 % (n = 10) малюків, I стадія за KDIGO – у 44,44 % (n = 8). II та III стадії за KDIGO в обох групах дослідження не виявлені, U = 163,00, p = 0,6296.

Центральну гемодинаміку підтримували введенням симптоміметиків та інотропів для забезпечення стабільного рівня артеріального тиску згідно з віковими нормами. Це забезпечувало достатню ниркову перфузію. Середня доза дофаміну для немовлят обох груп на першу добу дослідження становила 7,50 мкг/кг/хв (5,00; 10,00), U = 165,00, p = 0,6716; на 3 добу – 5,00 мкг/кг/хв (5,00; 10,00), U = 157,00, p = 0,5107 із поступовим зниженням дози та повним скасуванням до 5 дня, U = 167,00, p = 0,7148. Частина новонародже-

них – 6 (30,00 %) основної групи та 2 (11,11 %) групи порівняння – потребували додаткового призначення фенілефрину при зниженні системного артеріального тиску на тлі безперервної інфузії дофаміну в дозі  $\geq 10$  мкг/кг/хв, U = 146,00, p = 0,3274.

Групи спостереження не відрізнялися за тривалістю та типом респіраторної підтримки. В обох групах немовлятам здійснювали пролонговану штучну вентиляцію легень, середня тривалість на ШВЛ становила 5,99 (5,43; 7,99) дня в основній групі та 5,65 (4,62; 6,57) дня у групі порівняння, U = 135,00, p = 0,1933.

Не виявили різницю за кількістю ліжко-днів у відділенні інтенсивної терапії та у стаціонарі загалом: 12,00 (9,50; 15,50) та 24,00 (19,50; 32,50) дня для основної групи, 11,00 (10,00; 13,00) та 24,00 (20,00; 33,00) дня – для немовлят групи порівняння, U = 170,50, p = 0,7925 та U = 176,50, p = 0,9301 (табл. 2).

## Обговорення

Результати дослідження показали ефективність застосування препаратів похідних метилксантинів для профілактики та лікування гострого пошкодження нирок у доношених новонароджених на тлі помірної чи важкої гіпоксично-ішемічної енцефалопатії.

Використанню теофіліну в новонароджених та вивченню його ефектів приділяють увагу і вітчизняні, й закордонні дослідники. Бабінцева А. Г. і співавт. показали, що призначення препаратів групи метилксантинів, діючою речовиною яких є теофілін, у доношених новонароджених із тяжкою перинатальною патологією, сприяє відновленню функцій сечовидільної системи (діурезу, балансу маси тіла, рівня креатиніну та ШКФ, реальних доплерометричних характеристик), значно поліпшує їх [8].

Сучасні дані наведені в метааналізі, здійсненому Girish Chandra Bhatt (2019 р.), із залученням 436 немовлят з асфіксією. З-поміж цих хворих 219 новонароджених отримували 1 дозу теофіліну для запобігання розвитку ГПН, а 217 дітей – плацебо. В результаті виявили зменшення частоти пошкодження нирок на 60 % у немовлят. Позитивні клінічні ефекти теофіліну пов'язані з підвищенням ШКФ і погодинного діурезу [9].

Інший узагальнений аналіз, виконаний Ioannis Bellos, включив 7 рандомізованих контрольованих досліджень із залученням 458 новонароджених з асфіксією: 231 дитина отримувала теофілін, 227 осіб залучені у групу порівняння. Доза теофіліну становила 5 мкг/кг для 5 досліджень і 8 мкг/кг для 2 досліджень. Виявили, що введення теофіліну асоціювалося зі значущим зниженням рівня креатиніну (MD: -0,57 мг/дл, 95 % ДІ: [-0,68, -0,46]), підвищенням ШКФ (MD: 13,79 мл/хв/1,73 м<sup>2</sup>, 95 % ДІ: [11,91, 15,68]), збільшенням темпу діурезу, негативним балансом рідини та зниженням частоти розвитку гострого пошкодження нирок

Таблиця 3. Несприятливі наслідки при терапії метилксантинами у групах дослідження

Показник, одиниці вимірювання	Основна група (n = 20)	Група порівняння (n = 18)	p	U
Частота серцевих скорочень, уд./хв, 1 доба	112,50 (99,50; 133,00)	123,00 (115,00; 143,00)	0,0900	121,50
Частота серцевих скорочень, уд./хв, 3 доба	113,50 (105,00; 119,50)	127,50 (107,00; 144,00)	0,1694	132,50
Частота серцевих скорочень, уд./хв, 5 доба	139,00 (120,50; 148,50)	138,50 (130,00; 156,00)	0,6295	163,00
Непатологічне жовчне блювання	4,00 (20,00 %)	14,00 (77,78 %)	0,0025	76,00
Шлунково-кишкова кровотеча	1,00 (5,00 %)	2,00 (11,00 %)	0,7589	169,00
Порушення серцевого ритму	0	0	1,0000	180,00

(OR: 0,24, 95 % ДІ: [0,16, 0,36]) у новонароджених із помірною та важкою гіпоксично-ішемічною енцефалопатією [10].

У нашому дослідженні також отримали дані, які вказують на ефективність використання теофіліну. Схема призначення відповідала рекомендаціям, що наведені в Neofax®2010, але дещо відрізнялась від інших досліджень. Утім нині оптимальна доза препарату не визначена, недостатньо вивчені також несприятливі результати у клінічній практиці.

Пошук відомостей у фаховій літературі показав, що майже відсутні дослідження щодо використання кофеїну цитрату для ренопротекції в доношених новонароджених. Але кофеїну цитрат використовують у недоношених новонароджених для зниження частоти та тяжкості пошкодження нирок. Так, у 2018 р. опубліковано результати міжнародного багатоцентрового когортного дослідження AWAKEN (Оцінювання всесвітньої епідеміології гострої ниркової травми в новонароджених) із залученням 675 недоношених новонароджених, які переведені у 24 відділення інтенсивної терапії госпіталів III та IV рівнів. Виявили, що ГПН мали 122 (18,1 %) немовлят у перші 7 днів життя. Ця патологія розвивалася рідше в новонароджених, яким профілактично вводили кофеїн, на відміну від тих, хто не отримував цей препарат (50 із 447 (11,2 %) проти 72 із 228 (31,6 %),  $p = 0,01$ ). У разі застосування кофеїну в недоношених новонароджених рідше розвивалися II або III стадії пошкодження нирок за шкалою KDIGO [11].

Отже, обидва метилксантини мають позитивний ефект щодо гострого пошкодження нирок порівняно з плацебо.

У нашому дослідженні призначення кофеїну цитрату мало зіставну ефективність порівняно з теофіліном щодо профілактики розвитку ГПН у стадії II та III за KDIGO, а також хороший профіль безпеки.

Відомо, що нині є істотна перевага у призначенні кофеїну цитрату для запобігання апное й іншим хронічним захворюванням у недоношених новонароджених порівняно із теофіліном. Це підтверджують результати відомого багатоцентрового дослідження В. Schmidt із дуже великою вибіркою малюків. Автори повідомили і про короткострокову, і віддалену ефективність та безпеку терапії кофеїном у немовлят із дуже низькою вагою при народженні. Частота токсичності, спричинена цим лікарським засобом, доволі низька та має перевагу над іншими препаратами цієї групи [12].

До побічних наслідків, які притаманні метилксантинам, належать тахікардія, аритмія, зниження артеріального тиску, блювання, шлунково-кишкові кровотечі, гематурія або альбумінурія. Є обмежена кількість публікацій щодо впливу метилксантинів або лікувальної гіпотермії на частоту цих проблем. Nukui J.

et al. опублікували роботу, в якій повідомили: діти, котрі зазнали впливу терапевтичної гіпотермії, на 26 % частіше (RR 6,0 (95 % CI 1,4; 25,4)) страждають від непатологічного жовчного блювання. Також у дослідженні завдяки математичній регресії показано відсутність впливу на виникнення блювання таких факторів, як сепсис, некоректне положення назогастрального зонда, неконтрольоване або неправильне введення опіоїдів і міорелаксантів [13].

У нашому дослідженні отримали дані, що вказують на вірогідно вищий відносний ризик виникнення непатологічного жовчного блювання в малюків, які отримували теофілін (RR 0,26 (95 % CI 0,10; 0,66)). Цю проблему виявили в 77,78 % немовлят групи порівняння та 20,00 % основної групи; вона повторювалася понад двічі за добу та потребувала призначення симптоматичної терапії,  $U = 76,00$ ,  $p = 0,0025$ .

Отже, тип метилксантину впливає на виникнення непатологічного жовчного блювання в дітей, які зазнали терапевтичного охолодження. Використання кофеїну цитрату для запобігання ГПН у доношених новонароджених із ГІЕ може стати пріоритетним порівняно з теофіліном, враховуючи кращий профіль безпеки цього препарату.

Під час дослідження в малюків не виявили побічні ефекти, як-от порушення ритму, епізоди неконтрольованої тахікардії та гематурії (табл. 3).

Імовірно, нечисленна основна група – головне обмеження цього дослідження, а тому потрібно продовжити накопичення матеріалу для підвищення статистичної вірогідності та визначення ранніх і віддалених наслідків такої терапії.

## Висновки

1. Консервативна терапія метилксантинами запобігає розвитку гострого пошкодження нирок у доношених новонароджених із помірною або важкою гіпоксично-ішемічною енцефалопатією у стадії II та III за KDIGO.

2. Використання кофеїну цитрату має переваги порівняно з теофіліном унаслідок кращого профілю безпеки препарату та знижує ризик розвитку негативних наслідків, як-от непатологічне жовчне блювання (RR 0,26 (95 % CI 0,10; 0,66),  $p = 0,0025$ ).

**Перспективи подальших досліджень.** Необхідні масштабні дослідження щодо ефективності та безпеки застосування метилксантинів у доношених новонароджених із помірною чи важкою гіпоксично-ішемічною енцефалопатією для запобігання прогресуванню гострого пошкодження нирок.

**Фінансування**

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Оптимізація діагностики та інтенсивної терапії поліетиологічних уражень головного мозку, кишково-шлункового тракту, нирок у новонароджених та дітей старшого віку», № держреєстрації 0118U007142.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.04.2021

Після доопрацювання / Revised: 08.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 14.06.2021

**Відомості про авторів:**

Стрижак А. С., очний аспірант каф. дитячої хірургії та анестезіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-4204-2159](https://orcid.org/0000-0002-4204-2159)

Анікін І. О., канд. мед. наук, доцент каф. дитячої хірургії та анестезіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1125-0123](https://orcid.org/0000-0002-1125-0123)

Спахи О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячої хірургії та анестезіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7722-8730](https://orcid.org/0000-0001-7722-8730)

**Information about authors:**

Stryzhak L. S., PhD student of the Department of Pediatric Surgery and Anesthesiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Anikin I. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric Surgery and Anesthesiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Spakhi O. V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Pediatric Surgery and Anesthesiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Сведения об авторах:**

Стрижак А. С., очный аспирант каф. детской хирургии и анестезиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Аникин И. А., канд. мед. наук, доцент каф. детской хирургии и анестезиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Спахи О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детской хирургии и анестезиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Список літератури**

- [1] KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury / J. A. Kellum, P. Aspin, R. S. Barsoum et al. *Kidney International Supplements*. 2012. Vol. 2, Iss. 1. P. 1-138.
- [2] Gupta C., Massaro A. N., Ray P. E. A new approach to define acute kidney injury in term newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatric nephrology*. 2016. Vol. 31, Iss. 7. P. 1167-1178. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3317-5>
- [3] Evaluation of glomerular and tubular renal function in neonates with birth asphyxia / S. Kaur, S. Jain, A. Saha et al. *Annals of tropical paediatrics*. 2011. Vol. 31, Iss. 2. P. 129-134. <https://doi.org/10.1179/146532811X12925735813922>
- [4] Libório A. B., Branco K. M., Torres de Melo Bezerra C. Acute kidney injury in neonates: from urine output to new biomarkers. *BioMed research international*. 2014. Vol. 2014. P. 601568. <https://doi.org/10.1155/2014/601568>
- [5] The use of bumetanide for oliguric acute renal failure in preterm infants / M. Oliveros, J. T. Pham, E. John et al. *Pediatric critical care medicine*. 2011. Vol. 12, Iss. 2. P. 210-214. <https://doi.org/10.1097/PCC.0b013e3181e912a7>
- [6] A prospective assessment of the effect of aminophylline therapy on urine output and inflammation in critically ill children / R. F. Tamburro, N. J. Thomas, G. D. Ceneviva et al. *Frontiers in pediatrics*. 2014. Vol. 2. P. 59. <https://doi.org/10.3389/fped.2014.00059>

- [7] Neonatal Acute Kidney Injury / Selewski, D. T., Charlton, J. R., Jetton, J. G. et al. *Pediatrics*. 2015. Vol. 136, Iss. 2. P. e463-e473. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-3819>
- [8] Годованец Ю. Д., Бабінцева А. Г. Інтенсивна терапія новонароджених: удосконалення підходів корекції ренальних порушень за умови перинатальної патології. *Zdorov'e rebenka*. 2018. Т. 3, № 3. С. 302-310. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.13.3.2018.132913>
- [9] Theophylline and aminophylline for prevention of acute kidney injury in neonates and children: a systematic review / G. C. Bhatt, P. Gogia, M. Bitzan, Das R. R. *Archives of disease in childhood*. 2019. Vol. 104, Iss. 7. P. 670-679. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-315805>
- [10] Bellos I., Pandita A., Yachha M. Effectiveness of theophylline administration in neonates with perinatal asphyxia: a meta-analysis. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2019. P. 1-9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1673722>
- [11] Association Between Early Caffeine Citrate Administration and Risk of Acute Kidney Injury in Preterm Neonates: Results From the AWAKEN Study / M. W. Harer, D. J. Askenazi, L. J. Boohaker et al. *JAMA pediatrics*. 2018. Vol. 172, Iss. 6. P. e180322. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.0322>
- [12] Caffeine therapy for apnea of prematurity / Schmidt B., Roberts R. S. et al. Davis P. *The New England journal of medicine*. 2006. Vol. 354, Iss. 20. P. 2112-2121. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa054065>
- [13] Non-pathological bilious vomiting complicating therapeutic hypothermia for hypoxic ischaemic encephalopathy in neonates: a retrospective cohort study / J. Hukui, S. Jones, K. Coughlin et al. *BMJ paediatrics open*. 2017. Vol. 1, Iss. 1. P. e000034. <https://doi.org/10.1136/bmjpo-2017-000034>

**References**

- [1] Kellum, J. A., Aspin, P., Barsoum, R. S., Burdman, E. A., Goldstein, S. L., ... & Uchino, Shigehiko. (2012). KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury / *Kidney International Supplements*. 2012. Vol. 2, Iss. 1. P. 1-138.
- [2] Gupta, C., Massaro, A. N., & Ray, P. E. (2016). A new approach to define acute kidney injury in term newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatric nephrology*, 31(7), 1167-1178. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3317-5>
- [3] Kaur, S., Jain, S., Saha, A., Chawla, D., Parmar, V. R., Basu, S., & Kaur, J. (2011). Evaluation of glomerular and tubular renal function in neonates with birth asphyxia. *Annals of tropical paediatrics*, 31(2), 129-134. <https://doi.org/10.1179/146532811X12925735813922>
- [4] Libório, A. B., Branco, K. M., & Torres de Melo Bezerra, C. (2014). Acute kidney injury in neonates: from urine output to new biomarkers. *BioMed research international*, 2014, 601568. <https://doi.org/10.1155/2014/601568>
- [5] Oliveros, M., Pham, J. T., John, E., Resheidat, A., & Bhat, R. (2011). The use of bumetanide for oliguric acute renal failure in preterm infants. *Pediatric critical care medicine*, 12(2), 210-214. <https://doi.org/10.1097/PCC.0b013e3181e912a7>
- [6] Tamburro, R. F., Thomas, N. J., Ceneviva, G. D., Dettorre, M. D., Brummel, G. L., & Lucking, S. E. (2014). A prospective assessment of the effect of aminophylline therapy on urine output and inflammation in critically ill children. *Frontiers in pediatrics*, 2, 59. <https://doi.org/10.3389/fped.2014.00059>
- [7] Selewski, D. T., Charlton, J. R., Jetton, J. G., Guillet, R., Mhanna, M. J., Askenazi, D. J., & Kent, A. L. (2015). Neonatal Acute Kidney Injury. *Pediatrics*, 136(2), e463-e473. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-3819>
- [8] Годованец, Ю. Д., & Бабінцева А. Г. (2018). Інтенсивна терапія новонароджених: удосконалення підходів корекції ренальних порушень за умови перинатальної патології [Intensive care of newborns: improvement of approaches to the correction of renal disorders under perinatal pathology]. *Zdorovia dytyny*, 13(3), 302-310. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.13.3.2018.132913>
- [9] Bhatt, G. C., Gogia, P., Bitzan, M., & Das, R. R. (2019). Theophylline and aminophylline for prevention of acute kidney injury in neonates and children: a systematic review. *Archives of disease in childhood*, 104(7), 670-679. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-315805>
- [10] Bellos, I., Pandita, A., & Yachha, M. (2019). Effectiveness of theophylline administration in neonates with perinatal asphyxia: a meta-analysis. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*, 1-9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1673722>
- [11] Harer, M. W., Askenazi, D. J., Boohaker, L. J., Carmody, J. B., Griffin, R. L., Guillet, R., Selewski, D. T., Swanson, J. R., Charlton, J. R., & Neonatal Kidney Collaborative (NKC) (2018). Association Between Early Caffeine Citrate Administration and Risk of Acute Kidney Injury in Preterm Neonates: Results From the AWAKEN Study. *JAMA pediatrics*, 172(6), e180322. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.0322>
- [12] Schmidt, B., Roberts, R. S., Davis, P., Doyle, L. W., Barrington, K. J., Ohlsson, A., Solimano, A., Tin, W., & Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group (2006). Caffeine therapy for apnea of prematurity. *The New England journal of medicine*, 354(20), 2112-2121. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa054065>
- [13] Hukui, J., Jones, S., Coughlin, K., Levin, S., & Foster, J. R. (2017). Non-pathological bilious vomiting complicating therapeutic hypothermia for hypoxic ischaemic encephalopathy in neonates: a retrospective cohort study. *BMJ paediatrics open*, 1(1), e000034. <https://doi.org/10.1136/bmjpo-2017-000034>

## Патоморфологічні та імуногістохімічні особливості слизової оболонки стравоходу в дітей із бронхіальною астмою, що поєднана з рефлюкс-езофагітом

Т. Д. Задорожна <sup>ID</sup>\*<sup>C,F</sup>, Ю. Г. Антипкін <sup>ID</sup><sup>A</sup>, Т. Р. Уманець <sup>ID</sup><sup>D,E</sup>, А. А. Буратинська <sup>ID</sup><sup>B,D</sup>,  
Т. М. Арчакова <sup>ID</sup><sup>B</sup>, М. І. Кюрджієва <sup>ID</sup><sup>B</sup>, С. М. Килихевич <sup>ID</sup><sup>B</sup>

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

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

Найбільш поширена коморбідна патологія в дітей із бронхіальною астмою (БА) – гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ), що асоційована з рефлюкс-езофагітом (РЕ), котра становить від 32 % до 80 %. Гістологічні зміни слизової оболонки стравоходу при РЕ описані в дорослих і дітей, однак є тільки поодинокі дослідження, де наведені морфологічні особливості слизової оболонки стравоходу при поєднаній патології з урахуванням тяжкості перебігу БА.

**Мета роботи** – вивчити гістологічні та імуногістохімічні особливості слизової оболонки стравоходу в дітей із бронхіальною астмою, що поєднана з рефлюкс-езофагітом.

**Матеріали та методи.** У 43 дітей віком 6–17 років із РЕ та БА тяжкого перебігу (1 група), з БА легкого/середньо-тяжкого перебігу (2 група) та без БА (3 група) дослідили біоптати слизової оболонки з дистальних і проксимальних відділів стравоходу гістологічними й імуногістохімічними методами. Імуногістохімічне дослідження виконали в серійних парафінових зрізах відповідно до стандартних протоколів, застосовуючи моноклональні антитіла до Ki-67, MMP-9, VEGF, BCL-2, IgE, CD68.

**Результати.** У дітей із БА, що поєднана з РЕ, структурні зміни слизової оболонки стравоходу відрізнялися залежно від тяжкості БА. Тяжку гіперплазію базального епітелію реєстрували в 92,31 % дітей 1 групи, а її частота вірогідно відрізнялася від такої в дітей 2 і 3 груп спостереження. Характерна ознака дітей із БА та рефлюкс-езофагітом – дисхроноз, що характеризувався вогнищами гіпо- та гіпертрофії клітин базального шару (у 92,31 % дітей 1 групи та 37,50 % дітей 2 групи). Тяжке подовження «сосочків» виявили тільки у 38,46 % дітей 1 групи. Імуногістохімічні особливості слизової оболонки стравоходу дітей із БА та рефлюкс-езофагітом – експресія антигена Ki-67, IgE та слабка макрофагальна реакція (CD68), ступінь виразності яких відрізнявся від дітей із рефлюкс-езофагітом без БА.

**Висновки.** Морфологічні зміни у слизовій оболонці стравоходу дітей із рефлюкс-езофагітом і БА відрізняються від таких у дітей із рефлюкс-езофагітом без БА наявністю тяжких пошкоджень епітелію, дисхронозом змін, тяжким подовженням «сосочків», вираженою клітинною проліферацією (Ki-67), локальною експресією IgE.

**Ключові слова:** патоморфологія, імуногістохімія, діти, бронхіальна астма, рефлюкс-езофагіт.

**Патологія.** 2021. Т. 18, № 2(52). С. 159-166

\*E-mail: zadorozhnatd2018@gmail.com

## Pathomorphological and immunohistochemical features of the esophageal mucosa in children with asthma combined with reflux esophagitis

T. D. Zadorozhna, Yu. H. Antypkin, T. R. Umanets, A. A. Buratynska, T. M. Archakova, M. I. Kiurdzhiieva, S. M. Kylykhevych

The most common comorbid pathology in children with asthma is gastroesophageal reflux disease (GERD) associated with reflux esophagitis (RE), which ranges from 32 % to 80 %. Histological changes of the esophageal mucosa in RE have been described in adults and children, but there are only isolated studies that describe the morphological features of the esophageal mucosa in combined pathology, taking into account the severity of asthma.

**The aim** is to study the histological and immunohistochemical features of the esophageal mucosa in children with asthma combined with reflux esophagitis.

**Materials and methods.** In 43 children aged 6–17 years with RE and severe asthma (group 1), with mild/moderate asthma (group 2) and without asthma (group 3), mucosal biopsies from the distal and proximal esophagus were examined by histological and immunohistochemical methods. Immunohistochemical research was performed in serial paraffin sections according to standard protocols using monoclonal antibodies to Ki-67, MMP-9, VEGF, BCL-2, IgE and CD68.

**Results.** In children with asthma combined with RE, the structural changes of the esophageal mucosa differed depending on the severity of asthma. Severe basal epithelial hyperplasia was registered in 92.31 % of children in group 1, and its frequency was significantly different from children in groups 2 and 3. A characteristic feature of children with asthma and reflux esophagitis was dyschronosis, which was characterized by foci of hypo- and hypertrophy of basal layer cells (92.31 % of children in group 1 and 37.50 % of children in group 2). Severe elongation of the “papillae” was found only in 38.46 % of children in group 1. Immunohistochemical features of the esophageal mucosa of children with asthma and reflux esophagitis revealed the expression of Ki-67 antigen, IgE and a weak macrophage response (CD68), the severity of which differed from children with reflux esophagitis without asthma.

**Key words:** pathology, immunohistochemistry, children, asthma, reflux esophagitis.

**Pathologia** 2021; 18 (2), 159-166



**Conclusions.** Morphological changes in the esophageal mucosa of children with reflux esophagitis and asthma differ from children with reflux esophagitis without asthma in the presence of severe epithelial damage, dyschronosis of changes, severe elongation of the “papillae”, pronounced cell proliferation (Ki-67) and local IgE expression.

**Ключевые слова:** патоморфология, иммуногистохимия, дети, бронхиальная астма, рефлюкс-эзофагит.

**Патологія.** 2021. Т. 18, № 2(52). С. 159-166

## Патоморфологические и иммуногистохимические особенности слизистой оболочки пищевода у детей с бронхиальной астмой, сочетанной с рефлюкс-эзофагитом

Т. Д. Задорожная, Ю. Г. Антипкин, Т. Р. Уманец, А. А. Буратинская, Т. Н. Арчакова, М. И. Кюрджиева, С. Н. Килихевич

Наиболее распространённой коморбидной патологией у детей с бронхиальной астмой (БА) является гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ), ассоциированная с рефлюкс-эзофагитом (РЭ), которая составляет от 32 % до 80 %. Гистологические изменения слизистой оболочки пищевода при РЭ описаны у взрослых и детей, однако опубликованы лишь единичные исследования, в которых представлены морфологические особенности слизистой оболочки пищевода при сочетанной патологии с учётом тяжести течения БА.

**Цель работы** – изучить гистологические и иммуногистохимические особенности слизистой оболочки пищевода у детей с бронхиальной астмой, сочетанной с рефлюкс-эзофагитом.

**Материалы и методы.** У 43 детей в возрасте 6–17 лет с РЭ и БА тяжёлого течения (1 группа), с БА лёгкого/средне-тяжёлого течения (2 группа) и без БА (3 группа) исследовали биоптаты слизистой оболочки дистальных и проксимальных отделов пищевода гистологическими и иммуногистохимическими методами. Иммуногистохимическое исследование выполнили в серийных парафиновых срезах в соответствии со стандартным протоколом, применяя моноклональные антитела к Ki-67, MMP-9, VEGF, BCL-2, IgE и CD68.

**Результаты.** У детей с БА, сочетанной с РЭ, структурные изменения слизистой пищевода отличались в зависимости от тяжести БА. Тяжёлую гиперплазию базального эпителия регистрировали у 92,31 % детей 1 группы, а ее частота достоверно отличалась от детей 2 и 3 групп наблюдения. Характерный признак у детей с БА и рефлюкс-эзофагитом – дисхроноз, который характеризовался очагами гипо- и гипертрофии клеток базального слоя (у 92,31 % детей 1 группы и у 37,50 % детей 2 группы). Тяжёлое удлинение «сосочков» установлено только у 38,46 % детей 1 группы. Иммуногистохимические особенности слизистой оболочки пищевода у детей с БА и рефлюкс-эзофагитом – экспрессия антигена Ki-67, IgE и слабая макрофагальная реакция (CD68), степень выраженности которых отличалась от такой у детей с рефлюкс-эзофагитом без БА.

**Выводы.** Морфологические изменения в слизистой оболочке пищевода детей с рефлюкс-эзофагитом и БА отличаются от таких у детей с рефлюкс-эзофагитом без БА наличием тяжёлых повреждений эпителия, дисхронозом, тяжёлым удлинением «сосочков», выраженной клеточной пролиферацией (Ki-67) и локальной экспрессией IgE.

Найпоширеніша коморбідна патологія в дітей із бронхіальною астмою (БА) – гастроэзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ), що асоційована з рефлюкс-эзофагітом (РЕ), котра становить від 32 % до 80 % [3].

Предиктори розвитку ГЕРХ у хворих на БА – приймання бета-агоністів та інших лікарських препаратів для лікування БА, що призводить до розслаблення нижнього стравохідного сфінктера [22].

В останні роки змінена парадигма патогенезу РЕ, згідно з якою пошкодження слизової оболонки стравоходу опосередковане цитокінами [23], а не внаслідок дії вільної соляної кислоти та пепсину [11,23]. Цитокіни залучають Т-лімфоцити, інші запальні та імунні клітини, що зумовлюють розвиток патологічних змін слизової оболонки стравоходу [7,23].

З рефлюкс-эзофагітом може поєднуватися й еозинофільний езофагіт [1], поширеність якого в пацієнтів із ГЕРХ становить 3,2 % [2]. Еозинофільний езофагіт як коморбідну патологію частіше реєструють у хворих з atopічними захворюваннями, зокрема з БА [16].

Тому хворим із БА, які мають симптоми ГЕРХ, рекомендують ендоскопічне та гістопатологічне дослідження для верифікації ознак мікроскопічного езофагіту.

Гістологічні зміни слизової оболонки стравоходу при рефлюкс-эзофагіті описані в дорослих і дітей [2,10,18,19,26], але є тільки поодинокі досліджен-

ня з залученням дітей із БА. У доступній фаховій літературі не виявили публікації, в яких наведені морфологічні особливості слизової оболонки стравоходу при поєднаній патології з урахуванням тяжкості перебігу БА.

### Мета роботи

Вивчити гістологічні та імуногістохімічні особливості слизової оболонки стравоходу в дітей із бронхіальною астмою, що поєднана з рефлюкс-эзофагітом.

### Матеріали і методи дослідження

Обстежили 43 дітей віком 6–17 років із рефлюкс-эзофагітом (середній вік – 11,88 ± 3,51 року), 65,12 % хлопців. Дітей поділили на три групи: 1 – 13 осіб із БА тяжкого перебігу, 2 група – 16 хворих на БА легкого/середньо-тяжкого перебігу, 3 – 14 дітей без БА.

Критерії залучення в дослідження: вік 6–17 років, наявність встановленої БА щонайменше протягом року (для групи порівняння – без БА), контрольований перебіг БА протягом останніх 4 тижнів до ендоскопічного дослідження, наявність симптомів езофагеальної дисфункції, діагноз ГЕРХ із рефлюкс-эзофагітом, відсутність в анамнезі застосування будь-яких медикаментозних засобів із приводу ГЕРХ, інформована

згода батьків дитини або її законних представників на участь у дослідженні.

Критерії виключення з дослідження: вік <6 та ≥18 років; відсутність задокументованого діагнозу БА в медичній документації (крім дітей групи порівняння); наявність іншої супутньої патології шлунково-кишкового тракту; наявність тяжкої вродженої, хронічної та аутоімунної патології; відмова дитини або її законних представників від участі у дослідженні.

Усі діти, які залучені в дослідження, зіставні за віком і статтю.

Діагноз БА та ступінь її тяжкості встановили відповідно до затверджених критеріїв (наказ МОЗ України № 868 [21,25], міжнародні рекомендації GINA, 2021 [9]). Діагноз ГЕРХ встановили з урахуванням нових критеріїв, які експерти розробили у 2017 р. [13].

Фіброезофагогастроуденоскопію (ФЕГДС) виконали за допомогою апарата Olympus 150 (Японія). Ступінь тяжкості ендоскопічної картини рефлюкс-езофагіту оцінювали за Лос-Анджелеською класифікацією [24,27].

Для вивчення запальних змін у слизовій оболонці стравоходу вивчили біопсійний матеріал із проксимального та дистального відділів стравоходу.

Мікроскопічні дослідження мікропрепаратів, виготовлених із парафінових блоків і забарвлених гематоксиліном, еозином і за ван Гізеном, виконали на мікроскопі Olympus BH-2 (Японія).

Імуногістохімічні дослідження здійснили на серійних парафінових зрізах згідно зі стандартними протоколами Thermo Fisher Scientific (USA), застосовуючи моноклональні антитіла до антигена Ki-67 (маркер регенерації та проліферації); BCL-2 (антиапоптотичний онкопротеїн); IgE (імуноглобулін E); MMP-9 (матриксна металопротеїназа-9); VEGF (васкулярний судинно-ростковий фактор), CD68 (макрофагальний маркер). Систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) використовували для виявлення білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США).

Інтенсивність імуногістохімічної реакції оцінювали в балах: 0 – немає експресії; 1 – слабка; 2 – помірна; 3 – виразна; 4 бали – дуже виразна експресія.

Статистичне опрацювання результатів здійснили за допомогою програми Statistica 13.0 (StatSoft Inc., серія № ZZS9990000099100363DEMO-L), використали програмне забезпечення Microsoft Excel (Microsoft Office 2013 Professional Plus, ліцензійна угода (EULAIID:O15\_RTM\_VL.1\_RTM\_RU)). Для усіх розрахованих статистичних оцінок здійснили перевірку статистичної значущості на рівні не нижче ніж 95 % ( $p < 0,05$ ). Для статистичного опрацювання матеріалів дослідження використали U-критерій Манна-Вітні, показники співвідношення шансів (OR – odds ratio) та їхні довірчі інтервали (95 % CI – confidence interval).

Дослідження здійснили відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження схвалений локальним етичним комітетом ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України».

## Результати

Серед 43 дітей, яким проведено ФЕГДС і підтверджено РЕ, 42 (97,67 %) особи мали катаральну форму, в 1 (2,33 %) дитини з БА тяжкого перебігу визначено ерозивний рефлюкс-езофагіт ступеня А.

За даними гістологічного дослідження біоптатів слизової оболонки стравоходу дітей із РЕ розрізняли три групи порушень у дистальному відділі: епітеліальне пошкодження, інтраепітеліальна запальна клітинна інфільтрація, зміни в lamina propria («сосочків») (табл. 1).

Під час гістологічного дослідження в дітей із БА, що поєднана з РЕ, виявили: структурні зміни відрізняються залежно від тяжкості БА. Так, для тяжкого перебігу БА (1 група) характерною ознакою епітеліального пошкодження був дисхроноз, що характеризувався вогнищами гіпо- та гіпертрофії клітин базального шару ( $OR_{1,2} = 20,0$ ; 95 % CI, 2,05–195,01) (рис. 1). Крім того, тяжку базальну гіперплазію реєстрували майже в усіх біоптатах дітей 1 групи, а її частота вірогідно відрізнялась від такої в дітей 2 і 3 груп спостереження ( $OR_{1,2} = 15,43$ ; 95 % CI, 1,60–148,83 і  $OR_{1,3} = 21,60$ ; 95 % CI, 2,13–218,59) (табл. 1). Щодо вогнищевої проліферації багатошарового епітелію стравоходу, таку ознаку визначали у біоптатах 21 дитини із РЕ незалежно від наявності БА (рис. 2).

Інтраепітеліальні поодинокі лімфоцити (до 5 у полі зору) реєстрували в дітей усіх груп спостереження, а поодинокі еозинофіли та нейтрофіли – тільки в дітей 1 та 2 груп, включаючи дитину з ерозивним РЕ, але не визначали в біоптатах слизової оболонки стравоходу пацієнтів 3 групи. У 5 біоптатах дітей 1 групи реєстрували скупчення (>6 у полі зору) еозинофілів у «сосочкових» структурах, але ознаки еозинофільного езофагіту (>15 еозинофілів) не виявили.

Зміни у lamina propria в дітей із груп дослідження характеризувались подовженням «сосочків» та дилатацією їхніх судин, наявністю мікроевгніщ фіброзу. Подовження «сосочків» різного ступеня тяжкості зареєстровано в усіх вивчених біоптатах. Тяжке подовження (>75 % епітеліального шару) «сосочків» визначили тільки в дітей 1 групи.

У біоптатах усіх дітей 2 і 3 груп визначали подовження «сосочкових» структур у межах 66–75 %.

Дилатація судин «сосочків» не мала вірогідних відмінностей у біоптатах дітей груп із груп дослідження (табл. 1). Мікроевгніща фіброзу у стінці судин реєстрували лише в біоптатах 4 дітей із 3 групи. У дітей 1 та 2 груп незалежно від тяжкості перебігу БА визначили мікроевгніща фіброзу навколо епітелію стравоходу.

Відзначимо, що в 1 дитини з ерозивним РЕ (встановлений ендоскопічно) не визначили гістологічні ознаки ерозії.

У таблиці 2 наведені результати імуногістохімічного дослідження біоптатів слизової стравоходу дітей із рефлюкс-езофагітом із та без БА.

Встановили, що експресія антигена Ki-67 суттєво відрізнялася в дітей 1 групи (рис. 3), визначена як дуже виразна в ядрах багатошарового епітелію стравоходу порівняно зі слабкою експресією цього маркера в дітей 3 групи (U-критерій Манна-Вітні,  $p < 0,05$ ).

Таблиця 1. Гістологічні зміни слизової стравоходу дітей із груп дослідження, абс. (%)

Гістологічні зміни	1 група, n = 13	2 група, n = 16	3 група, n = 14	OR <sub>1,2</sub> CI 95 %	OR <sub>2,3</sub> CI 95 %	OR <sub>1,3</sub> CI 95 %
<b>Епітеліальне пошкодження:</b>						
Гіперплазія базального шару:						
а) 15–30 % епітеліального шару (легке)	1 (7,69)	9 (56,25)	9 (64,29)	15,43 (1,60–148,83)	1,40 (0,32–6,11)	21,60 (2,13–218,59)
б) >30 % епітеліального шару (тяжке)	12 (92,31)	7 (43,75)	5 (35,71)	15,43 (1,60–148,83)	1,40 (0,32–6,11)	21,60 (2,13–218,59)
Дисхроноз (вогнища гіпо- та гіпертрофії клітин базального шару)	12 (92,31)	6 (37,50)	0 (0,0)	20,0 (2,05–195,01)	–	–
Вогнищева проліферація багатшарового епітелію	7 (53,85)	5 (31,25)	9 (64,3)	2,57 (0,5–11,72)	3,96 (0,87–18,12)	1,54 (0,33–7,23)
<b>Запальна клітинна інфільтрація (до 5 в полі зору):</b>						
Лімфоцити	13 (100,0)	16 (100,0)	14 (100,0)	–	–	–
Еозинофіли	8 (61,54)	15 (93,75)	0 (0,0)	9,38 (0,93–94,66)	–	–
Еозинофіли, зокрема скупчення в «сосочках» (>6 у полі зору)	5 (38,46)	0 (0,0)	0 (0,0)	–	–	–
Нейтрофіли	4 (30,77)	5 (31,25)	0 (0,0)	1,02 (0,21–4,98)	–	–
<b>Зміни в lamina propria:</b>						
Подовження «сосочків»:						
а) ≥66 % до 75 %	8 (61,54)	16 (100,0)	14 (100,0)	–	–	–
б) >75 % (тяжке)	5 (38,46)	0 (0,0)	0 (0,0)	–	–	–
Дилатація судин «сосочків»	5 (38,46)	4 (25,0)	5 (35,71)	1,88 (0,38–9,20)	1,67 (0,35–8,04)	1,13 (0,24–5,37)
<b>Мікроепителиальна фіброза:</b>						
а) у стінках судин	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (28,5)	–	–	–
б) навколо епітелію	5 (38,46)	5 (31,25)	0 (0,0)	1,38 (0,30–6,40)	–	–

Таблиця 2. Експресія імуногістохімічних маркерів запалення в дітей із груп дослідження

Експресія маркерів	1 група, n = 13	2 група, n = 16	3 група, n = 14
<b>Експресія цитоплазматичних біологічних маркерів:</b>			
IgE	помірна	нерівномірна – слабка в «сосочках», помірна в базальному шарі	немає
CD68	слабка	помірна	дуже виразна
MMP-9	слабка у стінці судин	немає	немає
VEGF	слабка	немає	немає
BCL-2	слабка в базальному шарі та багатшаровому епітелії	слабка в багатшаровому епітелії	немає
<b>Експресія ядерного біологічного маркера:</b>			
Ki-67	дуже виразна в ядрах багатшарового епітелію. Ядерний поліморфізм зі збільшенням розміру ядра	помірна в базальному шарі та «сосочках»	слабка

У дітей 3 групи не визначена експресія таких маркерів, як MMP-9, VEGF, BCL-2, IgE. Однак у дітей цієї групи експресія макрофагального маркера CD68 була дуже виразною порівняно з іншими групами, а отже свідчила про активацію макрофагальної реакції, що була слабкою в дітей 1 групи.

Тільки в дітей 1 групи встановлена слабка експресія маркерів ремоделювання MMP-9 і VEGF, що при гістологічному дослідженні асоціювалося з наявністю мікроепителиальної фіброзу навколо епітелію стравоходу.

Цікавим є факт встановлення експресії IgE (від слабкої в «сосочках» до помірної в мембранних структурах епітелію) в дітей 1 та 2 груп, що може свідчити про внесок IgE-залежного механізму в запальний процес слизової оболонки стравоходу. Також у дітей 1 та 2 груп визначили слабку експресію проапоптичного маркера BCL-2 у клітинах базального та багатшарового епітелію.

## Обговорення

За даними наукової літератури, гістологічні зміни слизової оболонки стравоходу неспецифічні, їх спостерігають при інших різновидах езофагітів, а також при

фізіологічному рефлюксі. Найбільш інформативними змінами слизової оболонки стравоходу при ГЕРХ із РЕ є гіперплазія базального шару плоского епітелію, подовження «сосочків», розширення міжклітинного простору в епітеліальному та в шарі шиповидних клітин епітелію [2,18,19], інфільтрація еозинофілами та нейтрофілами, ерозії, що представлені некрозом із грануляційною тканиною та/або фібрином із нейтрофілами [2,18].

Комплекс морфологічних змін слизової оболонки стравоходу, який ми виявили в дітей, збігається з таким, що описаний у фаховій літературі, але в дорослих пацієнтів [18]. У дітей із тяжким перебігом БА та РЕ виявили вірогідно тяжче епітеліальне пошкодження: виражену гіперплазію базального шару (>30 % товщини епітеліального шару) та дисхроноз (вогнища гіпо- та гіпертрофії клітин базального шару), який не визначали в дітей із РЕ без БА.

Крім того, у групі дітей із БА та РЕ (на відміну від дітей із РЕ без БА) в біоптатах слизової оболонки стравоходу виявляли поодинокі інтраепітеліальні еозинофіли та нейтрофіли, що не визначається в нормі та вказує на запальний процес у слизовій оболонці стравоходу. Щодо наявності інтраепітеліальних лімфоцитів, котрі визначили в дітей усіх груп, деякі

дослідники вважають: лімфоцити не відіграють суттєвої ролі в діагностиці мікроскопічного езофагіту [18].

Не визначено вірогідної різниці змін у lamina propria в дітей із груп дослідження, але тільки в дітей із тяжкою коморбідною БА виявили тяжке подовження «сосочкових» структур (>75 % від товщини епітеліального шару).

Окрім встановлених патоморфологічних особливостей слизової стравоходу в дітей із БА та РЕ, вивчили експресію цитоплазматичних та ядерного (Ki-67) маркерів запалення. Оpubліковано тільки обмежені дані щодо цих клітинних маркерів у дітей із РЕ та GERX [6]. Ki-67 маркери пов'язані з проліферацією клітин у дітей із РЕ та GERX, але не виявляють передзловідного (диспластичний) стан стравоходу. У нашому дослідженні експресія Ki-67 дуже виражена в дітей із тяжким перебігом БА та РЕ, вірогідно відрізнялась від такої в дітей із РЕ.

Відомо, що головний механізм розвитку алергічного запалення – імунологічний, пов'язаний із реакінозалежним типом алергічної реакції внаслідок активації IgE-сенсibilізованих опасистих клітин специфічним алергеном. Контакт низьких доз алергена зі слизовою оболонкою в сенсibilізованих хворих унаслідок послідовних складних процесів призводить до продукції IgE, який накопичується здебільшого у тканинах органів-мішеней [6,8]. Експресія локального маркера атопії IgE, яку виявили в слизовій оболонці стравоходу в дітей із БА, та відсутність цього маркера в дітей із РЕ без БА групи може пояснювати внесок IgE-залежного механізму в запальний процес слизової стравоходу, вираженіші мікроскопічні ознаки езофагіту в дітей із тяжким перебігом БА. Відзначимо, тільки в дітей із тяжким перебігом БА (38,46 %) та РЕ реєстрували скупчення еозинофілів у «сосочкових» структурах, що поряд зі встановленою помірною локальною експресією IgE спекулятивно можна вважати предиктором розвитку еозинофільного езофагіту. Але це потребує наступних досліджень і моніторингу цієї групи дітей.

Матриксна металопротеїназа (MMP-9) – один із найбільш досліджуваних маркерів, що відіграє життєво важливу роль у багатьох біологічних процесах [12]; її вважають маркером структурних змін (ремоделінгу та неоваскуляризації) [16]. MMP-9 може розщеплювати багато білків позаклітинного матриксу для регулювання його реконструкції [12]. Експресію MMP-9 спостерігають найчастіше при тяжких формах GERX порівняно з легкими [20].

Ще один маркер ремоделювання – VEGF, який вивчали в сироватці крові хворих із тяжкою БА або з еозинофільним фенотипом БА [15]. Немає даних щодо експресії VEGF у слизовій стравоходу хворих із GERX і РЕ. У нашому дослідженні слабку експресію MMP-9, VEGF визначили тільки в дітей із тяжким перебігом БА та РЕ. Відсутня/слабка експресія цих маркерів у дітей із досліджуваних груп може бути пов'язана з невеликою кількістю стромальних структур і наявністю переважно багатошарового плоского епітелію стравоходу в отриманих біоптатах, що асоційовано зі складнощами виконання біопсії в дітей.

CD68 – глікозилований глікопротеїн, який екс-

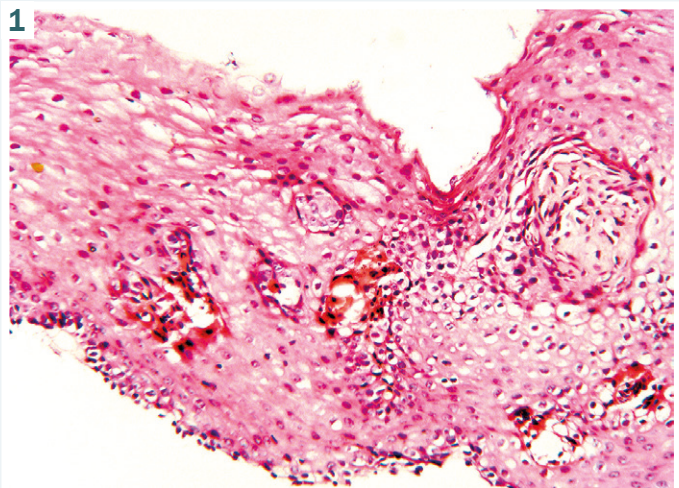


Рис. 1. Стравохід. Вогнище гіпотрофії базального шару з дистрофією епітеліальних клітин дитини 10 років із тяжким перебігом БА та катаральним рефлюкс-езофагітом. Забарвлення – гематоксилін-еозин. 36.  $\times 100$ .

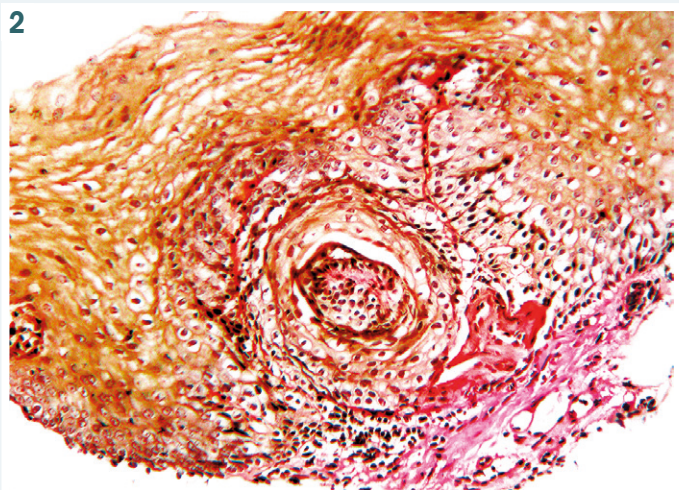


Рис. 2. Вогнищева проліферація багатошарового епітелію дитини 7 років із середньо-тяжким перебігом БА та катаральним рефлюкс-езофагітом. Забарвлення – пікрофуксином за ван Гізоном. 36.  $\times 100$ .

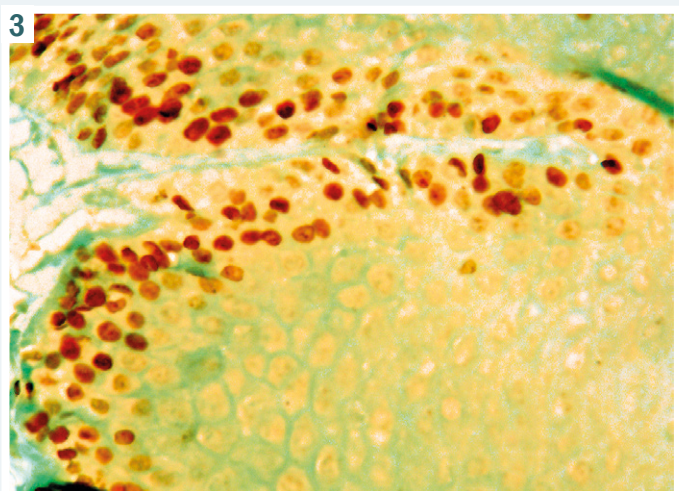


Рис. 3. Стравохід. Виражена позитивна експресія Ki-67 в ядрах епітелію «сосочкових» структур дитини 12 років із тяжким перебігом БА та катаральним рефлюкс-езофагітом. 36.  $\times 100$ .

пресується в макрофагах та інших одноядерних фагоцитах [4]. Макрофагальна реакція відіграє важливу роль в індукції процесу апоптозу клітин, порушенні регенерації епітеліальних структур [4,5]. Це може пояснювати встановлені нами особливості між підвищеною експресією макрофагального маркера CD68 та слабкою експресією маркера проліферації Ki-67 у дітей із РЕ. У дітей із РЕ та БА визначили слабку та помірну експресію CD68 у слизовій оболонці стравоходу. В доступній фаховій літературі не виявили відомості щодо експресії цього маркера у хворих на ГЕРХ і РЕ.

Опубліковані негативні результати щодо вивчення VCL-2 як маркера ГЕРХ [14], що встановили і в нашому дослідженні в дітей із РЕ без БА. В епітеліальних структурах слизової стравоходу дітей із БА, що поєднана з РЕ, виявлена тільки слабка експресія VCL-2.

## Висновки

1. Патоморфологічні ознаки запального процесу слизової оболонки стравоходу дітей із БА, що поєднана з рефлюкс-езофагітом, залежать від ступеня тяжкості БА.

2. У дітей із тяжким перебігом БА виявили тяжчі епітеліальні пошкодження та подовження «сосочкових» структур, а характерною патоморфологічною ознакою визначено дисхроноз, що характеризується вогнищевою гіпотрофією паралельно з фокальною гіперплазією базального шару.

3. Особливостями експресії маркерів запального процесу слизової оболонки стравоходу в дітей із рефлюкс-езофагітом і БА тяжкого перебігу є підвищена експресія антигена Ki-67 та IgE, що свідчить про проліферативну активність епітелію стравоходу та можливий внесок IgE-залежного механізму в запальному процесі слизової оболонки стравоходу. За іншими маркерами у групах порівняння відмінності не виявили.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 07.06.2021

Після доопрацювання / Revised: 28.07.2021

Прийнято до друку / Accepted: 02.08.2021

## Відомості про авторів:

Задорожна Т. Д., д-р мед. наук, професор, член-кор. НАМН України, зав. лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-8819-8901](https://orcid.org/0000-0001-8819-8901)

Антипкін Ю. Г., д-р мед. наук, академік НАМН України, директор, зав. відділення, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-8018-4393](https://orcid.org/0000-0002-8018-4393)

Уманець Т. Р., д-р мед. наук, головний науковий співробітник, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-9058-7383](https://orcid.org/0000-0001-9058-7383)

Буратинська А. А., аспірант, молодший науковий співробітник, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-3790-0419](https://orcid.org/0000-0003-3790-0419)

Арчакова Т. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник

лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-5271-5479](https://orcid.org/0000-0001-5271-5479)

Кюрджієва М. І., лікар-патологоанатом, співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-8140-029X](https://orcid.org/0000-0001-8140-029X)

Килихевич С. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-9312-7785](https://orcid.org/0000-0002-9312-7785)

## Information about authors:

Zadorozhna T. D., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Head of the Laboratory of Pathomorphology, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Antypkin Yu. H., MD, PhD, DSc, Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Director, Head of the Department, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Umanets T. R., MD, PhD, DSc, Chief Researcher, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Buratsynska A. A., PhD student, Junior Researcher, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Archakova T. M., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Kiurdzhieva M. I., MD, Pathologist, Laboratory of Pathomorphology, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Kylykhevych S. M., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

## Сведения об авторах:

Задорожная Т. Д., д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. НАМН Украины, зав. лабораторией патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Антипкин Ю. Г., д-р мед. наук, академик НАМН Украины, директор, зав. отделением, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Уманец Т. Р., д-р мед. наук, главный научный сотрудник, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Буратинская А. А., аспирант, младший научный сотрудник, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Арчакова Т. Н., канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Кюрджиева М. И., врач-патологоанатом, сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Килихевич С. Н., канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

## Список літератури

- [1] Retrospective Analysis of Eosinophilic Esophagitis in Patients with Refractory Gastroesophageal Reflux Disease / K. Anis, A. Chandnani, M. U Ahmed et al. *Cureus*. 2019. Vol. 11, Iss. 7. e5252. <https://doi.org/10.7759/cureus.5252>
- [2] Prevalence of eosinophilic esophagitis in patients with gastroesophageal reflux symptoms: A cross-sectional study from a tertiary care hospital in North India/ B. Baruah, T. Kumar, P. Das, B. Thakur et al. *Indian Journal of Gastroenterology*. 2017. Vol. 36, Iss. 5. P. 353-360. <https://doi.org/10.1007/s12664-017-0789-6>
- [3] Gastroesophageal reflux and respiratory diseases: does a real link exist? / A. Bongiovanni, G. F. Parisi, M. G. Scuderi et al. *Minerva pediatrica*. 2019. Vol. 71, Iss. 6. P. 515-523. <https://doi.org/10.23736/S0026-4946.19.05531-2>
- [4] CD68/macrosialin: not just a histochemical marker / D. A. Chistiakov, M. C. Killingsworth, V. A. Myasoedova et al. *Laboratory investigation*. 2017. Vol. 97, Iss. 1. P. 4-13. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.116>
- [5] Прогностическое значение CD3+, CD68+, CD20+ клеток в интерстиции у больных с гломерулитом аллогraftа почки / В. А. Добронравов, А. О. Мухаметдинова, М. С. Храброва и др. *Нефрология*. 2018. Т. 22, № 6. С. 47-55. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2018-22-6-47-55>
- [6] Drazdauskaitė G., Layhadi J. A., Shamji M. H. Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis. *Current allergy and asthma reports*. 2020. Vol. 21, Iss. 2. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-00977-7>
- [7] Association of Acute Gastroesophageal Reflux Disease With Esophageal Histologic Changes / K. B. Dunbar, A. T. Agoston, R. D. Odze et al. *JAMA*. 2016. Vol. 315, Iss. 19. P. 2104-2112. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.5657>
- [8] Fang L., Sun Q., Roth M. Immunologic and Non-Immunologic Mechanisms Leading to Airway Remodeling in Asthma. *International journal of molecular sciences*. 2020. Vol. 21, Iss. 3. P. 757. <https://doi.org/10.3390/ijms21030757>
- [9] 2021 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention // *Global Initiative for Asthma*. 2021. URL: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
- [10] Godwin B., Wilkins B., Muir A. B. EoE disease monitoring. Where we are and where we are going. *Annals of allergy, asthma & immunology*. 2020. Vol. 124, Iss. 3. P. 240-247. <https://doi.org/10.1016/j.anaai.2019.12.004>
- [11] Grossi L., Ciccaglione A. F., Marzio L. Esophagitis and its causes: Who is «guilty» when acid is found «not guilty»? *World journal of gastroenterology*. 2017. Vol. 23, Iss. 17. P. 3011-3016. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i17.3011>
- [12] Huang H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors*. 2018. Vol. 18, Iss. 10. P. 3249. <https://doi.org/10.3390/s18103249>
- [13] World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: GERD Global Perspective on Gastroesophageal Reflux Disease / R. Hunt, D. Armstrong, P. Katelaris et al. *Journal of clinical gastroenterology*. 2017. Vol. 51, Iss. 6. P. 467-478. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000854>
- [14] Kia L., Pandolfino J. E., Kahrilas P. J. Biomarkers for Reflux Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2016. Vol. 14, Iss. 6. P. 790-797. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.09.014>
- [15] Kim J. H. Serum vascular endothelial growth factor as a marker of asthma exacerbation. *The Korean journal of internal medicine*. 2017. Vol. 32, Iss. 2. P. 258-260. <https://doi.org/10.3904/kjim.2017.066>
- [16] Influence of rutin on the effects of neonatal cigarette smoke exposure-induced exacerbated MMP-9 expression, Th17 cytokines and NF-kB/iNOS-mediated inflammatory responses in asthmatic mice model / L. L. Liu, Y. Zhang, X. F. Zhang, F. H. Li. *The Korean journal of physiology & pharmacology*. 2018. Vol. 22, Iss. 5. P. 481-491. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.481>
- [17] Eosinophilic esophagitis (EoE) genetic susceptibility is mediated by synergistic interactions between EoE-specific and general atopic disease loci / L. J. Martin, H. He, M. H. Collins et al. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2017. Vol. 141, Iss. 5. P. 1690-1698. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.09.046>
- [18] Gastro-esophageal reflux disease and Barrett's esophagus: an overview with an histologic diagnostic approach / L. Mastracci, F. Grillo, P. Parente et al. *Pathologica*. 2020. Vol. 112, Iss. 3. P. 117-127. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-162>
- [19] Матвійчук Б. О., Макара В. З., Стасишин А. Р. Гістологічне дослідження слизової оболонки стравоходу при у складній гастроєзофагеальній рефлюксії хвороби. *Art of medicine*. 2018. Т. 4, № 8. С. 121-123.
- [20] Expression of metalloproteinase-9 in patients with mild and severe forms of gastroesophageal reflux disease / Á. J. Montiel-Jarquín, L. Lara-Cisneros, A. López-Colombo et al. *Cirugia y Cirujanos*. 2019. Vol. 87, Iss. 4. P. 436-442. <https://doi.org/10.24875/CIRU.18000691>
- [21] Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги. Бронхіальна астма : Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2013 № 868. URL : [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2013\\_868\\_ukpmnd\\_ba\\_dor.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2013_868_ukpmnd_ba_dor.pdf)
- [22] Gupta S., Lodha R., Kabra S. K. Asthma, GERD and Obesity: Triangle of Inflammation. *Indian journal of pediatrics*. 2018. Vol. 85, Iss. 10. P. 887-892. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2484-0>
- [23] A New Paradigm for GERD Pathogenesis: Not Acid Injury, But Cytokine-Mediated Inflammation Driven by HIF-2α: A Potential Role for Targeting HIF-2α to Prevent and Treat Reflux Esophagitis / R. F. Souza, L. Bayeh, S. J. Spechler et al. *Current opinion in pharmacology*. 2017. Vol. 37, P. 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.10.004>
- [24] Sami S. S., Ragunath K. The Los Angeles Classification of Gastroesophageal Reflux Disease. *Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy*. 2013. Vol. 1, Iss. 1. P. 103-104. [https://doi.org/10.1016/S2212-0971\(13\)70046-3](https://doi.org/10.1016/S2212-0971(13)70046-3)
- [25] Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Бронхіальна астма у дітей» : Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 08.10.2013 р. № 868. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2016. № 1. С. 36-46.
- [26] Epithelial Thickness is a Marker of Gastroesophageal Reflux Disease / M. Vieth, L. Mastracci, N. Vakil et al. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2016. Vol. 14, Iss. 11. P. 1544-1551. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2016.06.018>
- [27] A Deep Learning Model for Classification of Endoscopic Gastroesophageal Reflux Disease / C. C. Wang, Y. C. Chiu, W. L. Chen et al. *International journal of environmental research and public health*. 2021. Vol. 18, Iss. 5. P. 2428. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052428>

## References

- [1] Anis, K., Chandnani, A., Ahmed, M. U., & Shaukat, F. (2019). Retrospective Analysis of Eosinophilic Esophagitis in Patients with Refractory Gastroesophageal Reflux Disease. *Cureus*, 11(7), e5252. <https://doi.org/10.7759/cureus.5252>
- [2] Baruah, B., Kumar, T., Das, P., Thakur, B., Sreenivas, V., Ahuja, V., Gupta, S. D., & Makharia, G. K. (2017). Prevalence of eosinophilic esophagitis in patients with gastroesophageal reflux symptoms: A cross-sectional study from a tertiary care hospital in North India. *Indian journal of gastroenterology*, 36(5), 353-360. <https://doi.org/10.1007/s12664-017-0789-6>
- [3] Bongiovanni, A., Parisi, G. F., Scuderi, M. G., Licari, A., Brambilla, I., Marseglia, G. L., & Leonardi, S. (2019). Gastroesophageal reflux and respiratory diseases: does a real link exist?. *Minerva pediatrica*, 71(6), 515-523. <https://doi.org/10.23736/S0026-4946.19.05531-2>
- [4] Chistiakov, D. A., Killingsworth, M. C., Myasoedova, V. A., Orekhov, A. N., & Bobryshev, Y. V. (2017). CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Laboratory investigation*, 97(1), 4-13. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.116>
- [5] Dobronravov, V. A., Mukhametdinova, A. O., Khrabrova, M. S., Nabokov, A., Gröne, H.-J., & Kliem, V. (2018). The prognostic significance of CD3+, CD68+, CD20+ interstitial cells in patients with kidney allograft glomerulitis. *Nephrology (Saint-Petersburg)*, 22(6), 47-55. [in Russian]. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2018-22-6-47-55>
- [6] Drazdauskaitė, G., Layhadi, J. A., & Shamji, M. H. (2020). Mechanisms of Allergen Immunotherapy in Allergic Rhinitis. *Current allergy and asthma reports*, 21(1), 2. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-00977-7>
- [7] Dunbar, K. B., Agoston, A. T., Odze, R. D., Huo, X., Pham, T. H., Copher, D. J., Castell, D. O., Genta, R. M., Souza, R. F., & Spechler, S. J. (2016). Association of Acute Gastroesophageal Reflux Disease With Esophageal Histologic Changes. *JAMA*, 315(19), 2104-2112. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.5657>
- [8] Fang, L., Sun, Q., & Roth, M. (2020). Immunologic and Non-Immunologic Mechanisms Leading to Airway Remodeling in Asthma. *International journal of molecular sciences*, 21(3), 757. <https://doi.org/10.3390/ijms21030757>
- [9] Global Initiative for Asthma. (2021). 2021 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
- [10] Godwin, B., Wilkins, B., & Muir, A. B. (2020). EoE disease monitoring: Where we are and where we are going. *Annals of allergy, asthma & immunology*, 124(3), 240-247. <https://doi.org/10.1016/j.anaai.2019.12.004>
- [11] Grossi, L., Ciccaglione, A. F., & Marzio, L. (2017). Esophagitis and its causes: Who is «guilty» when acid is found «not guilty»? *World journal of gastroenterology*, 23(17), 3011-3016. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i17.3011>
- [12] Huang H. (2018). Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 18(10), 3249. <https://doi.org/10.3390/s18103249>
- [13] Hunt, R., Armstrong, D., Katelaris, P., Afihene, M., Bane, A., Bhatia, S., Chen, M. H., Choi, M. G., Melo, A. C., Fock, K. M., Ford, A., Hongo, M., Khan, A., Lazebnik, L., Lindberg, G., Lizarzabal, M., Myint, T., Moraes-Filho, J. P., Salis, G., Lin, J. T., ... Review Team: (2017). World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: GERD

- Global Perspective on Gastroesophageal Reflux Disease. *Journal of clinical gastroenterology*, 51(6), 467-478. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000854>
- [14] Kia, L., Pandolfino, J. E., & Kahrilas, P. J. (2016). Biomarkers of Reflux Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 14(6), 790-797. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.09.014>
- [15] Kim J. H. (2017). Serum vascular endothelial growth factor as a marker of asthma exacerbation. *The Korean journal of internal medicine*, 32(2), 258-260. <https://doi.org/10.3904/kjim.2017.066>
- [16] Liu, L. L., Zhang, Y., Zhang, X. F., & Li, F. H. (2018). Influence of rutin on the effects of neonatal cigarette smoke exposure-induced exacerbated MMP-9 expression, Th17 cytokines and NF- $\kappa$ B/iNOS-mediated inflammatory responses in asthmatic mice model. *The Korean journal of physiology & pharmacology*, 22(5), 481-491. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.481>
- [17] Martin, L. J., He, H., Collins, M. H., Abonia, J. P., Biagini Myers, J. M., Eby, M., Johansson, H., Kottyan, L. C., Khurana Hershey, G. K., & Rothenberg, M. E. (2018). Eosinophilic esophagitis (EoE) genetic susceptibility is mediated by synergistic interactions between EoE-specific and general atopic disease loci. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 141(5), 1690-1698. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.09.046>
- [18] Mastracci, L., Grillo, F., Parente, P., Unti, E., Battista, S., Spaggiari, P., Campora, M., Scaglione, G., Fassan, M., & Fiocca, R. (2020). Gastro-esophageal reflux disease and Barrett's esophagus: an overview with an histologic diagnostic approach. *Pathologica*, 112(3), 117-127. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-162>
- [19] Matviychuk, B. O., Makara, V. Z., & Stasyshyn, A. R. (2018). Histologichne doslidzhennia slyzovoi obolonky stravokhodu pry u skladnenii hastroezofahealnih refluksnih khvorobi [Histological examination of the esophageal mucosa in complicated gastroesophageal reflux disease]. *Art of medicine*, 4(8), 121-123. [in Ukrainian].
- [20] Montiel-Jarquín, Á. J., Lara-Cisneros, L., López-Colombo, A., Solís-Mendoza, H. A., Palmer-Márquez, M. L., & Romero-Figueroa, M. S. (2019). Expression of metalloproteinase-9 in patients with mild and severe forms of gastroesophageal reflux disease. Expresión de la metaloproteínasa-9 en pacientes con formas leves y graves de enfermedad por reflujo gastroesofágico. *Cirugía y cirujanos*, 87(4), 436-442. <https://doi.org/10.24875/CIRU.18000691>
- [21] Ministry of Health of Ukraine. (October 8, 2013). *Unifikovanyi klinichnyi protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Bronkhialna astma* [Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) medical care. Bronchial asthma (No. 868)]. [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2013\\_868\\_ykpm\\_dor.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2013_868_ykpm_dor.pdf)
- [22] Gupta, S., Lodha, R., & Kabra, S. K. (2018). Asthma, GERD and Obesity: Triangle of Inflammation. *Indian journal of pediatrics*, 85(10), 887-892. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2484-0>
- [23] Souza, R. F., Bayeh, L., Spechler, S. J., Tambar, U. K., & Bruick, R. K. (2017). A new paradigm for GERD pathogenesis. Not acid injury, but cytokine-mediated inflammation driven by HIF-2 $\alpha$ : a potential role for targeting HIF-2 $\alpha$  to prevent and treat reflux esophagitis. *Current opinion in pharmacology*, 37, 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.10.004>
- [24] Sami, S. S., & Ragunath, K. (2013). The Los Angeles Classification of Gastroesophageal Reflux Disease. *Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy*, 1(1), 103-104. [https://doi.org/10.1016/S2212-0971\(13\)70046-3](https://doi.org/10.1016/S2212-0971(13)70046-3)
- [25] Ministry of Health of Ukraine. (October 8, 2013). *Unifikovanyi klinichnyi protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) medychnoi dopomohy «Bronkhialna astma u ditei»* [Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) medical care «Asthma in children» (No. 868)]. *Klinichna immunohiia. Alerholohiia. Infektolohiia*, (1), 36-46. [in Ukrainian].
- [26] Vieth, M., Mastracci, L., Vakil, N., Dent, J., Wernersson, B., Baldycheva, I., Wissmar, J., Ruth, M., & Fiocca, R. (2016). Epithelial Thickness is a Marker of Gastroesophageal Reflux Disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 14(11), 1544-1551.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.06.018>
- [27] Wang, C. C., Chiu, Y. C., Chen, W. L., Yang, T. W., Tsai, M. C., & Tseng, M. H. (2021). A Deep Learning Model for Classification of Endoscopic Gastroesophageal Reflux Disease. *International journal of environmental research and public health*, 18(5), 2428. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052428>

# Significance of determination of hemodynamic phenotypes in early diagnosis of cardiovascular disorders in children with diabetes mellitus

H. O. Lezhenko<sup>ID</sup>A,E,F, O. Ye. Pashkova<sup>ID</sup>\*C,D, K. V. Samoilyk<sup>B,D</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

**Aim.** To stratify hemodynamic phenotypes in children with diabetes mellitus and their frequency, depending on the duration of the disease.

**Materials and methods.** The study involved 72 children suffering from diabetes, aged 10 to 16 years who were divided into 3 groups. The first group – 22 children with diabetes mellitus up to 1 year. The second group – 24 patients with a disease duration of 1 to 5 years. The third group – 26 children with the disease over 5 years. Control group – 20 children, representative by age and sex.

All children underwent daily blood pressure monitoring (ABPM) with the ABPM-04 device (Meditech Ltd, Hungary). Diagnosis of latent hemodynamic disorders was performed by the method of quantitative analysis of the relationships of blood pressure parameters, which involved a linear regression of systolic blood pressure by pulse blood pressure. According to the results of regression, 6 hemodynamic phenotypes were determined, which characterized the individual features of the circulatory system: harmonic, myocardial-insufficient subtype of harmonic, borderline diastolic harmonic, borderline systolic harmonic, dysfunctional diastolic and dysfunctional systolic. According to ABPM results, the ambulatory arterial stiffness index (AASI) was calculated using a linear regression equation. The results were statistically processed using statistics software package Statistica 13.0 (StatSoft Inc., No. JPZ8041382130ARCN10-J).

**Results.** It was found that in the dynamics of diabetes the registration of the harmonic hemodynamic phenotype during the day decreased due to an increase in the proportion of patients with dysfunctional diastolic hemodynamic phenotype. At the same time, in children with diabetes, there was a significant increase in AASI from the first year of the disease with a progressive increase with its dynamics. The highest values of AASI were observed in dysfunctional hemodynamic phenotype.

**Conclusions.** In children with diabetes mellitus observed the formation of disharmonious hemodynamic phenotypes in the dynamics of the disease. In combination with increased vascular stiffness these changes realized in systemic circulatory disorders and the development of a diabetic angiopathy. Detected disorders, apparently, became the risk factors of hypertension. Determination of hemodynamic phenotype in children with diabetes mellitus can be used as screening method for preclinical diagnosis of latent disorders of the cardiovascular system, early treatment and prevention.

## Key words:

diabetes mellitus, adolescent, hemodynamics, cardiovascular system.

## Pathologia

2021; 18 (2), 167-173

## \*E-mail:

elenapashkova0901@gmail.com

## Значення встановлення гемодинамічних фенотипів у ранній діагностиці серцево-судинних порушень у дітей, які хворі на цукровий діабет

Г. О. Леженко, О. Є. Пашкова, К. В. Самойлик

**Мета роботи** – здійснити стратифікацію гемодинамічних фенотипів у дітей, які хворі на цукровий діабет, та визначити їхню частоту залежно від тривалості перебігу захворювання.

**Матеріали та методи.** Обстежили 72 дітей, які хворі на цукровий діабет, віком від 10 до 16 років. Пацієнтів поділили на 3 групи: перша – 22 дитини з тривалістю цукрового діабету до 1 року, друга – 24 особи з тривалістю захворювання від 1 до 5 років, третя – 26 пацієнтів із перебігом захворювання понад 5 років. Контрольна група – 20 дітей, репрезентативних за віком і статтю.

Усім дітям виконали добове моніторування артеріального тиску (ДМАТ) на приладі АВРМ-04 (Meditech Ltd, Угорщина). Діагностику латентних гемодинамічних порушень здійснили методом кількісного аналізу зв'язків параметрів артеріального тиску, що передбачав виконання лінійної регресії систолічного артеріального тиску (АТ) за пульсовим АТ. За результатами регресії визначали 6 гемодинамічних фенотипів, які характеризували індивідуальні особливості функціонування системи кровообігу: гармонійний, міокардіально-недостатній підтип гармонійного, пограничний діастоло-гармонійний, пограничний систоло-гармонійний, дисфункціональний діастолічний і дисфункціональний систолічний. За даними ДМАТ за допомогою лінійного регресійного рівняння розраховували амбулаторний артеріальний індекс жорсткості (Ambulatory Arterial Stiffness Index – ААSІ). Статистично результати опрацювали за допомогою пакета статистичних програм Statistica 13.0 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

**Результати.** Встановили, що в динаміці цукрового діабету відбувається зменшення реєстрації гармонійного фенотипу гемодинаміки протягом доби внаслідок збільшення частки пацієнтів із дисфункціонально-діастолічним гемодинамічним фенотипом. Водночас у дітей, які хворі на цукровий діабет, виявили вірогідне підвищення ААSІ з першого року захворювання із прогресивним його збільшенням у динаміці. Найбільші значення ААSІ встановили при дисфункціональних гемодинамічних фенотипах.

## Ключові слова:

цукровий діабет, підлітки, гемодинаміка, серцево-судинна система.

## Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 167-173



**Висновки.** У дітей, які хворі на цукровий діабет, у динаміці захворювання відбувається формування дисгармонічних гемодинамічних фенотипів, що разом зі зростанням жорсткості судин реалізується порушенням системного кровообігу, розвитком діабетичної ангіопатії та, вочевидь, є фактором ризику виникнення артеріальної гіпертензії. Визначення гемодинамічного фенотипу в дітей, які хворі на цукровий діабет, можна використовувати як скринінговий метод доклінічної діагностики прихованих порушень серцево-судинної системи та раннього призначення лікувально-профілактичних заходів.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, подростки, гемодинамика, сердечно-сосудистая система.

**Патологія. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 167-173**

## Значение определения гемодинамических фенотипов в ранней диагностике сердечно-сосудистых нарушений у детей, больных сахарным диабетом

Г. А. Леженко, Е. Е. Пашкова, Е. В. Самойлик

**Цель работы** – провести стратификацию гемодинамических фенотипов у детей, больных сахарным диабетом, установить их частоту в зависимости от длительности течения заболевания.

**Материалы и методы.** Обследовали 72 ребенка, больных сахарным диабетом, в возрасте от 10 до 16 лет. Пациентов поделили на 3 группы: первая – 22 детей с продолжительностью сахарного диабета до 1 года, вторая – 24 больных с длительностью заболевания от 1 до 5 лет, третья – 26 пациентов с течением заболевания более 5 лет. Контрольная группа – 20 детей, репрезентативных по возрасту и полу.

Всем детям проведено суточное мониторирование артериального давления (СМАД) прибором АВРМ-04 (Meditech Ltd, Венгрия). Диагностика латентных гемодинамических нарушений выполнена методом количественного анализа связей параметров артериального давления, который предусматривал проведение линейной регрессии систолического артериального давления (АД) по пульсовому АД. По результатам регрессии определяли 6 гемодинамических фенотипов, характеризующих индивидуальные особенности функционирования системы кровообращения: гармоничный, миокардиально-недостаточный подтип гармоничного, пограничный диастоно-гармонический, пограничный систоло-гармонический, дисфункциональный диастолический и дисфункциональный систолический. По данным СМАД с помощью линейного регрессионного уравнения рассчитывали амбулаторный артериальный индекс жесткости (Ambulatory Arterial Stiffness Index – AASI). Статистически результаты обработали с помощью пакета статистических программ Statistica 13.0 (StatSoft Inc. № JPZ8041382130ARCN10-J).

**Результаты.** Установлено, что в динамике сахарного диабета происходит уменьшение регистрации гармоничного фенотипа гемодинамики в течение суток за счёт увеличения доли пациентов с дисфункционально-диастолическим гемодинамическим фенотипом. В то же время у детей, больных сахарным диабетом, отмечено достоверное повышение AASI с первого года заболевания с прогрессивным его увеличением в динамике. Наибольшие значения AASI установлены при дисфункциональных гемодинамических фенотипах.

**Выводы.** У детей, больных сахарным диабетом, в динамике заболевания отмечено формирование дисгармоничных гемодинамических фенотипов, что в сочетании с ростом жесткости сосудов реализуется нарушением системного кровообращения, развитием диабетической ангиопатии и, очевидно, является фактором риска возникновения артериальной гипертензии. Определение гемодинамического фенотипа у детей, больных сахарным диабетом, может быть использовано в качестве скринингового метода доклинической диагностики скрытых нарушений сердечно-сосудистой системы и раннего назначения лечебно-профилактических мероприятий.

Diabetes is one of the growing challenges of the 21<sup>st</sup> century. It has a negative impact on human health, and its growing prevalence has a significant negative economic effect. The number of patients living with diabetes in the world has tripled in the last 20 years. The rate of spread of the disease exceeds all forecasts: in 2010, it was projected that in 2025 the incidence will be 438 million, but according to the International Diabetes Federation, there are now 463 million people in the world with diabetes. More than 1.1 million of them are young people under the age of 20. The prevalence of diabetes among children in Ukraine is growing. Thus, in 2010 it was 0.981 per 1000 children, and in 2018 – already 1.2 [2].

One of the early and common complications of diabetes is damage to the cardiovascular system [10]. Diabetes appears as a separate and independent risk factor for fatal and nonfatal cardiovascular disorders [7]. In childhood, the formation of cardiovascular complications in insulin-dependent diabetes mellitus occurs simultaneously with the development of the disease [9]. Therefore, early diagnosis of cardiovascular messages at the stage before clinical changes is very

important. At present, there are no clear objective signs of risk management of cardiovascular disorders in children with diabetes. Identification of latent messages of cardiovascular function in children with diabetes will allow to improve early diagnosis and optimize ways to correct established messages.

### Aim

To stratify hemodynamic phenotypes in children with diabetes and the frequency with which they occur, depending on the duration of the disease.

### Materials and methods

The study was conducted at the endocrinology department of the Municipal Institution “Zaporizhzhia Regional Clinical Children’s Hospital” of the Zaporizhzhia Regional Council. To achieve this goal, 72 children with type I diabetes (36 boys and 36 girls) aged 10 to 16 years were examined. Depending on the duration of the disease, all sick children were divided into 3 groups. The first group included 22

children with a duration of diabetes up to 1 year (mean age  $12.9 \pm 0.4$  years). The second group consisted of 24 patients with disease duration from 1 year to 5 years (mean age –  $13.8 \pm 0.4$  years). The third group included 26 children with diabetes for more than 5 years (mean age  $14.3 \pm 0.4$  years). The control group consisted of 20 children representative by sex and age, who at the time of the survey had disorders of carbohydrate metabolism and intercurrent diseases. The groups were representative by age, sex, and body mass index.

All children under observation underwent a thorough clinical examination. Clinical examination of the patient included: medical history, clinical examination, laboratory and instrumental methods. Daily blood pressure monitoring with the ABPM-04 device (Meditech Ltd, Hungary) using the oscillometric method of blood pressure measurement was undertaken for all children. Patients under observation were diagnosed with latent hemodynamic disorders by quantitative analysis of blood pressure parameters [5], which involved a linear regression of systolic blood pressure by pulse blood pressure (by difference between systolic and diastolic pressure):

$$SBP = Q + \alpha \times PP \quad (1),$$

$$DBP = Q + (\alpha-1) \times PP \quad (2),$$

where SBP – systolic blood pressure;

DBP – diastolic blood pressure;

PP – pulse pressure;

Q is the regression coefficient, that characterizes the cross section (blood pressure in the area of the attenuating pulse wave at  $PP = 0$ ). This indicator reflects the level of metabolism between blood and tissues;

$\alpha$  is the angular regression coefficient (“pressor”), which reflects the proportional involvement of the heart and blood vessels in the process of blood flow;

$(\alpha-1)$  – angular regression coefficient (“depressor”), reflects the inverse direction in relation to the “pressor” coefficient  $\alpha$  participation in blood flow (elasticity of resistive vessels and skeletal muscle function).

According to the results of regression, 6 hemodynamic phenotypes were determined, which characterized individual features of the circulatory system functioning: harmonic, myocardial-insufficient subtype of harmonic, borderline diastolic harmonic, borderline systolic harmonic, dysfunctional diastolic and dysfunctional systolic (Table 1) [5].

The ambulatory arterial stiffness index (AASI) was calculated according to the daily blood pressure monitoring (ABPM). AASI was calculated using a linear regression equation describing the relationship between systolic and diastolic blood pressure of the patient according to the results of ABPM and was determined by the tangent of the angle of the obtained regression line:

$$DBP = \beta_1 \times SBP + \beta_2; AASI = (1 - \beta_1) [1], \quad (3)$$

where  $\beta_1$  is the slope of the linear regression of DBP to SBP;

$\beta_2$  is the regression coefficient.

The results were statistically processed using the statistical software package Statistica 13.0 (StatSoft Inc.,

**Table 1.** Criteria for determining hemodynamic phenotypes

The value of the coefficient $\alpha$	The ratio of SBP, DBP, Q	Hemodynamic phenotype
$1 < \alpha < 2$	$Q < DBP < SBP$	Dysfunctional diastolic
$\alpha = 1$	$Q = DBP < SPB$	Borderline diastolic harmonic
$0 < \alpha < 1$	$DBP < Q < SBP$	Harmonic
$0 < \alpha < 0.5$		Myocardial-insufficient subtype of harmonic
$\alpha = 0$	$DBP < Q = SBP$	Borderline systolic harmonic
$-1 < \alpha < 0$	$DBP < SBP < Q$	Dysfunctional systolic

No. JPZ8041382130ARCN10-J) with the determination of the arithmetic mean (M), standard deviation ( $\sigma$ ) and mean errors (m). The median and quartile  $Me [Q1; Q2]$  were used for the uneven distribution of traits and the nonlinear dependence. The method of correlation analysis with calculation of Pearson’s correlation coefficient is applied. Student’s t-test and Fisher’s angular transformation (criterion j) were used to assess the differences in the compared groups. In cases where the distribution law was statistically significantly different from normal, the nonparametric Mann–Whitney test (U) was calculated as a nonparametric analogue of the Student’s test. Differences were considered significant at  $P < 0.05$ .

All procedures conducted in the children’s studies complied with the ethical standards of the Institutional and National Research Committee and the 1964 Declaration of Helsinki and its subsequent amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all the individual participants included in the study and their guardians. Complete data established by children, their parents and the doctor, who confirm the results of this study, are not publicly available due to limitations obtained in the initial order.

## Results

The analysis of parameters of hemodynamic phenotypes in children with diabetes mellitus showed that in the dynamics of diabetes mellitus there was an increased level of coefficients  $\alpha$  and  $(\alpha-1)$  during the day (Table 2).

The detected changes became statistically significant in patients of group 3 ( $P < 0.05$ ), in whom these coefficients were statistically significantly higher than both the control group and similar indicators of patients with disease duration up to 1 year ( $P < 0.05$ ).

In the analysis of these coefficients, depending on the period of the day, attention was drawn to their increase at night in children with diabetes in the first year of the disease, which indicated an increase in the role of systolic component in blood circulation and reduced diastolic role. The most significant changes were registered in children of group 3, in which against the background of a 2.5-fold increase in the “pressor” coefficient, the value of the coefficient  $(\alpha-1)$  became positive, indicating an excessive decrease in the role of peripheral vascular component. At the same time, there was a two-way change in the Q factor in patients with diabetes at different times of the day: its increase at day-time during the first 5 years of diabetes and a gradual decrease of this indicator at night. To date, it is known that low values of the coefficient Q are associated with the risk of developing acute hypotensive states [5].

**Table 2.** The values of the coefficients  $\alpha$ ,  $\alpha-1$  and Q in children with diabetes mellitus, depending on the duration of the disease, M  $\pm$  m

Parameter, units		Groups			
		The 1 <sup>st</sup> group, n = 22	The 2 <sup>nd</sup> group, n = 24	The 3 <sup>rd</sup> group, n = 26	Controls, n = 20
24-hour	$\alpha$ , arb. unit	0.70 $\pm$ 0.05	0.71 $\pm$ 0.09	0.83 $\pm$ 0.06 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	0.64 $\pm$ 0.04
	$\alpha-1$ , arb. unit	-0.30 $\pm$ 0.05	-0.29 $\pm$ 0.09	-0.17 $\pm$ 0.06 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	-0.36 $\pm$ 0.04
	Q, mmHg	84.94 $\pm$ 3.12	91.52 $\pm$ 4.61 <sup><math>\Delta</math></sup>	82.59 $\pm$ 3.37	79.18 $\pm$ 2.98
Daytime	$\alpha$ , arb. unit	0.58 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.08	0.82 $\pm$ 0.06 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	0.57 $\pm$ 0.05
	$\alpha-1$ , arb. unit	-0.42 $\pm$ 0.06	-0.36 $\pm$ 0.08	-0.18 $\pm$ 0.06 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	-0.43 $\pm$ 0.05
	Q, mmHg	89.15 $\pm$ 4.32 <sup><math>\Delta</math></sup>	91.87 $\pm$ 5.05 <sup><math>\Delta</math></sup>	90.30 $\pm$ 3.88 <sup><math>\Delta</math></sup>	75.11 $\pm$ 4.14
Nighttime	$\alpha$ , arb. unit	0.73 $\pm$ 0.07 <sup><math>\Delta</math></sup>	0.97 $\pm$ 0.09 <sup><math>\Delta</math></sup>	1.13 $\pm$ 0.09 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	0.45 $\pm$ 0.07
	$\alpha-1$ , arb. unit	-0.27 $\pm$ 0.07 <sup><math>\Delta</math></sup>	-0.03 $\pm$ 0.09 <sup><math>\Delta</math></sup>	0.13 $\pm$ 0.09 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	-0.55 $\pm$ 0.07
	Q, mmHg.	77.25 $\pm$ 7.94	64.49 $\pm$ 7.58	56.24 $\pm$ 6.12 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	80.70 $\pm$ 4.74

$\Delta$ : P < 0.05 – in the period with the control group; \*: P < 0.05 – in the period with the group of patients with diabetes mellitus up to 1 year.

**Table 3.** Variants of hemodynamic phenotypes in children with diabetes mellitus, depending on the duration of the disease, %

Variants of hemodynamic phenotypes		Groups			
		The 1 <sup>st</sup> group, n = 22	The 2 <sup>nd</sup> group, n = 24	The 3 <sup>rd</sup> group, n = 26	Controls, n = 20
24-hour	Harmonic	81.8	53.8 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	31.2 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	80.0
	Myocardial-insufficient subtype of harmonic	18.2	30.8	12.5	20.0
	Borderline diastolic harmonic	–	7.7	–	–
	Dysfunctional diastolic	–	15.4	50.1	–
	Dysfunctional systolic	–	–	6.2	–
Daytime	Harmonic	63.6	61.5	50.0 <sup><math>\Delta</math></sup>	80.0
	Myocardial-insufficient subtype of harmonic	36.4 <sup><math>\Delta</math></sup>	30.8	12.5 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	20.0
	Borderline diastolic harmonic	–	7.7	6.3	–
	Dysfunctional diastolic	–	–	25.0	–
	Dysfunctional systolic	–	–	6.2	–
Nighttime	Harmonic	45.4	61.5	18.7 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	40.0
	Myocardial-insufficient subtype of harmonic	27.3 <sup><math>\Delta</math></sup>	7.7 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	18.7 <sup><math>\Delta</math></sup>	60.0
	Borderline diastolic harmonic	9.1	7.7	–	–
	Dysfunctional diastolic	18.2	15.4	56.3 <sup><math>\Delta</math></sup>	–
	Dysfunctional systolic	–	7.7	6.3	–

$\Delta$ : P < 0.05 – in the period with the control group; \*: P < 0.05 – in the period with the group of patients with diabetes mellitus up to 1 year.

Subsequently, we analyzed the frequency of variants of hemodynamic phenotypes in children with diabetes, taking into account the duration of the disease (Table 3).

It was found that in the control group harmonic or myocardial-insufficient subtype of the harmonic phenotype dominated, which indicated the provision of blood circulation mainly due to the propulsive work of the left ventricle than the peripheral (vascular) component [5].

In the group of patients with diabetes mellitus lasting up to 1 year during the day, all children had harmonious hemodynamic phenotypes. At night, harmonious hemodynamic phenotypes were determined in the vast majority (72.7 %), borderline diastolic phenotype was observed in 9.1 % of patients, and a dysfunctional-diastolic hemodynamic phenotype was established in other 18.2 % of this group patients. However, the presence of dysfunctional and borderline circulatory phenotypes at night did not affect the overall hemodynamic phenotypes during the day in patients of this group, the analysis of which revealed the absence of pathological variants of hemodynamics.

We observed similar picture of the distribution of variants of hemodynamic phenotypes in the group of diabetic patients with disease duration from 1 to 5 years, among which harmonious hemodynamic phenotypes also dominated during the observation period.

In the long-term course of diabetes mellitus, the proportion of children with a harmonious hemodynamic phenotype during the 24-hour ABPM was statistically lower than among patients in the first 5 years of the disease (P < 0.05). It was noteworthy that the largest changes in hemodynamics in patients of this group were observed at night. Thus, if during the day harmonic hemodynamic phenotypes were determined in 62.5 % of patients, then at night we encountered these phenotypes 1.7 times less often – 37.4 % of cases (P < 0.05). At the same time, the share of dysfunctional phenotypes at night increased by 2 times due to an increase in the number of patients with dysfunctional-diastolic hemodynamic phenotype (P < 0.05). Thus, if in the first 5 years of diabetes mellitus harmonious cardiovascular interaction in circulatory system was observed in patients mostly, then with disease duration over 5 years hemodynamic parameters in most patients corresponded to dysfunctional conditions, among which the diastolic-dysfunctional phenotype dominated.

Given the above, we analyzed the ambulatory arterial vascular stiffness index (AASI) (Table 4). The analysis showed that in the majority (95.0 %) of children in the control group, the AASI values during the day were less than 0.3 arb. units, i.e. did not exceed the threshold between normal and high blood pressure in children [11].

At the same time, in children with diabetes, there was a significant increase in this index in all observation

**Table 4.** AASI in children with diabetes mellitus, depending on the duration of the disease, M ± m

AASI	Groups			
	The 1 <sup>st</sup> group, n = 22	The 2 <sup>nd</sup> group, n = 24	The 3 <sup>rd</sup> group, n = 26	Controls, n = 20
24-hour	0.46 ± 0.04 <sup>Δ</sup>	0.47 ± 0.05 <sup>Δ</sup>	0.54 ± 0.04 <sup>Δ</sup>	0.26 ± 0.03
Daytime	0.43 ± 0.04 <sup>Δ</sup>	0.46 ± 0.05 <sup>Δ</sup>	0.68 ± 0.05 <sup>Δ</sup>	0.33 ± 0.04
Nighttime	0.30 ± 0.04	0.38 ± 0.04 <sup>Δ</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>Δ*</sup>	0.22 ± 0.05

Δ: P < 0.05 – in the period with the control group; \*: P < 0.05 – in the period with the group of patients with diabetes mellitus up to 1 year.

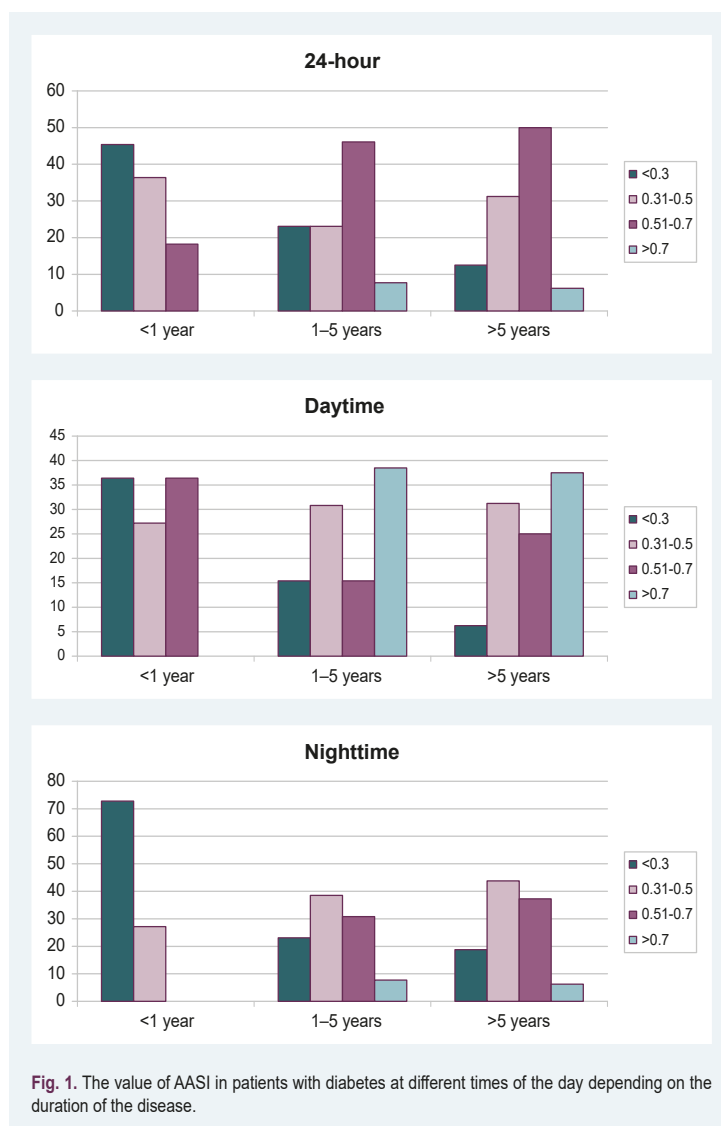
groups during the 24-hour ABPM with a tendency to increase in the dynamics of the disease ( $P > 0.05$ ). When comparing the values of AASI at different times of the day in patients with diabetes it was found that if during the day there was the AASI increase by 1.5–2.0 times in all groups of patients, then at night the values of this index differed depending on the duration of the disease. Thus, in patients of group 1, the average value of AASI did not exceed 0.3 arb. units, corresponding to a similar index of the control group, while patients with longer course of diabetes AASI averages exceeded the norm.

The most significant increase of AASI was observed in patients with diabetes mellitus lasting more than 5 years compared with both the control group and the 1<sup>st</sup> group of patients ( $P < 0.05$ ). That is, the results showed a gradual increase in vascular rigidity with increasing duration of diabetes.

Individual analysis of AASI values confirmed our assumption. It was found that in the dynamics of the disease there was a decrease in the proportion of patients in whom the AASI index did not exceed the limit values (Fig. 1). If in the first year of the disease 45.4 % of children had normal AASI during the day, then with the duration of diabetes from 1 to 5 years, the number of children with normal values of this index decreased by 2 times and amounted to 23.1 % ( $P < 0.05$ ). In Group 3 we saw the lowest number of patients with normal vascular stiffness index (12.5 %), which was 3.6 times less than in the first year of the disease ( $P < 0.05$ ).

When analyzing the AASI index in patients with diabetes, depending on the time of day, similar changes were found. Thus, in the first year of diabetes, normal AASI values during the day were registered in 36.4 %. Subsequently, there was a decrease in the number of patients in whom this index did not exceed 0.3 arb. units up to 15.4 % in group 2 patients and 6.25 % in group 3 ( $P < 0.05$ ).

The most significant changes in the AASI index were observed at night. If in the 1<sup>st</sup> group 72.8 % of patients had normal AASI, then in patients of groups 2 and 3, respectively, only in 23.1 % and 18.7 % of children there was no increase in this index ( $P < 0.05$ ). It should be noted that during the night period in the first year of the disease in no case was an increase in the AASI index over 0.5 arb. units. Also noteworthy was the fact that, in contrast to group 1, in groups 2 and 3 were found patients with pathological AASI values (more than 0.7 arb. units) both during the day (38.5 % and 37.5 %, respectively) and at night (7.7 % and 7.1 %, respectively), which may indicate severe vascular rigidity and the development of diabetic angiopathy. A direct correlation was established between AASI and PP values ( $r = +0.42$ ,  $P < 0.05$ ). These data are consistent with the results of other studies in which PP is considered as a sign of increased stiffness of the walls



**Fig. 1.** The value of AASI in patients with diabetes at different times of the day depending on the duration of the disease.

of blood vessels and, in particular, the aorta, and is a risk factor for cardiovascular disorders [1,8,11].

In order to clarify the relationship between hemodynamic features and the state of blood vessels, we further analyzed the parameters of hemodynamic phenotypes depending on the AASI (Table 5). The analysis of the obtained data showed that in patients in whom the AASI exceeded the normative values, there was an increase in the coefficient  $\alpha$  and a decrease in the coefficient  $Q$ , which indicated the development of hemodynamic disorders due to increased vascular stiffness. It was noteworthy that the statistical significance of these changes was acquired at night, which may indicate the development of nocturnal hypertension.

**Table 5.** Values of  $\alpha$  and Q coefficients in children with diabetes mellitus, depending on the AASI, Me [Q25; Q75]

Parameter, units		AASI	
		up to 0.3 arb. unit	over 0.3 arb. unit
24-hour	$\alpha$ , arb. unit	0.61 [0.28; 0.70]	0.71 [0.58; 0.89]
	Q, mm Hg	93.6 [91.2; 94.1]	82.5 [72.4; 95.1]
Day-time	$\alpha$ , arb. unit	0.73 [0.33; 0.84]	0.78 [0.63; 0.84]
	Q, mm Hg	86.7 [86.6; 105.3]	83.5 [80.0; 101.3]
Night-time	$\alpha$ , arb. unit	0.64 [0.33; 1.12]	0.94 [0.64; 1.34]*
	Q, mm Hg	83.9 [58.4; 110.8]	67.5 [44.1; 82.2]*

\*:  $P < 0.05$  – in comparison with similar parameters at AASI to 0.3 arb. units.

## Discussion

The study revealed the features of hemodynamic phenotyping by blood pressure parameters in children with diabetes. It was found that in children with diabetes mellitus, in the dynamics of disease there was a deviation from the normative parameters of hemodynamic phenotypes: an increase during the day the level of “pressor” coefficient  $\alpha$ , “depressant” coefficient ( $\alpha-1$ ) and bidirectional changes in Q (increase during the day and its decrease at night). The established changes indicate excessive involvement of the myocardium in the movement of blood due to increased cardiac output against the background of a significant weakening of the role of the “peripheral, vascular” component of the circulatory process [4].

At the same time, it is known that the coefficient Q reflects the blood pressure in the terminal part of the arterioles, where blood flow becomes constant (non-pulsating) and characterizes the level of metabolism between blood and organs [4]. In view of the above, it can be assumed that a moderate increase in Q is a positive adaptive phenomenon aimed at improving blood supply, in particular, to skeletal muscles, which is known to play an important role in glucose metabolism. Accordingly, a decrease in the coefficient Q at night by 1.5 times in patients of group 3 compared with the control group ( $P < 0.05$ ), may be a risk factor for acute hypotensive conditions at night [5].

Further analysis of hemodynamic phenotypes revealed that children with long-term diabetes develop hemodynamic disorders, among the phenotypes of which diastolic-dysfunctional is dominating. It is believed that in this hemodynamic phenotype there are latent hemodynamic disorders, which are associated with increased vascular stiffness [3,5].

Confirmation of this assumption was a gradual increase in the outpatient arterial vascular stiffness index in the dynamics of diabetes. The diastolic-dysfunctional phenotype of hemodynamics, along with high values of AASI, in the conditions of their long-term preservation, act as a risk factor for the development of hypertension in the future [5,6]. The formation of systolic dysfunctional hemodynamic phenotype in some children with diabetes mellitus may be a sign of increased total peripheral vascular resistance and is associated with the development of vascular spasms [5]. Therefore, patients with dysfunctional hemodynamic phenotypes, even in the presence of normotension, are at increased risk of developing hypertension and require dynamic monitoring.

## Conclusions

1. In children with diabetes mellitus the dynamics of the disease demonstrates the formation of disharmonious hemodynamic phenotypes against the background of increased vascular stiffness, which in combination with increase in rigidity of vessels is realized by disturbance of systemic blood circulation and development and progression of diabetic angiopathy and, obviously, acts as risk factors of development of arterial hypertension.

2. Determination of hemodynamic phenotype in children with diabetes mellitus can be used as screening method for preclinical diagnosis of latent disorders of the cardiovascular system, early treatment and prevention.

**Prospects for further research.** In the future, it is planned to conduct a population study of hemodynamic phenotypes in children with diabetes mellitus.

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

Надійшла до редакції / Received: 01.12.2020  
Після доопрацювання / Revised: 27.01.2021  
Прийнято до друку / Accepted: 03.02.2021

### Information about authors:

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

ORCID ID: [0000-0003-0851-4586](https://orcid.org/0000-0003-0851-4586)

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

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

Samoylyk K. V., MD, PhD, Assistant 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.

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

Самойлик К. В., канд. мед. наук, асистентка каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

### Сведения об авторах:

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








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

Самойлик Е. В., канд. мед. наук, ассистент каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Delyagin, V. M., Urazbagambetov, A., Korolev, A. V., Kiliikovskiy, V. V., & Olimpieva, S. P. (2014). Indeks zhestkosti arterial'noi stenki v traktovke rezul'tatov sutochnogo monitorirovaniya arterial'nogo davleniya [Arterial wall stiffness index in interpretation of the results of ambulatory blood pressure monitoring]. *Detskaya bol'nitsa*, (1), 17-22. [in Russian].
- [2] Zelinska, N. B., Rudenko, N. G., Globa, E. V., Shevchenko, I. Yu., & Kavetska, Yu. S. (2019). Dytiacha endokrynolohiia v Ukraini u 2018 rotsi [Pediatric endocrinology in Ukraine in 2018]. *Ukrainskyi zhurnal dytiachoi endokrynolohii*, (1), 7-15. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.30978/UJPE2019-1-7>
- [3] Khursa, R. V. (2015). Latentnye narusheniya krovoobrashcheniya u molodykh lyudei i ikh korrektsiya pri modifikatsii obraza zhizni s vlyucheniem fizicheskikh nagruzok [Latent circulatory disorders in young people and their correction during lifestyle modification with the inclusion of physical activity]. In K. Yu. Romanov, E. S. Vand (Eds.), *Ozдорovitel'naya fizicheskaya kul'tura molodezhi: aktual'nye problemy i perspektivy*. Proceedings of the 2nd International Scientific and Practical Conference (pp. 131-136). Minsk: BSMU. [in Russian].
- [4] Khursa, R. V., & Zabela, Ye. I. (2019). Gemodinamicheskie fenotipy u prakticheski zdorovykh molodykh lyudei s raznym urovnem fizicheskoi podgotovki [Hemodynamic phenotypes in healthy young people with different levels of physical training]. *Voennaya meditsina*, (3), 112-117. [in Russian].
- [5] Khursa, R. V., Mesnikova, I. L., Eremina, N. M., & Voitkova, M. V. (2018). *Metod opredeleniya gemodinamicheskogo fenotipa* [Method for determining the hemodynamic phenotype]. Minsk: BSMU. [in Russian].
- [6] Tseluiko, V. I., Bregvadze, T. R., & Mishchuk, N. Ye. (2012). Faktory, assotsirovannye s pokazatelyami tsentral'nogo aortal'nogo davleniya u bol'nykh s arterial'noi gipertenziei [Factors associated with central aortic pressure parameters in patients with arterial hypertension]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, (10), 58-66. [in Russian].
- [7] Khunti, K., Davies, M., Majeed, A., Thorsted, B. L., Wolden, M. L., & Paul, S. K. (2015). Hypoglycemia and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality in insulin-treated people with type 1 and type 2 diabetes: a cohort study. *Diabetes care*, 38(2), 316-322. <https://doi.org/10.2337/dc14-0920>
- [8] Muxfeldt, E. S., Cardoso, C. R., Dias, V. B., Nascimento, A. C., & Salles, G. F. (2010). Prognostic impact of the ambulatory arterial stiffness index in resistant hypertension. *Journal of hypertension*, 28(7), 1547-1553. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328339f9e5>
- [9] Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group (2016). Risk Factors for Cardiovascular Disease in Type 1 Diabetes. *Diabetes*, 65(5), 1370-1379. <https://doi.org/10.2337/db15-1517>
- [10] Schofield, J., Ho, J., Soran, H. (2019). Cardiovascular Risk in Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes therapy : research, treatment and education of diabetes and related disorders*. 10(3), 773-789. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7901828>
- [11] Simonetti, G. D., Von Vigier, R. O., Wühl, E., & Mohaupt, M. G. (2008). Ambulatory arterial stiffness index is increased in hypertensive childhood disease. *Pediatric research*, 64(3), 303-307. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31817d9bc5>

# Features of the immunoreactivity T and B lymphocytes subpopulations and cytokine imbalance in patients with hepatosplenomegaly of different etiology

O. M. Klimova \*1,2,A,D,E, T. I. Kordon 1,A-E, S. V. Sushkov 1,B,C,F, L. A. Drozdova 1,B,C,D,F,  
O. V. Lavinska 1,2,B-E, O. S. Merezko 1,2,B,C,D, K. O. Bychenko 1,2,B,C,D

<sup>1</sup>State Institution "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv,  
<sup>2</sup>V. N. Karazin Kharkiv National University

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:

hepatosplenomegaly,  
trigger factor,  
immunoreactivity,  
cytokines,  
lymphocyte subpopulations,  
B lymphocytes,  
T lymphocytes.

## Pathologia

2021; 18 (2), 174-182

## \*E-mail:

[klimovalena53@gmail.com](mailto:klimovalena53@gmail.com)

**The aim** was to study the mechanisms of immunological dysregulation of cytokine and immunoglobulin production, changes in the CD expression of T and B lymphocyte subpopulations in patients with hepatosplenomegaly of different etiology.

**Materials and methods.** We examined 73 patients with liver cirrhosis complicated by portal hypertension, hepatosplenomegaly, and bleeding from phlebotasia. We identified three groups of patients depending on the triggering factors of cirrhosis: the first (I) group – HBV/HCV; the second (II) group – CMV/VEB; the third (III) group – hereditary enzymopathies. The study material was lymphocytes and blood serum. We used the methods of ELISA, immunofluorescence and flow cytometry.

**Results.** An increase in the concentration of IgA and IgM was revealed against the background of normal number of CD22<sup>+</sup> B lymphocytes with HBV/HCV (I group), high level of IgM and their producers, B lymphocytes, with CMV/VEB (II group), in group III with hereditary enzymopathies, the concentration of all immunoglobulins was normal with an increased content of B lymphocytes. Multidirectional changes in the content of cytokines were revealed: in group I the synthesis of anti-inflammatory cytokines IL-4, IL-10 and in group II – pro-inflammatory IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  dominated; in group III the concentration of IL-6 and vascular growth factor (VEGF) was maximally increased. The number of activated CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells was reduced in groups I and II – by 2.3 and 2.0 times respectively, in group III – increased by 1.2 times. The number of regulatory T lymphocytes CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> was reduced by half in I and II groups. Expression of co-stimulatory molecules CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> was low in all groups and the maximum decrease was in group III. In patients with HCV/HBV, an increase in the expression of the late activation marker of lymphocytes CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> by an average of 63 % was noted.

**Conclusions.** The revealed immune disorders in hepatosplenomegaly of different etiology are characterized by multidirectional changes. Approaches to the treatment of these patients should be complex, taking into account the trigger factors that cause dysregulation of immune responses, which leads to further destruction, and focuses at remodeling target organs.

## Ключові слова:

гепатоспленомегалія,  
тригерний фактор,  
імунореактивність,  
цитокіни,  
субпопуляція лімфоцитів,  
В-лімфоцити,  
Т-лімфоцити.

## Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 174-182

## Особливості імунореактивності субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів і цитокіновий дисбаланс у пацієнтів із гепатоспленомегалією різної етіології

O. M. Klimova, T. I. Kordon, S. V. Sushkov, L. A. Drozdova, O. V. Lavinska,  
O. S. Merezko, K. O. Bychenko

**Мета роботи** – вивчення механізмів імунологічної дисрегуляції продукції цитокінів, імуноглобулінів та зміни експресії кластерів диференціювання CD субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів у хворих на гепатоспленомегалію різної етіології.

**Матеріали та методи.** Матеріал для дослідження – лімфоцити та сироватка крові 73 пацієнтів із гепатоспленомегалією на тлі цирозу печінки, що ускладнений портальною гіпертензією та кровотечами з флєбектазією. Хворих поділили на 3 групи залежно від етіології: I – інфіковані вірусами гепатиту HBV/HCV; II – інфіковані вірусами герпесу CMV/VEB; III – зі спадковими ферментопатіями. Використовували методи імуноферментного аналізу, імунофлуоресценції, проточної цитофлуориметрії.

**Результати.** У пацієнтів із різними етіологічними факторами гепатоспленомегалії виявили підвищення концентрації IgA та IgM на тлі нормальної кількості CD22<sup>+</sup>-В-лімфоцитів при інфікуванні вірусами HBV/HCV (група I), високий рівень IgM та їхніх продуцентів, В-лімфоцитів, при інфікуванні вірусами CMV/VEB (група II), III (зі спадковими ферментопатіями) концентрація всіх класів імуноглобулінів відповідала нормі при підвищеному вмісті В-лімфоцитів. Виявили різноспрямовані зміни вмісту цитокінів: у групі I домінував синтез протизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10, у групі II – прозапальних ІЛ-1 $\beta$ , ІНФ- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$ ; у групі III максимально підвищена концентрація ІЛ-6 і фактора росту судин – VEGF. Кількість активованих CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клітин знижена в пацієнтів I та II груп у 2,3 і 2,0 раза відповідно, а у групі III збільшена в 1,2 раза. Кількість регуляторних Т-лімфоцитів CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> знижена вдвічі в I і II групах. Експресія коstimульованих молекул CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> низька в усіх групах обстежених, максимальне зниження виявили у III групі. У пацієнтів на тлі вірусів HCV/HBV визначили збільшення експресії маркера пізньої активації лімфоцитів CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> в середньому на 63 %.

**Висновки.** Імунні порушення при гепатоспленомегалії різної етіології характеризуються різноспрямованими змінами. Підходи до лікування пацієнтів з гепатоспленомегалією повинні бути комплексними, враховувати тригерні фактори, які викликають дисрегуляцію імунних реакцій, що надалі призводить до деструкції, і спрямовані на ремоделювання органів-мішеней.

## Особенности иммунореактивности субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и цитокиновый дисбаланс у пациентов с гепатоспленомегалией различной этиологии

Е. М. Климова, Т. И. Кордон, С. В. Сушков, Л. А. Дроздова, Е. В. Лавинская, О. С. Мережко, Е. А. Быченко

**Цель работы** – изучение механизмов иммунологической дисрегуляции продукции цитокинов, иммуноглобулинов и изменения экспрессии кластеров дифференцировки CD субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у больных гепатоспленомегалией различной этиологии.

**Материалы и методы.** Материал для исследования – лимфоциты и сыворотка крови 73 пациентов с гепатоспленомегалией на фоне цирроза печени, осложненного портальной гипертензией и кровотечениями из флебэкстазий. Больных поделили на 3 группы в зависимости от этиологии: I – инфицированные вирусами гепатита HBV/HCV; II – инфицированные вирусами герпеса CMV/VEB; III – с наследственными ферментопатиями. Использовали методы иммуноферментного анализа, иммунофлуоресценции, проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** У пациентов с различными этиологическими факторами гепатоспленомегалии установили повышение концентрации IgA и IgM на фоне нормального количества CD22<sup>+</sup>-В-лимфоцитов при инфицировании вирусами HBV/HCV (группа I), высокий уровень IgM и их продуцентов, В-лимфоцитов, при инфицировании вирусами CMV/VEB (группа II), в группе III с наследственными ферментопатиями концентрация всех классов иммуноглобулинов была в норме при повышенном содержании В-лимфоцитов. Отмечены разнонаправленные изменения содержания цитокинов: в группе I доминировал синтез противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, в группе II – провоспалительных ИЛ-1β, ИНФ-γ, ФНО-α; в группе III – максимально повышена концентрация ИЛ-6 и фактора роста сосудов – VEGF. Количество активированных CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток снижено у пациентов I и II групп – в 2,3 и 2,0 раза соответственно, а в группе III увеличено в 1,2 раза. Количество регуляторных Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> снижено вдвое в I и II группах. Экспрессия костимулирующих молекул CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> была низкой во всех группах обследованных, максимальное снижение отмечено в III группе. У пациентов на фоне вирусов HCV/HBV установлено увеличение экспрессии маркера поздней активации лимфоцитов CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> в среднем на 63 %.

**Выводы.** Иммунные нарушения при гепатоспленомегалии различной этиологии характеризуются разнонаправленными изменениями. Подходы к лечению пациентов с гепатоспленомегалией должны быть комплексными, учитывать триггерные факторы, вызывающие дисрегуляцию иммунных реакций, что приводит к дальнейшей деструкции, и направлены на ремоделирование органов-мишеней.

**Ключевые слова:** гепатоспленомегалия, триггерный фактор, иммунореактивность, цитокины, субпопуляции лимфоцитов, В-лимфоциты, Т-лимфоциты.

**Патология. 2021.**  
Т. 18, № 2(52).  
С. 174-182

Hepatosplenomegaly is manifested by an increase in the liver and spleen size, occurs often in viral hepatitis, cholestasis, biliary cirrhosis and hereditarily determined storage diseases. Structural and functional disorders of the spleen are caused by pathological changes in the mechanisms of cellular filtration of blood, antigen elimination, hematopoiesis and deposition of blood cells [1,2].

The entry of infectious antigens and cellular debris through the portal vein into the liver from the digestive tract leads to an immediate response of the liver immune cells – macrophages of the reticuloendothelial system, which are the first line of defense against foreign antigens [3].

Filtration of blood in the spleen and liver ensures the toxic factors elimination and infectious antigens that activate the toll-like receptor 4 (TLR-4) of immunocompetent cells and the expression of cluster of differentiation 14 (CD14) on Kupffer cells. Subsequently, the transcription of cytokine genes (IL-1 and TNF-α) is triggered, and the entire cascade of immunological reactions is turned on [4,5]. Disturbance function of immune cells is the main pathogenetic factor of the hepatobiliary zone diseases.

There is a pronounced clinical heterogeneity in the course of the disease in patients with hepatosplenomegaly. At the same time, the molecular and cellular mechanisms of metabolic disorders and their reversibility degree are not fully understood. Progressive damage of the liver and spleen can be associated with various trigger factors, such as the presence of a chronic inflammatory process against the background of infection with various nature antigens with subsequent impairment of immunoreactivity and immunoresistance [6].

The role of the functional viability of the immune system links in patients with various etiological factors of hepatosplenomegaly remains insufficiently studied.

### Aim

The aim of this work was to study the mechanisms of immunological dysregulation of cytokine and immunoglobulin production, changes in the CD expression of T and B lymphocyte subpopulations in patients with hepatosplenomegaly of different etiology.

### Materials and methods

The study was carried out in the Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis of State Institution "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine" (registration certificate No. 01-0170/2018).

We examined 73 patients with liver cirrhosis complicated by portal hypertension, hepatosplenomegaly, and bleeding from phlebectasia. These patients were admitted urgently for treatment to the clinic of the SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine". We identified three groups of patients depending on the triggering factors of cirrhosis. The first (I) group included 32 patients (20 men and 12 women) with chronic hepatitis B (HBV) or/and C (HCV) viruses (47 % of the examined) with a mean age of 52.0 ± 5.6. The presence of chronic viral hepatitis B was established



on the basis of detecting HBsAg in the blood serum by ELISA. The presence of viral hepatitis C was established on the basis of detecting total anti-HCV antibodies in the blood serum by ELISA.

The second (II) group included 32 patients (17 men and 15 women) with herpes viruses: cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV) (42 % of the examined) with a mean age of  $48.1 \pm 4.7$ . The presence of the herpes viruses was established based on the detection of anti-infectious antibodies to CMV and EBV in the blood serum.

The third (III) group included 9 patients (2 men and 7 women) with hereditary enzymopathies, which are a consequence of gene polymorphism of the lysosomal enzymes – glucocerebrosidase (GBA) and chitotriosidase (CHIT1) (11 % of the examined) with a mean age of  $37.0 \pm 4.1$ .

The mean values of the results of 38 conventionally healthy individuals (24 men and 14 women) with a mean age of  $45.2 \pm 2.3$  are presented as reference values. They did not have any clinical and laboratory signs of liver and spleen lesions, as well as somatic diseases. The material for the study was lymphocytes and blood serum.

Patients with HIV infection were exclusion criteria from the studies.

The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for the detection of class-specific serum antibodies (IgA, IgM, IgG). We used a kit of reagents "Vector-Best", Novosibirsk. A two-stage sandwich was used with the appropriate monoclonal antibodies (mAbs) IgA, IgM, IgG. At the first stage, the analyzed samples were incubated with immobilized mAbs. At the second stage, the bound antibodies were treated with a conjugate with peroxidase of mAbs to the light chains of human immunoglobulin. The formed immune complexes were detected by enzymatic reaction with TMB (tetramethylbenzidine). The degree of staining was assessed by measuring the optical density at  $\lambda = 450$  nm (StatFax 3200, USA), which is proportional to the concentration of immunoglobulin in the sample (in g/L).

Determination of the content of cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  and vascular endothelial growth factor (VEGF)) in blood serum was carried out by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the appropriate mAbs (kits "Vector-Best", Novosibirsk). At the first stage, the cytokine from the sample was bound with mAbs immobilized on the inner surface of the wells. Then, after washing, the bound antibodies interact during the second incubation with biotinylated antibodies to human cytokines (conjugate 1). Then, at the third stage, the bound conjugate 1 interacts during incubation with conjugate 2. Unbound conjugate 2 was removed by washing. The staining of the solution in the wells occurred during incubation with TMB. The optical density at  $\lambda = 450$  nm (StatFax 3200, USA) was proportional to the concentration of immunoglobulin in the sample (in pg/L).

Expression of clusters of differentiation CD22<sup>+</sup> was assessed by indirect immunofluorescence using monoclonal antibodies ("Sorbent", RF) labeled with FITC-stain. In this method specific mAbs labeled with FITC not directly, but using a secondary serum, bind to the cell surface antigen. The cells stained by corresponding antibodies

were visualized by fluorescent microscopy (Olympus BX53, Japan).

The analysis was performed 2 hours after blood sampling using test tube with the K3 EDTA according to the standard protocol. In each sample at least 5000 cells were analyzed. Various subpopulations of T lymphocytes were determined: CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> (late activation lymphocytes marker), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (T helpers), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (activated T helpers), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> (regulatory T lymphocytes), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> (co-stimulatory molecules) using appropriate mAbs and dyes: CD3-PC5, CD4-PE, CD28-FITC, CD25-FITC, CD127-Pc7, anti-HLA-DR-PE (Beckman Coulter, USA). For correct exclusion of cells that did not meet the parameters from the analysis zone, the necessary logical constraints were introduced into the particle distribution histogram for low-angle, side scintillation (SSC). The evaluation of expression level of surface receptors was performed at mean intensity of fluorescence. For the lysis of red blood cells in the samples we used OptiLyse C (Beckman Coulter, USA). The analysis of stained cells was carried out on a flow cytometry Cytomics FC500 (Beckman Coulter, USA).

To assess the statistical significance of the differences in the groups, the nonparametric Mann-Whitney tests were used. Quantitative data in the tables are presented by the median, as well as the lower (25 %) and upper (75 %) quartiles for each group. The differences were considered significant at  $P < 0.05$ . The results were analyzed using the software package Statistica v.6.

## Results

An evaluation of immunoglobulins in patients with liver cirrhosis complicated by hepatosplenomegaly, portal hypertension and recurrent bleeding showed significant increase IgA (more than 2 times) in group I (patients with hepatitis etiology of hepatosplenomegaly) and by 45 % in group II (patients with herpesvirus etiology of hepatosplenomegaly). An increased IgM content was also revealed – by 53 % in group I, and by 91 % in group II. The IgG content in all studied groups did not differ from the reference values, however, in groups I and II, this indicator was slightly higher than in group III (patients with hereditary enzymopathies) (Table 1).

The concentration of pro-inflammatory IL-1 was reduced by 6 times in group I and increased by 3 times in group II. The content of IL-2 was increased in all studied groups, but maximum increase by 7 times was found in patients with liver cirrhosis against the background of viral hepatitis (group I). The highest increase (20-fold) was IL-6 among all pro-inflammatory interleukins in all examined groups. The IFN- $\gamma$  level was significantly high in patients with herpesvirus infections (group II) and exceeded the reference values by 75 %, while in groups I and III IFN- $\gamma$  did not significantly differ from the reference values. The tumor necrosis factor TNF- $\alpha$  was increased in groups I and II by 4 and 10 times, respectively, while in group III this cytokine was significantly lower than the reference values. The content of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10 was increased in all groups. Group I had the greatest increase in IL-4 (6 times) and IL-10 (7 times) relative to the reference values (Table 2).

**Table 1.** Serum immunoglobulins concentration in patients with hepatosplenomegaly of different etiology (Me, Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Index, units	Reference values, n = 38	Studied groups		
		Group I (HCV/HBV), n = 32	Group II (CMV/VEB), n = 32	Group III (storage diseases), n = 9
IgA, g/L	1.92 (1.23; 3.54)	4.12 (2.51; 6.72)*/**	2.76 (1.46; 4.4)*/**	1.91 (1.76; 2.71)
IgM, g/L	1.20 (0.92; 1.56)	1.84 (1.14; 2.56)**	2.30 (2.02; 3.85)*/**	1.31 (1.09; 1.58)
IgG, g/L	11.55 (8.62; 14.65)	14.80 (11.78; 16.50)	14.30 (11.60; 19.11)	11.80 (8.70; 14.60)

\*: differences in comparison with the reference values are significant (P < 0.05); \*\*: significance of difference between groups I and II (P < 0.05).

**Table 2.** Serum content of pro-inflammatory, anti-inflammatory and regulatory cytokines in patients with hepatosplenomegaly of different etiology (Me, Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Pro-inflammatory, anti-inflammatory, regulatory cytokines, units	Reference values, n = 38	Studied groups		
		Group I (HCV/HBV), n = 32	Group II (CMV/VEB), n = 32	Group III (storage diseases), n = 9
IL-1 $\beta$ , pg/L	1.6 (0.0; 2.6)	0.2 (0.0; 0.4)*	4.3 (3.1; 5.6)*/**	1.6 (0.2; 1.9)
IL-2, pg/L	0.1 (0.0; 0.3)	0.8 (0.4; 0.9)*	0.3 (0.2; 0.5)*	0.4 (0.2; 0.6)*
IL-6, pg/L	2.0 (0.0; 4.0)	37.8 (19.3; 41.3)*	38.2 (17.5; 50.0)*	43.3 (20.0; 62.3)*
IFN- $\gamma$ , pg/L	9.4 (0.0; 15.0)	14.1 (8.9; 18.6)**	37.6 (18.3; 45.4)*/**	13.5 (8.2; 17.5)
TNF- $\alpha$ , pg/L	0.5 (0.0; 2.0)	2.2 (1.3; 3.6)*	5.3 (2.9; 7.4)*/**	0.05 (0.0; 0.08)*/**/****
IL-4, pg/L	0.2 (0.0; 0.3)	1.2 (0.9; 1.9)*/**	0.4 (0.2; 0.6)*/**	0.5 (0.1; 0.9)*
IL-10, pg/L	4.5 (0.2; 9.5)	27.8 (13.9; 38.6)*/**	19.2 (11.2; 24.6)*/**	11.5 (5.5; 18.5)*
VEGF, pg/L	170.0 (40.0; 280.0)	217.3 (90.2; 479.3)	270.0 (113.4; 532.0)	328.0 (296.5; 927.0)*/**/****

\*: differences in comparison with the reference values are significant (P < 0.05); \*\*: significance of difference between groups I and II (P < 0.05); \*\*\*: significance of difference between groups III and I (P < 0.05); \*\*\*\*: significance of difference between groups III and II (P < 0.05).

**Table 3.** Content of T lymphocyte subpopulations in patients with hepatosplenomegaly of different etiology (Me, Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

T lymphocyte subpopulations, units	Reference values, n = 38	Studied groups		
		Group I (HCV/HBV), n = 32	Group II (CMV/VEB), n = 32	Group III (storage diseases), n = 9
T helper, CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , %	41.0 (32.0; 48.0)	38.0 (27.3; 43.5)**	51.0 (35.7; 66.4)*/**	48.4 (33.1; 56.7)
Co-stimulatory molecules CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> , %	56.0 (48.7; 62.0)	30.1 (20.2; 43.8)*	36.7 (28.4; 46.6)*	27.8 (22.4; 38.2)*
Activated T lymphocytes, CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , %	3.5 (3.0; 4.5)	1.5 (0.4; 3.1)*/**	2.6 (1.6; 2.9)**	4.6 (3.0; 5.8)
Regulatory T lymphocytes, CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>neg</sup> , %	4.5 (3.2; 5.4)	1.9 (1.5; 2.3)*/**	2.3 (1.1; 3.0)**	4.3 (3.5; 6.0)
Late activation T lymphocytes marker CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> , %	8.0 (5.5; 14.2)	13.0 (11.1; 20.7)*/**	3.5 (3.0; 4.6)*/**	4.4 (3.8; 6.1)*

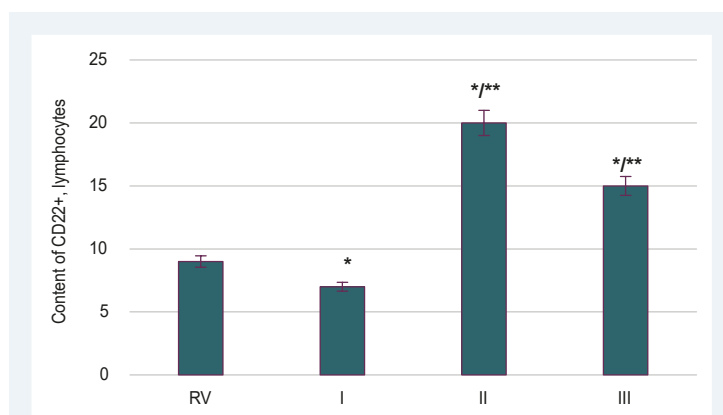
\*: differences in comparison with the reference values are significant (P < 0.05); \*\*: significance of difference between groups I and II (P < 0.05).

The content of B lymphocytes expressing CD22<sup>+</sup> was reduced in patients with cirrhosis of the liver against the background of viral hepatitis (group I). And in groups II and III, the level of CD22<sup>+</sup> B lymphocytes was increased relative to the reference values (Fig. 1).

To form an adequate immune response to an antigen with subsequent elimination from the body, it is important to activate the lymphocytes of T helper population CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>. The population of T helpers was reduced in group I (patients with hepatitis B or/and C viruses) (Table 3).

The expression of co-stimulatory molecules CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> was reduced in group I (HCV/HBV) by 46 %, in group II (CMV/VEB) – by 34 %. The most pronounced deficiency of co-stimulatory molecules (2-fold decrease) was revealed in patients with hepatosplenomegaly against the background of hereditary enzymopathies in group III (Fig. 2).

The number of activated T cells CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> was reduced in patients with hepatosplenomegaly of groups I and II – by 2.3 and 2 times, respectively, and in group III an increase in the number of activated T helpers by 1.2 times was revealed (Table 3). The level of Treg (regulatory T cells) CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> (producers of IL-10)

**Fig. 1.** Content of a subpopulation of CD22<sup>+</sup> B lymphocytes in patients with hepatosplenomegaly.

\*: differences in comparison with the reference values (RV) are significant (P < 0.05); \*\*: significance of difference between groups I and II (P < 0.05).

was decreased in groups I and II relative to the reference values (Table 3).

Multidirectional changes in the expression on T cells of the class II HLA-DR receptor involved in signal transduction by activated T lymphocytes have revealed.

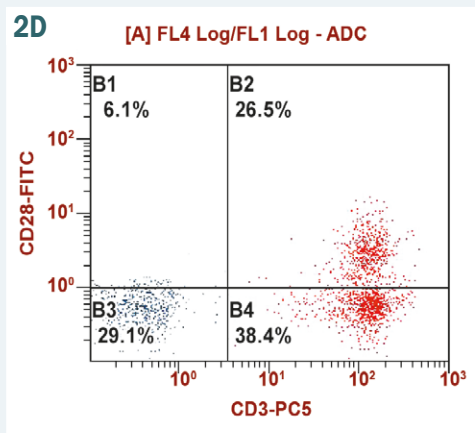
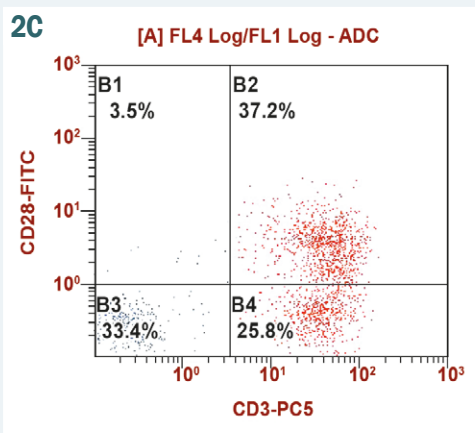
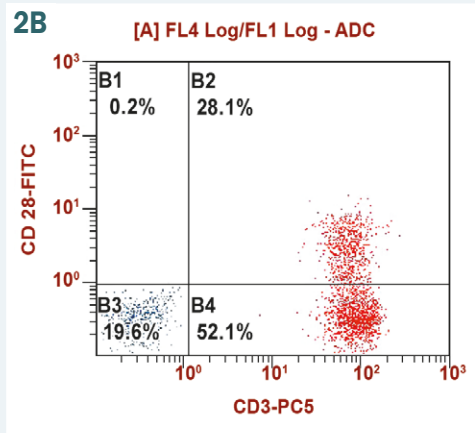
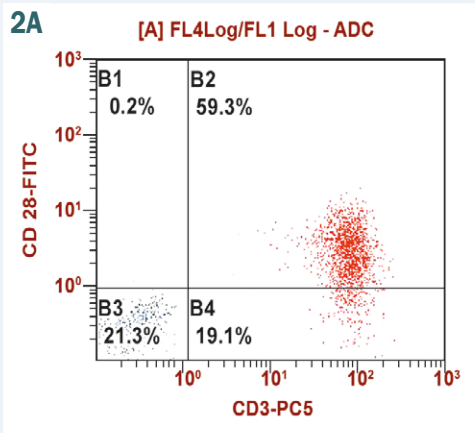


Fig. 2. Individual values of the relative amount of co-stimulatory molecules (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> lymphocytes): in a healthy donor (A), in a patient with hepatosplenomegaly on the background of HBV/HCV (B), CMV/VEB (C), in a patient with hereditary enzymopathies (D).

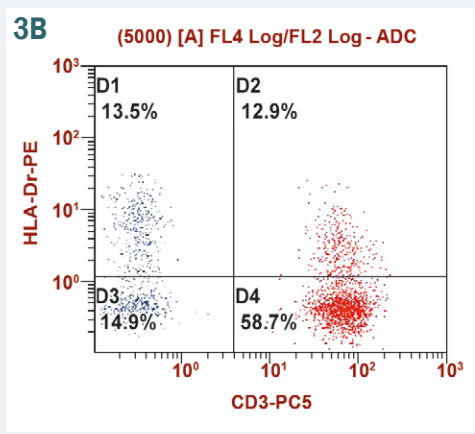
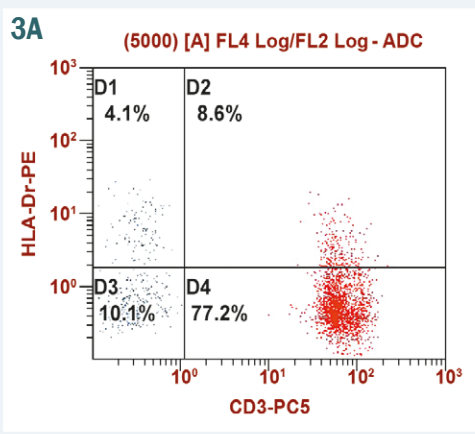
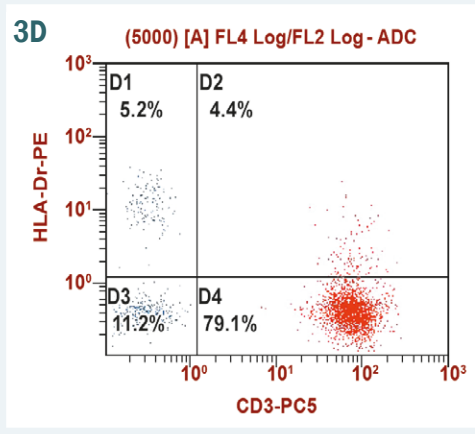
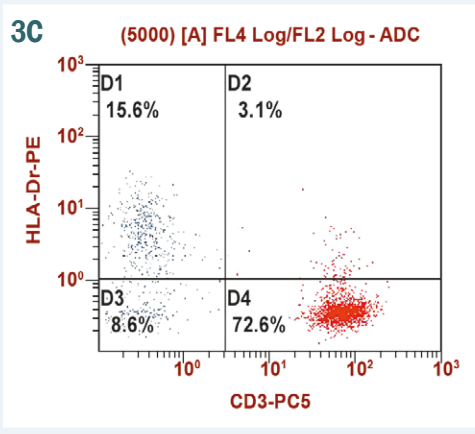


Fig. 3. Individual values of the relative amount of the late activation marker of lymphocytes (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>): in a healthy donor (A), in a patient with hepatosplenomegaly on the background of HBV/HCV (B), CMV/VEB (C), in a patient with hereditary enzymopathies (D).



In patients with hepatitis viruses HCV/HBV, an increase in the expression of the late activation marker of lymphocytes CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> by an average of 63 % was noted (Fig. 3). In patients with the herpesvirus CMV/VEB (group II) and in patients with hereditary enzymopathies (group III) a decrease in the expression of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> by 56 % and 45 %, respectively, was revealed (Fig. 3).

## Discussion

The involvement of the spleen in the pathogenesis of liver cirrhosis is due to the anatomical participation of both organs in the portal circulation, blood filtration, antigens and toxins elimination. The spleen, as a lymphoid organ of the immune system, is involved in pathological processes occurring in the liver when the immune response is impaired [6]. An increase in the size of the spleen can be a consequence of infection of the body and a violation of immunological protection certain links, with the subsequent formation of autoimmune processes or against the background of genetically determined metabolic disorders.

We have previously shown that the etiological factors of liver cirrhosis in patients with hepatosplenomegaly complicated by portal hypertension and recurrent bleeding are hepatitis B viruses (HBV), hepatitis C viruses (HCV), herpes viruses – cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (VEB), *Helicobacter pylori* infection, toxoplasmosis (the causal agent of *Toxoplasma gondii*), and various genetic defects of lysosomal enzymes (storage diseases) [7,8]. The presence of certain trigger factors leads to the induction of specific mechanisms of the pathological process, which differ in the features of biochemical, immunological, hemostatic reactions [9].

The study of indexes of the immunity humoral link in patients with hepatosplenomegaly indicates an imbalance in the content of different classes of immunoglobulins depending on etiological factors. In particular, in group I a significant increase in IgA concentration was revealed with a normal content of antibody-producing CD22<sup>+</sup> B lymphocytes. This phenomenon can be explained by a violation of the antigens elimination of the intestinal microflora due to insufficiency of liver function caused by viral cytolysis of hepatocytes. Antigens of the intestinal microbiota entering the systemic circulation through the portosystemic anastomoses of the affected liver induce the production of antibodies mainly in the spleen. In addition, IgA which is found in large quantities in the intestinal mucosa can enter the bloodstream through portosystemic anastomoses [10]. It can also be assumed that the high concentration of IgA is a consequence of the activation of CD5<sup>+</sup> B1 lymphocytes subpopulation, which in the abdominal cavity can respond to both T dependent and T independent antigens [11].

In contrast to group I, in group II the increase in the concentration of IgA was less significant. We detected a high content of IgM as a marker of an acute infectious process against a background of 35 % increased expression of the CD22<sup>+</sup> marker on B lymphocytes. This indicates that in the group with autoimmune liver damage, the mechanism of IgM increase is associated with the reactivation of viral infection and chronic infection induced an increase in the synthesis of antiviral IgM. In addition,

the increased content of antibody-producing CD22<sup>+</sup> B lymphocytes in patients with herpesvirus etiology of autoimmune hepatitis (group II) may be the result of VEB reactivation which is known to enhance the proliferation of B lymphocytes [12]. Reinfection or reactivation of lysogenic forms of CMV and/or VEB in the spleen induces antibody production by B lymphocytes against the background of our revealed sharply reduced suppressive activity of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in this group, which stimulated inflammatory reactions in these organs [11,13].

The inflammatory process is initiated and mediated by the participation of a wide range of cytokines, which are capable of exerting both protective and damaging effects. But at the final stage of chronic diseases the increased level of various functional classes of cytokines is mainly associated with their damaging effects, such as the maintenance of local and systemic inflammation, apoptotic death of hepatocytes, progression of fibrosis and the development of extrahepatic complications [14].

An increased serum content of pro-inflammatory cytokines in liver cirrhosis was revealed in groups I and II. A significant increase in the concentration of IL-6 in all groups indicates the development of an acute inflammatory reaction. In group I a low level of IL-1 $\beta$  against the background of a high concentration of IL-6 indicates the resolution of an acute inflammatory reaction, since one of the main functions of IL-6 is self-limitation of the inflammatory response by suppressing the production of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , and stimulation synthesis of an antagonist of the IL-1 receptor and the soluble TNF-p55 receptor [15]. Through stimulating B lymphocytes, IL-6 induces the synthesis of immunoglobulins and also participates in the differentiation of cytotoxic T lymphocytes [16].

An increase in the synthesis of IL-10 was observed in all groups, but most pronounced in groups I and II. This led to a decrease in anti-infectious protection, the development of immunosuppression, disruption of reparative processes due to a shift in the balance towards Th2 [16]. The high production of IL-10 is probably associated with a high level of immunoglobulins in these groups and as a consequence a high immune complexes concentration which acting on macrophages induces the secretion of many cytokines, including IL-10.

We have shown the concentration of TNF- $\alpha$  increases by 5 and 10 times in patients with cirrhosis of the liver of viral HBV/HCV etiology (group I) and in patients with cirrhosis of the liver against the background of herpes infection (group II), respectively. Since this cytokine is involved not only in defense reactions but also in the processes of destruction and repair of tissues. So, this increase enhances the inflammatory process. In long-term chronic inflammation TNF- $\alpha$ , that is one of the mediators of tissue damage and activation of fibrogenesis, which is also associated with the ability of TNF- $\alpha$  to induce fibroblast proliferation and collagen deposition. A high concentration of TNF- $\alpha$  entails chronic inflammation, destruction and contributes to the unfavorable course of the pathological process. An excessive increase in the production of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 against the background of the T-cell link deficiency and activation of the humoral link immunity enhance the progressive nature of inflammation and liver tissue destruction [17]. This is most pronounced in I and II groups.

It is known that hereditary defects of lysosomal enzymes (glucocerebrosidase, chitotriosidase, angiotensin converting enzyme, acid lipase, etc.) lead to pathological accumulation of metabolites in cells and hyperplasia of many organs, including the liver and spleen [18]. There is evidence Gaucher cells (lipid-filled macrophages) express the vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with storage diseases. This cytokine not only stimulates angiogenesis, but also promotes the attraction of monocytes, which may be the reason for the local accumulation of Gaucher cells in various organs [19]. In group III a significant increase in VEGF was revealed, which indicates the activation of neoangiogenesis in the liver, endothelial dysfunction and can serve as an indirect marker of liver fibrosis. The development of intrahepatic angiogenesis can be considered as a compensatory mechanism aimed at decompression of the portal system. At the same time, the newly formed vessels carrying blood bypassing the sinusoids are unable to provide oxygen and nutrients to the liver tissue, which leads to the portal hypertension progression in patients of group III.

The interaction of antigens with antigen-recognizing receptors is a signal for the activation of T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>). This is manifested by the secretion of cytokines that enhance the processes of proliferation and differentiation of various subpopulations of T lymphocytes, B lymphocytes and macrophages [16]. We have shown the content of the total number of CD3<sup>+</sup> T lymphocytes in all patients with hepatosplenomegaly was reduced [8]. A decrease in the number of CD3<sup>+</sup> T lymphocytes in all patients with hepatosplenomegaly may be due to secondary immune deficiency. Its formation is probably due to the damaging effect of toxic metabolites in viral infection and a genetic defect of lysosomal enzymes against the background of impaired detoxification function of the liver. In group II long-term course of herpesvirus led to a pronounced decrease in CD8<sup>+</sup> T suppressors [8]. It is known, viral infection is associated with anergy of CD8<sup>+</sup> T suppressor cells [20].

According to various authors, T regulatory cells (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup>) inhibit the functional activity of virus-specific cytotoxic CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in hepatitis [21,22]. Therefore, it can be assumed they play a central role in the viral infection and may be the target of immunotherapy. In patients of group I a decrease in regulatory T lymphocytes CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>neg</sup> was revealed while in group III (patients with hepatosplenomegaly of non-infectious etiology) the expression of Treg cells did not differ from the reference values. According to Mengshol (2010) galectin-9 produced by Kupffer liver cells contributes to the maintenance of the number of Treg cells CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>. This leads to inhibition of the effects of CD4<sup>+</sup> cells and contributes to apoptosis of cytotoxic T lymphocytes [23,24].

The development of a strong and prolonged T cell response with the predominant synthesis of cytokines characteristic of Th1 T lymphocytes (IFN- $\gamma$ , IL-2) and also the activation of effector cytotoxic CD8<sup>+</sup> lymphocytes can lead to the termination of the infectious process. But the previously identified suppression of the CD8<sup>+</sup> subpopulation of T killer cells in group II indicates a long-term course of the pathogen with the development of a chronic process [8]. In the case when as a result of

the opposition of the virus the body fails to implement the antiviral strategy due to the activation of Th1 T lymphocytes, the balance of Th1/Th2 T lymphocytes shifts towards the Th2 subpopulation with the predominance of pro-inflammatory cytokines [17,25]. Thus, in group I activation of Th1-dependent reactions is noted while in group II simultaneous activation of both Th1 and Th2-dependent reactions is noted.

The interaction of CD28 co-stimulatory molecules on T lymphocytes with ligand B7 (CD80/CD86) on antigen-presenting cells increases the production of cytokines by T cells by further stabilizing the mRNA of these molecules and enhancing the transcription of their genes. Horst et al. (2020) has shown that insufficient formation of the B7/CD28 complex leads to a low level of T lymphocyte cytokines production the development of anergy and therefore blocks the immune response [16]. All examined patients showed a decrease in the expression of co-stimulatory molecules CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> reflecting the activation of the immune system, participating in cell-cell interaction and determining T helper-dependent antibody production.

According to R. Oba et al. the most severe forms of liver cirrhosis are characterized by insufficiency of the immunity cellular component manifested by a decrease in the level of cytotoxic T lymphocytes along with an increase in the HLA receptors class II expression [26]. We also found a similar tendency in patients with hepatosplenomegaly associated with viral hepatitis; however, in groups II and III the expression of CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> receptors was reduced.

Immune disorders in hepatosplenomegaly depending on the etiology can be characterized by both changes in immunoreactivity and immunoresistance. Therefore, approaches to the treatment of patients with hepatosplenomegaly must be in complex. It is necessary to take into account the triggering infectious factors that cause the formation of various immune responses which can be one of the elements of further destruction and remodeling of organs.

## Conclusions

1. In the overwhelming number of patients with hepatosplenomegaly trigger infectious factors were detected: hepatitis form B or/and C viruses (in 47 %), herpes virus – cytomegalovirus or/and Epstein-Barr virus (in 42 %) and a small number (in 11 %) were diagnosed with enzymopathies – quantitative disorders of lysosomal enzymes – glucocerebrosidase and chitotriosidase.

2. Activation of the immunity humoral link in response to infection was revealed in group I – a significant increase in the IgA and IgM concentration, while the number of B lymphocytes was at the level of reference values. In group II antibody production for the herpes infection presence was more pronounced in IgM, while the number of B lymphocytes was 2 times increased.

3. In group II the concentration of IL-1 $\beta$  was many times higher to reference values and this induced the entire cascade of humoral and cellular sensitization. TNF- $\alpha$  concentration was increased tenfold in this group. In group III we revealed a maximum increase in IL-6 (22 times), which indicates the presence of a cytokine storm

in patients of this group who were admitted to the clinic at the height of bleeding. Group III showed a significant increase in VEGF. This factor stimulates angiogenesis and is a chemoattractant of Gaucher cells and an additional factor of their accumulation in the spleen and liver.

4. The activity of regulatory cells CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD-127<sup>neg</sup> (as producers of IL-10) manifested itself as a manifold increase in this anti-inflammatory cytokine in response to the presence of a cytokine storm.

5. An increase in CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> was revealed in groups II and III. The number of co-stimulatory molecules CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> was reduced in all groups, which indicates a violation of intercellular signaling. The deficiency of these molecules was revealed in patients with hereditary enzymopathies (group III).

### Funding

The study is funded as a part of scientific work in SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine": "Investigation of immunopathological parameters in splenomegaly and hypersplenism to justify different treatments", state registration No. 0118U006665.

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

Надійшла до редакції / Received: 19.04.2021  
Після доопрацювання / Revised: 07.07.2021  
Прийнято до друку / Accepted: 13.07.2021

### Information about authors:

Klimova O. M., PhD, DSc, Professor, Head of Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv; Professor of the Department of Molecular Biology and Biotechnology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4007-6806](https://orcid.org/0000-0002-4007-6806)

Kordon T. I., PhD, Senior Researcher, Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: [0000-0001-5813-3656](https://orcid.org/0000-0001-5813-3656)

Sushkov S. V., MD, PhD, DSc, Professor, Deputy Director for Research, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: [0000-0002-6951-9789](https://orcid.org/0000-0002-6951-9789)

Drozдова L. A., PhD, Senior Researcher, Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: [0000-0001-9678-4046](https://orcid.org/0000-0001-9678-4046)

Lavinska O. V., PhD, Senior Researcher, Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv; Associate Professor of the Department of Molecular Biology and Biotechnology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7320-0925](https://orcid.org/0000-0001-7320-0925)

Merezhko O. S., Junior Researcher, Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv; Laboratory Assistant of the Department of Molecular Biology and Biotechnology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9855-1780](https://orcid.org/0000-0001-9855-1780)

Bychenko K. O., Junior Researcher, Diagnostic Laboratory with Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence Analysis, SI "Zaitsev V. T. Institute of General and Urgent Surgery of NAMS of Ukraine", Kharkiv; Postgraduate Student of the Department of Molecular Biology and Biotechnology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7885-7715](https://orcid.org/0000-0001-7885-7715)

### Відомості про авторів:

Клімова О. М., д-р біол. наук, професор, зав. діагностичної лабораторії з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків; професор каф. молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Кордон Т. І., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків.

Сушков С. В., д-р мед. наук, професор, заступник директора з наукової роботи, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків.

Дроздова Л. А., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків.

Лавінська О. В., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків; доцент каф. молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Мережко О. С., молодший науковий співробітник, діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків; лаборант каф. молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Биченко К. О., молодший науковий співробітник, діагностична лабораторія з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом, ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків, аспірант каф. молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

### Сведения об авторах:

Климова Е. М., д-р биол. наук, профессор, зав. диагностической лабораторией с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков; профессор каф. молекулярной биологии и биотехнологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Кордон Т. И., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, диагностическая лаборатория с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков.

Сушков С. В., д-р мед. наук, профессор, заместитель директора по научной работе, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков.

Дроздова Л. А., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, диагностическая лаборатория с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков.

Лавинская Е. В., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, диагностическая лаборатория с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков; доцент каф. молекулярной биологии и биотехнологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Мережко О. С., младший научный сотрудник, диагностическая лаборатория с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков; лаборант каф. молекулярной биологии и биотехнологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина. Быченко Е. А., младший научный сотрудник, диагностическая лаборатория с иммуноферментным и иммунофлуоресцентным анализом, ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков; аспирант каф. молекулярной биологии и биотехнологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

## References

- [1] Albillos, A., Lario, M., & Alvarez-Mon, M. (2014). Cirrhosis-associated immune dysfunction: Distinctive features and clinical relevance. *Journal of hepatology*, 61, 1385-1396. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.010>
- [2] Hu, X., Huang, X., Hou, J., Ding, L., Su, C., & Meng, F. (2020). Diagnostic accuracy of spleen stiffness to evaluate portal hypertension and esophageal varices in chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. *European Radiology*, 31, 2392-2404. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07223-8>
- [3] Dinarello, C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunology Review*, 281(1), 8-27. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>
- [4] Engelmann, C., Sheikh, M., Sharma, S., Gupta, S., Andreola, F., & Jalan, R. (2020). Toll-like receptor 4 is a therapeutic target for prevention and treatment of liver failure. *Journal of hepatology*, 73(1), 102-112. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.01.011>
- [5] Ciesielcka, A., Matyjek, M., & Kwiatkowska, K. (2021). TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and molecular life sciences*, 78, 1233-1261. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>
- [6] Li, L., Duan, M., Chen, W., Jiang, A., Li, X., Yang, J., & Li, Z. (2017). The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets. *Journal of translational medicine*, 15(1), 111. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1214-8>
- [7] Klimova, O. M., Sushkov, S. V., Timchenko, M. E., Riabov, R. S., Kordon, T. I., Bychenko, E. A., & Merezko, O. S. (2019). Immunoreactivity changes in patients with gastrointestinal pathology against the background of chronic *Helicobacter pylori* infection. *Surgery (Azerbaijan Republic)*, (4), 29-37.
- [8] Klimova, O., Kordon, T., Smachylo, R., Belozorov, I., Bychenko, E., Merezko, O., & Kudrevych, O. (2019). Diferentsialna diahnozyka i korektsiia metabolichnykh ta imunolohichnykh porushen u khvorykh z tsyrozom pechinky, uskladnenym hepatosplenomegalieiu ta portalnoiui hipertenzieiu [Differential diagnostics and correction of metabolic and immunological disorders in patients with hepatic cirrhosis, complicated hepatosplenomegalia and portal hypertension]. *Actual Problems of Modern Medicine*, (4), 31-41. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.26565/2617-409X-2019-4-04>
- [9] Klimova, E. M., Kalashnikova, Y. V., Kordon, T. I., Lavinskaya, E. V., Agarkova, A. N., Osmanov, R. R., & Ryabinskaya, O. V. (2020). Prediktory gemorragicheskikh i tromboticheskikh oslozhnenii sindroma gepatosplenomegalii [Predictors of hemorrhagic and thrombotic complications of hepatosplenomegaly syndrome]. *Kharkiv Surgical School*, (1), 148-154. [in Russian]. <https://doi.org/10.37699/2308-7005.1.2020.25>
- [10] Inamine, T., & Schnabl, B. (2018). Immunoglobulin A and liver diseases. *Journal of gastroenterology*, 53(6), 691-700. <https://doi.org/10.1007/s00535-017-1400-8>
- [11] Takada, D., Sumida, K., Sekine, A., Hazue, R., Yamanouchi, M., Suwabe, T., Hayami, N., Hoshino, J., Sawa, N., Takaichi, K., Fujii, T., Ohachi, K., & Ubara, Y. (2017). IgA nephropathy featuring massive wire loop-like deposits in two patients with alcoholic cirrhosis. *BMC Nephrology*, 18(1), 362. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0769-1>
- [12] Oliveira, F. L., Bernardes, E. S., Brand, C., dos Santos, S. N., Cabelo, M. P., Arcanjo, K. D., Brito, J. M., Borojevic, R., Chammas, R., & El-Cheikh, M. C. (2016). Lack of galectin-3 up-regulates IgA expression by peritoneal B1 lymphocytes during B cell differentiation. *Cell and tissue research*, 363(2), 411-426. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2203-y>
- [13] Taylor, S. A., Assis, D. N., & Mack, C. L. (2019). The Contribution of B Cells in Autoimmune Liver Diseases. *Seminars in Liver Disease*, 39(4), 422-431. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1688751>
- [14] Kawaratani, H., Tsujimoto, T., Douhara, A., Takaya, H., Moriya, K., Namisaki, T., Noguchi, R., Yoshiji, H., Fujimoto, M., & Fukui, H. (2013). The effect of inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *Mediators of Inflammation*, 2013, 495156. <https://doi.org/10.1155/2013/495156>
- [15] Topolyanskaya, S. V. (2020). Rol' interlejkina 6 pri starenii i vozrast associirovannyh zabozevaniyah [Interleukin 6 in aging and age-related diseases]. *Klinitsist*, 14(3-4), 10-17. [in Russian]
- [16] Horst, A. K., Kumashie, K. G., Neumann, K., Diehl, L., & Tiegs, G. (2021). Antigen presentation, autoantibody production, and therapeutic targets in autoimmune liver disease. *Cellular & molecular immunology*, 18(1), 92-111. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00568-6>
- [17] Pinto, C., Giordano, D. M., Maroni, L., & Marziani, M. (2018). Role of inflammation and proinflammatory cytokines in cholangiocyte pathophysiology. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1864(4 Pt B), 1270-1278. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2017.07.024>
- [18] Ferreira, C. R., & Gahl, W. A. (2017). Lysosomal storage diseases. *Translational Science of rare disease*, 2(1-2), 1-71. <https://doi.org/10.3233/TRD-160005>
- [19] Ivanova, M., Limgala, R. P., Changsila, E., Kamath, R., Ioanou, C., & Goker-Alpan, O. (2018). Gaucheromas: When macrophages promote tumor formation and dissemination. *Blood cells, molecules & diseases*, 68, 100-105. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2016.10.018>
- [20] Karkhad, A., Javanian, M., & Ebrahimpour, S. (2018). The role of regulatory T cells in immunopathogenesis and immunotherapy of viral infections. *Infection, Genetics and Evolution*, 59, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.01.015>
- [21] Dominguez-Villar, M., & Hafler, D. A. (2018). Regulatory T cells in autoimmune disease. *Nature Immunology*, 19(7), 665-673. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0120-4>
- [22] Van der Heide, D., Weiskirchen, R., & Bansal, R. (2019). Therapeutic Targeting of Hepatic Macrophages for the Treatment of Liver Diseases. *Frontiers in immunology*, 10, 2852. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02852>
- [23] Liberal, R., Grant, C. R., Longhi, M. S., Mieli-Vergani, G., & Vergani, D. (2015). Regulatory T cells: Mechanisms of suppression and impairment in autoimmune liver disease. *IUBMB life*, 67(2), 88-97. <https://doi.org/10.1002/iub.1349>
- [24] Burghardt, S., Claass, B., Erhardt, A., Karimi, K., & Tiegs, G. (2014). Hepatocytes induce Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells by Notch signaling. *Journal of leukocyte biology*, 96(4), 571-577. <https://doi.org/10.1189/jlb.2AB0613-342RR>
- [25] Robinson, M. W., Harmon, C., & O'Farrelly, C. (2016). Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cellular & molecular immunology*, 13(3), 267-276. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.3>
- [26] Oba, R., Isomura, M., Igarashi, A., & Nagata, K. (2019). Circulating CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Extracellular Vesicles as a Marker for Th1/Tc1-Type Immune Responses. *Journal of immunology research*, 2019, 6720819. <https://doi.org/10.1155/2019/6720819>

## Активність маркерів оксидативного та нітрозативного стресів у плазмі крові пацієнтів із хворобою Паркінсона на ранніх стадіях

А. В. Демченко<sup>id</sup> A,F, В. В. Бірюк<sup>id</sup> \*B,C,D,E, А. В. Абрамов<sup>A,F</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

**Мета роботи** – дослідити активність маркерів оксидативного та нітрозативного стресів у плазмі крові пацієнтів із хворобою Паркінсона (ХП) на I–II стадіях і визначити зв'язок між їхньою концентрацією та вираженістю немоторних симптомів захворювання.

**Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь 67 пацієнтів із I–II стадіями ХП і 20 осіб групи контролю. Стан когнітивних функцій визначали за Монреальською шкалою когнітивного оцінювання (MoCA). Для встановлення вираженості психоемоційних порушень застосували анкету оцінювання нічного сну (О. М. Вейн), тест Zung для самооцінювання тривоги, шкалу апатії Starkstein, бостонський тест на стресостійкість, шкалу депресії Бека (BDI-II).

Виконали імуноферментний аналіз (ELISA) для визначення активності глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіон-S-трансферази (ГТ) і вмісту 3-нітротирозину (3-НТ) у плазмі крові учасників дослідження (набори Elabscience®).

**Результати.** Середній вік пацієнтів із ХП й осіб групи контролю – 64,35 ± 1,22 і 66,40 ± 0,70 року відповідно. Активність ГПО в пацієнтів із I–II стадіями ХП вірогідно нижча, ніж в осіб групи контролю ( $p < 0,001$ ), вірогідно вища на I стадії захворювання порівняно з показниками хворих із II стадією ( $p = 0,003$ ). Активність ГПО в пацієнтів із ХП зі збереженими когнітивними функціями вірогідно збільшена порівняно з показником хворих із когнітивними порушеннями ( $p = 0,042$ ).

Встановили статистично вірогідне зниження ГТ плазми крові пацієнтів на I–II стадіях ХП із тривожністю ( $p = 0,002$ ) порівняно з показником хворих без неї, а також статистично вірогідне підвищення рівня 3-НТ у пацієнтів із помірною тривожністю порівняно з показником хворих без неї ( $p = 0,029$ ).

**Висновки.** Активність антиоксидантного ферменту глутатіонпероксидази вірогідно знижена в пацієнтів із ХП на ранніх стадіях порівняно з показниками групи контролю, а також у пацієнтів із II стадією захворювання щодо хворих із I стадією. Цей показник достовірно зменшувався, якщо в пацієнтів із ХП були когнітивні розлади. У хворих із помірною тривожністю встановили підвищення концентрації 3-нітротирозину та зниження активності глутатіонтрансферази у плазмі крові на ранніх стадіях ХП.

### Ключові слова:

хвороба Паркінсона, оксидативний стрес, нітрозативний стрес.

### Патологія. 2021.

T. 18, № 2(52).

C. 183-188

### \*E-mail:

varvarabiryuk@gmail.com

## The activity of markers of oxidative and nitrosative stresses in blood plasma of Parkinson's disease patients at the early stages

A. V. Demchenko, V. V. Biriuk, A. V. Abramov

**The aim** of the study is to investigate activity of markers of oxidative and nitrosative stresses in blood plasma of patients in the I–II stages of Parkinson's disease (PD) and to determine correlations between their concentrations and severity of non-motor PD symptoms.

**Materials and methods.** 67 patients at I–II PD stages and 20 healthy controls took part in the research. Cognitive functions were examined due to the Montreal Cognitive Assessment test – MoCA test. For the severity of psycho-emotional disorders evaluation the following scales and questionnaires were used: Night Sleep Assessment Questionnaire by A. M. Vein, Zung test for anxiety, apathy Starkstein scale, Boston stress-resistance test, Beck Depression Inventory (BDI-II).

We performed ELISA test for determination of glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) activities and 3-nitrotyrosine (3-NT) level in blood plasma of participants (Elabscience® kit).

**Results.** The middle age of PD patients and healthy controls was 64.35 ± 1.22 and 66.40 ± 0.70 years, respectively. GPx activity in plasma of patients at I–II PD stages was significantly lower than in healthy controls ( $P < 0.001$ ) and was higher at the I stage compared to the II PD stage ( $P = 0.003$ ). Also GPx activity in PD patients with normal cognition was higher than in PD patients with cognitive impairment ( $P = 0.042$ ).

The GST activity in plasma of PD patients with anxiety was significantly lower ( $P = 0.002$ ) compared to those without anxiety, and 3-NT blood plasma level in PD patients with moderate anxiety was higher than in those without one ( $P = 0.029$ ).

**Conclusions.** The activity of antioxidant GPx was significantly lower in PD patients at early stages compared to healthy controls, and in PD patients in the II stage of the disease compared to the I stage, and it was significantly lower in PD patients with cognitive impairment. PD patients with moderate anxiety had lower 3-NT levels and GST activity in blood plasma.

### Key words:

Parkinson's disease, oxidative stress, nitrosative stress.

### Pathologia

2021; 18 (2), 183-188



## Ключевые слова:

болезнь Паркинсона, оксидативный стресс, нитрозативный стресс.

Патологія. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 183-188

## Активность маркеров оксидативного и нитрозативного стрессов в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона на ранних стадиях

А. В. Демченко, В. В. Бирюк, А. В. Абрамов

**Цель работы** – исследовать активность маркеров оксидативного и нитрозативного стрессов в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона (БП) на I–II стадиях и определить связь между их концентрацией и выраженностью немоторных симптомов заболевания.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 67 пациентов с I–II стадиями БП и 20 человек группы контроля. Состояние когнитивных функций определяли по Монреальской шкале когнитивного оценивания (MoCA). Для установления выраженности психоэмоциональных нарушений использовали анкету оценки ночного сна (А. М. Вейн), тест Zung для самооценки тревоги, шкалу апатии Starkstein, бостонский тест на стрессоустойчивость, шкалу депрессии Бека (BDI-II).

Проведен иммуноферментный анализ (ELISA) для определения активности глутатионпероксидазы (ГПО), глутатион-S-трансферазы (ГТ) и содержимого 3-нитротирозина (3-НТ) в плазме крови участников исследования (наборы Elabscience®).

**Результаты.** Средний возраст пациентов с БП и лиц группы контроля –  $64,35 \pm 1,22$  и  $66,40 \pm 0,70$  года соответственно. Активность ГПО у пациентов с I–II стадиями БП достоверно ниже, чем в группе контроля ( $p < 0,001$ ), достоверно выше на I стадии заболевания по сравнению с показателями больных со II стадией ( $p = 0,003$ ). Активность ГПО у пациентов с БП с сохраненными когнитивными функциями достоверно выше относительно показателя больных с когнитивными нарушениями ( $p = 0,042$ ).

Установлено статистически достоверное снижение ГТ плазмы крови пациентов на I–II стадиях БП с тревожностью ( $p = 0,002$ ) по сравнению с больными без нее, а также статистически достоверное повышение уровня 3-НТ у пациентов с умеренной тревожностью относительно показателя больных без нее ( $p = 0,029$ ).

**Выводы.** Активность антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы достоверно снижена у пациентов с БП на ранних стадиях по сравнению с показателями группы контроля, а также у пациентов со II стадией заболевания относительно больных с I стадией. Этот показатель существенно уменьшался при наличии когнитивных расстройств у пациентов с БП. У больных с умеренной тревожностью установлено повышение концентрации 3-нитротирозина и снижение активности глутатионтрансферазы в плазме крови на ранних стадиях БП.

Хвороба Паркінсона (ХП) – друге за поширеністю нейродегенеративне захворювання у світі [1], яке істотно погіршує якість життя пацієнтів уже на ранніх стадіях [2]. Оскільки нині немає ефективного етіопатогенетичного лікування ХП [3], актуальне поглиблене вивчення механізмів, що призводять до реалізації патогенезу захворювання.

Відомо, що акумуляція патологічного  $\alpha$ -синуклеїну, що прогресує, – один із провідних патогенетичних процесів при ХП [1], а оксидативний і нитрозативний стреси відіграють важливу роль у дофамінергічній нейротоксичності [4,5]. Оксидативний стрес впливає на накопичення патологічного  $\alpha$ -синуклеїну [1], спричиняючи екзацербачію оксидативного та нитрозативного стресів із запуском так званого «хибного кола» в патогенезі ХП [1]. Оксидативний стрес впливає також на мітохондріальну дисфункцію та нейрозапалення, які виявляють при ХП [6].

Немоторні симптоми ХП можуть виникати задовго до класичних моторних проявів [7], тривалий час залишаються нерозпізнаними [8]. Це погіршує своєчасну якісну діагностику захворювання та відтермінує початок терапії. За відомостями фахової літератури, патогенетичні аспекти виникнення немоторних симптомів ХП остаточно не з'ясовані [9], але є дослідження взаємозв'язку між концентрацією  $\alpha$ -синуклеїну та певними немоторними симптомами ХП [10,11]. Дані щодо взаємозв'язку між маркерами оксидативного та нитрозативного стресів і немоторними симптомами ХП на ранніх стадіях у доступній науковій літературі відсутні.

## Мета роботи

Дослідити активність маркерів оксидативного та нитрозативного стресів у плазмі крові пацієнтів із ХП на I–II стадіях і визначити зв'язок між їхньою концентрацією та вираженістю немоторних симптомів захворювання.

## Матеріали і методи дослідження

У дослідженні, що здійснено на базі Навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» Запорізького державного медичного університету, взяли участь 67 пацієнтів із I–II стадіями ХП за класифікацією Хен-Яра (1967) та 20 осіб групи контролю. Клінічний діагноз встановили за класифікацією екстрапірамідних та інших рухових порушень МКХ-Х, підтвердили за критеріями клінічного протоколу (настанова 00798), що рекомендований МОЗ України (08.08.2018 р.). Із дослідження виключали пацієнтів із III–IV стадіями ХП, деменцією, іншими екстрапірамідними розладами, вторинними ураженнями екстрапірамідної системи, із запальними, аутоімунними, онкологічними та психічними захворюваннями, з декомпенсованою стадією соматичної патології.

Усі учасники дослідження підписали інформовану добровільну згоду. Дослідження здійснили відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації (1975 р., переглянуто у 2000 р.), протокол затверджено комісією з питань біоетики Запорізького державного медичного університету.

Стан когнітивних функцій учасників дослідження визначали за Монреальською шкалою когнітивного

Таблиця 1. Показники концентрації антиоксидантних ферментів ГПО, ГТ і 3-НТ у пацієнтів за групами

Групи пацієнтів	Показники антиоксидантної активності		Показники нітрузувального стресу
	ГПО, пг/мл	ГТ, пг/мл	3-НТ, пг/мл
Група контролю (n = 20)	371,64 (332,33–407,26)	180,52 (134,64–195,78)	13,45 (10,81–16,89)
ХП I стадії (n = 25)	325,94 (300,40–344,76)	205,75 (171,32–217,76)	11,82 (9,80–13,27)
ХП II стадії (n = 42)	302,42 (280,57–319,11)	187,45 (145,27–214,90)	11,74 (8,75–15,30)
p(1–2)	0,003	0,285	0,751
ХП загалом (n = 67)	313,17 (282,93–328,63)	197,07 (149,02–217,72)	11,82 (9,22–14,73)
p(к–3)	<0,001	0,093	0,084

к: група контролю; 1: ХП I стадії; 2: ХП II стадії; 3: ХП загалом.

оцінювання (MoCA). Якщо результат оцінювання за шкалою MoCA становив менше ніж 26 балів, то пацієнтам діагностували когнітивні розлади.

Для встановлення вираженості психоемоційних порушень застосовували анкету оцінювання нічного сну (О.М. Вейн), тест Zung для самооцінювання тривоги, шкалу апатії Starkstein, бостонський тест на стресостійкість, шкалу депресії Бека (BDI-II). Вираженість порушень сну визначали так: 23–30 балів – порушень сну немає, 18–22 – легкі порушення сну, 6–17 балів – істотні порушення сну. Ступінь тривожності за шкалою Zung: 20–44 бали – тривожності немає, 45–59 балів – тривожність легкого та середнього ступенів, 60–74 бали – тривожний розлад тяжкого ступеня, 75–80 балів – тривожний розлад у край тяжкого ступеня. Вираженість апатії: до 13 балів – апатії немає, 14–40 балів – клінічно значуща апатія. Стресостійкість вважали нормальною, якщо пацієнт набрав менше ніж 30 балів, зниженою – 30–50, дуже низькою – понад 50 балів. Ступінь депресивних розладів за шкалою Бека визначали за такою бальною системою: до 10 балів – депресивних розладів немає, 11–16 – помірні коливання настрою, 17–20 – погранична клінічна депресія, 21–30 – помірна депресія, 31–40 балів – тяжка депресія.

Плазму крові учасників дослідження брали у фіксований час між 07:00 та 09:00 у спеціальні пробірки K2-EDTA (BD Vacutainer) по 10 мл. Після центрифугування зразків 0,5 мл супернативної плазми переміщені у пробірки Епфендорфа по 1,5 мл та заморожені в температурному режимі -80 °C (National Lab Laboratory Chest Freezer ProfiLine). Виконали імуноферментний аналіз (ELISA) всіх зразків для визначення активності глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіон-S-трансферази (ГТ) та вмісту 3-нітротирозину (3-НТ) у плазмі крові учасників дослідження (набори Elabscience®).

Результати дослідження опрацювали, застосувавши Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., № JРZ804I382130ARCN10-J) та Microsoft Excel 2010. Дані описової статистики наведені як середнє арифметичне та стандартне відхилення ( $M \pm SD$ ) або медіана та міжквартильний інтервал ( $Me (Q1-Q3)$ ) залежно від розподілу ознаки. Нормальність розподілу показників визначали за критерієм Шапіро-Вілка. Порівняння показників двох непов'язаних вибірок, якщо розподіл показників відрізнявся від нормального, виконали за непараметричним критерієм Манна-Вітні. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

## Результати

Середній вік пацієнтів із ХП та осіб групи контролю –  $64,35 \pm 1,22$  та  $66,40 \pm 0,70$  року відповідно. I стадія захворювання діагностована у 25 пацієнтів, II стадія – в 42. Наявність когнітивних порушень визначена в 49 пацієнтів із ХП, порушень сну – також у 49. Тривожність мали 36 пацієнтів із ХП, апатію – 29 пацієнтів. Стресостійкість знижена у 28 пацієнтів із I–II стадіями ХП, депресивний розлад різних ступенів вираженості мали 51 пацієнт із ХП.

Активність ГПО в пацієнтів із I–II стадіями ХП вірогідно нижча, ніж в осіб групи контролю ( $p < 0,001$ ), достовірно вища на I стадії захворювання порівняно з показниками хворих із II стадією ( $p = 0,003$ ). Активність ГТ і концентрація 3-НТ у плазмі крові пацієнтів із ХП суттєво не відрізнялися від показників контрольної групи (табл. 1).

Активність ГПО в пацієнтів із ХП зі збереженими когнітивними функціями вірогідно збільшена порівняно з показником хворих із когнітивними порушеннями ( $p = 0,042$ ). Статистично вірогідну різницю за активністю ГТ і концентрацією 3-НТ у групах пацієнтів із I–II стадіями ХП зі збереженими когнітивними функціями та у хворих із когнітивними порушеннями не виявили. Немає статистично вірогідної різниці за активністю ГПО, ГТ та концентрацією 3-НТ у плазмі крові у групах пацієнтів із клінічно значущою апатією та без неї, зі збереженою та зниженою стресостійкістю, з депресивними розладами й без них (табл. 2).

Під час аналізу відмінностей активності ГПО, ГТ і концентрації 3-НТ у плазмі крові пацієнтів із I–II стадіями ХП залежно від ступеня вираженості тривожності встановили статистично вірогідне зниження ГТ плазми крові у хворих із I–II стадіями ХП із тривожністю ( $p = 0,002$ ) порівняно з показником осіб без неї. Виявили статистично вірогідне підвищення рівня 3-НТ у пацієнтів із помірною тривожністю щодо показника пацієнтів без неї ( $p = 0,029$ ) (табл. 2).

У пацієнтів із ХП без порушень сну визначили статистично вірогідне підвищення концентрації 3-НТ у плазмі крові порівняно з показником хворих із цими порушеннями ( $p = 0,014$ ). Пацієнтів із порушеннями сну поділили на групи з помірними та вираженими порушеннями згідно з результатами тестування. Зіставляючи показники хворих із помірними та вираженими порушеннями сну, виявили статистично вірогідне підвищення концентрації 3-НТ у плазмі крові пацієнтів без порушень сну порівняно з хворими з вираженими порушеннями сну ( $p = 0,011$ ). Але рівень 3-НТ у плазмі крові пацієнтів без порушень сну суттєво не

Таблиця 2. Показники концентрації антиоксидантних ферментів ГПО, ГТ і 3-НТ у хворих на хворобу Паркінсона залежно від клінічних проявів

Клінічні характеристики	Групи	Показники антиоксидантної активності		Показники нітрузувального стресу
		ГПО, пг/мл	ГТ, пг/мл	3-НТ, пг/мл
Когнітивні розлади	Відсутні (n = 18)	322,58 (310,48–330,64)	192,25 (142,50–223,79)	11,43 (9,80–16,12)
	Наявні (n = 49)	302,42 (278,23–326,61)	197,07 (154,09–214,91)	11,84 (9,19–13,29)
	p	0,042	0,961	0,708
Порушення сну	(1) Відсутні (n = 18)	307,12 (268,82–344,09)	170,57 (130,46–212,60)	12,82 (11,55–18,72)
	(2) Наявні (n = 49)	314,52 (293,68–326,61)	201,14 (167,09–217,72)	11,16 (9,14–13,13)
	(3) Помірні порушення сну (n = 24)	316,87 (301,10–328,63)	205,73 (169,20–217,49)	11,14 (9,54–15,02)
	(4) Виражені порушення сну (n = 25)	311,16 (278,23–317,88)	197,07 (161,23–217,76)	11,16 (8,31–12,11)
	p <sup>1-2</sup>	0,821	0,177	0,014
	p <sup>1-3</sup>	0,656	0,158	0,073
	p <sup>1-4</sup>	0,980	0,331	0,011
	p <sup>3-4</sup>	0,234	0,624	0,352
Тривожність	Відсутня (n = 31)	310,48 (282,93–330,65)	210,51 (190,14–224,39)	10,27 (8,75–13,13)
	Помірна (n = 31)	314,52 (278,23–324,59)	173,26 (140,24–206,59)	12,08 (10,72–17,64)
	p	0,789	0,003	0,021
Апатія	Відсутня (n = 38)	311,83 (279,57–330,65)	203,31 (161,23–217,25)	11,87 (9,58–16,99)
	Наявна (n = 29)	314,52 (297,72–321,91)	184,77 (145,55–217,76)	11,32 (8,75–14,31)
	p	0,909	0,737	0,414
Стресостійкість	Висока/нормальна (n = 39)	303,76 (278,23–330,65)	201,14 (145,27–222,12)	11,89 (9,50–16,99)
	Знижена (n = 28)	316,87 (298,39–327,29)	195,72 (163,25–212,71)	11,23 (8,53–12,78)
	p	0,409	0,854	0,172
Депресивні розлади	(1) Відсутні (n = 16)	306,45 (280,24–333,67)	180,73 (141,99–216,49)	10,91 (8,46–16,14)
	(2) Помірні зміни в настрої та погранична клінічна депресія (n = 30)	304,77 (282,93–326,61)	203,31 (167,09–214,91)	11,77 (9,22–13,29)
	(3) Помірна та важка депресія (n = 21)	316,53 (299,06–325,94)	197,07 (149,02–217,76)	12,06 (10,16–14,31)
	p <sup>1-2</sup>	0,871	0,454	0,827
	p <sup>1-3</sup>	0,491	0,796	0,826
	p <sup>2-3</sup>	0,581	0,818	0,679

відрізнявся від показника у групі пацієнтів із помірними порушеннями сну, а концентрація 3-НТ в останніх не мала суттєвих відмінностей від показника хворих із вираженими порушеннями сну (табл. 2).

## Обговорення

Продовжуються дослідження стану антиоксидантної системи, активності компонентів оксидативного стресу та їхнього виявлення у крові пацієнтів із ХП [12]. Відомості щодо концентрацій маркерів оксидативного стресу у плазмі крові пацієнтів із ХП, опубліковані в останні роки, суперечливі.

Ми отримали статистично вірогідну різницю за активністю антиоксидантного ферменту ГПО у плазмі крові 67 пацієнтів із I–II стадіями ХП і 20 осіб групи контролю в бік зменшення концентрації маркера в пацієнтів із ХП. Аналогічні результати отримали Yongsheng Yuan et al., які встановили дещо зменшений вміст ГПО у плазмі крові 64 пацієнтів із ХП щодо показника групи контролю (40 здорових осіб) [13].

Опубліковані результати досліджень щодо вмісту ГПО у плазмі крові пацієнтів з іншими хронічними захворюваннями (серцево-судинної системи, онкологічні тощо), які показали і збільшення, і зменшення (або відсутність вірогідної різниці за цим показником у пацієнтів і здорових осіб) концентрації антиоксидантного ферменту [14], а також дослідження ГПО в сироватці, інших елементах крові та біологічних рідинах пацієнтів із ХП з аналогічними результатами [15,16]. Цікавим є дослідження С. Vida et al., в якому автори пов'язують

зменшення кількості ГПО в усіх клітинах крові пацієнтів із ХП із підвищеним «імунистим старінням» у хворих із II стадією, що якось може пояснити вірогідне зменшення концентрації ГПО у плазмі крові наших пацієнтів із II стадією ХП [17].

В актуальних загальнодоступних джерелах немає інформації щодо досліджень концентрацій ГПО в пацієнтів із I–II стадіями ХП, які мають когнітивні порушення, але в аналогічній групі хворих на хронічну ішемію мозку вона також вірогідно знижена [18]. Отже, перспективним може бути дослідження змін показників ГПО у плазмі крові пацієнтів із I–II стадіями ХП після курсу нейропротективної та антиоксидантної терапії на тлі базисного лікування ХП.

Активність іншого антиоксидантного ферменту – ГТ, яка виявилася вірогідно меншою в хворих із I–II стадіями ХП із тривожністю, досліджена й у пацієнтів із тривожністю з іншими захворюваннями. Генетичний поліморфізм ГТ асоціювався з тривожністю та змінами настрою в пацієнтів із нікотиновою залежністю [22]. Порівнюючи еритроцитарну активність ГТ у вагітних із низьким і середнім/високим рівнем тривожності, статистично вірогідну різницю не встановили [23].

У контексті виявлення нами незначного, але статистично вірогідного зниження концентрації 3-НТ при порушеннях сну знайшли тільки кілька повідомлень [19,20,21] із протилежними результатами, але стосувалися вони виявлення 3-НТ у пацієнтів з обструктивним апное під час сну. Отже, дослідження з цього питання потрібно продовжувати.

За результатами нашого дослідження можна припустити: розвиток ХП супроводжується тенденцією до підвищення антиоксидантної активності ГТ і зниження показників нітрозувального стресу у плазмі пацієнтів. Крім того, виявлена тенденція до послаблення нітрозувального стресу в пацієнтів із ХП; можливо, це свідчить, що цей вид метаболічного стресу не відіграє провідної ролі в патогенезі захворювання.

## Висновки

1. Активність антиоксидантного ферменту глутатіонпероксидази вірогідно знижена в пацієнтів із хворобою Паркінсона на ранніх стадіях порівняно з показниками групи контролю, а також у пацієнтів із II стадією захворювання щодо хворих із I стадією. Цей показник вірогідно зменшувався, якщо в пацієнтів із ХП були когнітивні розлади.

2. У хворих із помірною тривожністю встановили підвищення концентрації 3-нітротирозину та зниження активності глутатіонтрансферази у плазмі крові на ранніх стадіях хвороби Паркінсона.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні динаміки активності глутатіонпероксидази після нейропротективної терапії на тлі базисного протипаркінсонічного лікування пацієнтів із ранніми стадіями хвороби Паркінсона.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Оптимізація діагностики та лікувальної тактики у пацієнтів з хворобою Паркінсона», № держреєстрації 0119U100453.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 07.06.2021

Після доопрацювання / Revised: 06.07.2021

Прийнято до друку / Accepted: 09.07.2021

## Відомості про авторів:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-4296-0902](https://orcid.org/0000-0002-4296-0902)

Бірюк В. В., очна аспірантка каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8826-1536](https://orcid.org/0000-0001-8826-1536)

Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Demchenko A. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. Biriuk V. V., MD, PhD-student of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бирюк В. В., очный аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Абрамов А. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии с курсом нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] Oxidative stress in vagal neurons promotes parkinsonian pathology and intercellular  $\alpha$ -synuclein transfer / R. E. Musgrove, M. Helwig, E. J. Bae et al. *The Journal of clinical investigation*. 2019. Vol. 129, Iss. 9. P. 3738-3753. <https://doi.org/10.1172/JCI127330>
- [2] Quality of life and self-care in patients with Parkinson in a regional hospital: descriptive study / I. Llagostera-Reverter, M. López-Alemany, R. Sanz-Fomer et al. *Enfermería Global*. 2019. No. 53. P. 360-372. <http://dx.doi.org/10.6018/eglobal.18.1.294561>
- [3] Zahoor I., Shafi A., Haq E. Pharmacological Treatment of Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. 2018. P. 129-144. <https://doi.org/10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch7>
- [4] Oxidative Stress and Parkinson's Disease: Effects on Environmental Toxicology / G. G. Ortiz, F. P. Pacheco-Moisés, M. A. Mireles-Ramírez et al. *Free Radicals and Diseases*. 2016. <https://doi.org/10.5772/63794>
- [5] Astrocytic Oxidative/Nitrosative Stress Contributes to Parkinson's Disease Pathogenesis: The Dual Role of Reactive Astrocytes / A. Rizor, E. Pajarillo, J. Johnson et al. *Antioxidants*. Vol. 8, Iss. 8. P. 265. <https://doi.org/10.3390/antiox8080265>
- [6] Oxidative Stress and Parkinson's Disease: Effects on Environmental Toxicology / J. Blesa, I. Trigo-Damas, A. Quiroga-Varela, V. R. Jackson-Lewis. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2015. Vol. 9. P. 1-91. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00091>
- [7] Hermanowicz N., Jones S. A., Hauser R. A. Impact of non-motor symptoms in Parkinson's disease: a PMDAI Alliance survey. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2019. Vol. 15. P. 2205-2212. <https://doi.org/10.2147/ndt.s213917>
- [8] Ragab O. A., Elheneedy Y. A., Bahnsay W. S. Non-motor symptoms in newly diagnosed Parkinson's disease patients. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2019. Vol. 55. P. 1-7. <https://doi.org/10.1186/s41983-019-0070-2>
- [9] Motor and Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease: Antagonistic Pleiotropy Phenomena Derived from  $\alpha$ -Synuclein Evolvability? / Y. Takamatsu, M. Fujita, G. Ho et al. *Parkinson's Disease*. 2018. Vol. 2018. P. 5789424. <https://doi.org/10.1155/2018/5789424>
- [10] Plasma  $\alpha$ -synuclein predicts cognitive decline in Parkinson's disease / C. H. Lin, S. Y. Yang, H. E. Horng et al. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2017. Vol. 88, Iss. 10. P. 818-824. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-314857>
- [11] Genomic DNA levels of mutant alpha-synuclein correlate with non-motor symptoms in an A53T Parkinson's disease mouse model / W. Wang, N. Song, F. Jia et al. *Neurochemistry international*. 2018. Vol. 114. P. 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.01.006>
- [12] Demchenko A. V., Biriuk V. V. A modern view on potential biomarkers of Parkinson's disease (review). *Патологія*. 2020. T. 17, № 2. P. 241-247. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212810>
- [13] Plasma antioxidant status and motor features in de novo Chinese Parkinson's disease patients / Y. Yuan, Q. Tong, L. Zhang et al. *The International journal of neuroscience*. 2015. Vol. 126, Iss. 7. P. 641-646. <https://doi.org/10.3109/00207454.2015.1054031>
- [14] Sarıkaya E., Doğan S. Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease* / M. D. Bagatini. IntechOpen. 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91009>
- [15] Serum glutathione peroxidase, xanthine oxidase, and superoxide dismutase activities and malondialdehyde levels in patients with Parkinson's disease / B. Gökçe Çokal, M. Yurttaş, S. Keskin Güler et al. *Neurological sciences*. 2016. Vol. 38, Iss. 3. P. 425-431. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2782-8>
- [16] Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis / Z. Wei, X. Li, X. Li et al. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2018. Vol. 11. P. 236. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00236>
- [17] Lymphoproliferation Impairment and Oxidative Stress in Blood Cells from Early Parkinson's Disease Patients / C. Vida, H. Kobayashi, A. Garrido et al. *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20, Iss. 3. P. 771. <https://doi.org/10.3390/ijms20030771>

- [18] Демченко А. В., Беленічев І. Ф., Боброва В. І. Фармакологічна корекція стану системи глутатіону крові хворих на хронічну ішемію мозку. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 6. С. 89-96.
- [19] Circulating free nitrotyrosine in obstructive sleep apnea / A. Svatikova, R. Wolk, H. Wang et al. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2004. Vol. 287, Iss. 2. P. R284-R287. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00241.2004>
- [20] Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea / S. Jelic, M. Padeletti, S. Kawut et al. *Circulation*. 2008. Vol. 117, Iss. 17. P. 2270-2278. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.107.741512>
- [21] Serum nitrotyrosine and nitric oxide measurements in obstructive sleep apnea syndrome / E. Cakmak, S. Yardim-Akaydin, E. Caliskan-Can et al. *Oxidation Communications*. 2015. Vol. 38, Iss. 4A. P. 2064-2075.
- [22] Genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases are associated with anxiety and mood disorders in nicotine dependence / S. Odebrecht Vargas Nunes, M. R. Pizzo de Castro, M. A. Ehara Watanabe et al. *Psychiatric genetics*. 2014. Vol. 24, Iss. 3. P. 87-93. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000023>
- [23] Сюсюка В. Г. Клініко-патогенетичні аспекти акушерських і перинатальних ускладнень у жінок з урахуванням психоемоційного стану та їх медико-психологічна корекція : дис. .... д-ра мед. наук : 14.01.01 / Сюсюка Володимир Григорович – Запоріжжя, 2018. 395 с.
- [14] Sarıkaya, E., & Doğan, S. (2020). Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. In M. D. Bagatini, *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91009>
- [15] Gökçe Çokal, B., Yurtdaş, M., Keskin Güler, S., Güneş, H. N., Ataç Uçar, C., Aytaç, B., Durak, Z. E., Yoldaş, T. K., Durak, İ., & Çubukçu, H. C. (2017). Serum glutathione peroxidase, xanthine oxidase, and superoxide dismutase activities and malondialdehyde levels in patients with Parkinson's disease. *Neurological sciences*, 38(3), 425-431. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2782-8>
- [16] Wei, Z., Li, X., Li, X., Liu, Q., & Cheng, Y. (2018). Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 236. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00236>
- [17] Vida, C., Kobayashi, H., Garrido, A., Martínez de Toda, I., Carro, E., Molina, J., & De la Fuente, M. (2019). Lymphoproliferation Impairment and Oxidative Stress in Blood Cells from Early Parkinson's Disease Patients. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 771. <https://doi.org/10.3390/ijms20030771>
- [18] Demchenko, A. V., Belenichev, I. F., & Bobrova, V. I. (2016). Farmakolo-hichna korektsiia stanu systemy hlutatioonu krovi khvorykh na khronichnu ishemiuu mozku [Pharmacological correction of glutathione system state in the patients with chronic cerebral ischemia]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (6), 89-96. [in Ukrainian].
- [19] Svatikova, A., Wolk, R., Wang, H. H., Otto, M. E., Bybee, K. A., Singh, R. J., & Somers, V. K. (2004). Circulating free nitrotyrosine in obstructive sleep apnea. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 287(2), R284-R287. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00241.2004>
- [20] Jelic, S., Padeletti, M., Kawut, S. M., Higgins, C., Canfield, S. M., Onat, D., Colombo, P. C., Basner, R. C., Factor, P., & LeJemtel, T. H. (2008). Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation*, 117(17), 2270-2278. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.741512>
- [21] Cakmak, E., Yardim-Akaydin, S., Caliskan-Can, E., Firat, H., & Ardic, S. (2015). Serum nitrotyrosine and nitric oxide measurements in obstructive sleep apnea syndrome. *Oxidation Communications*, 38(4A), 2064-2075.
- [22] Odebrecht Vargas Nunes, S., Pizzo de Castro, M. R., Ehara Watanabe, M. A., Losi Guembarovski, R., Odebrecht Vargas, H., Reiche, E. M., Kaminami Morimoto, H., Dodd, S., & Berk, M. (2014). Genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases are associated with anxiety and mood disorders in nicotine dependence. *Psychiatric genetics*, 24(3), 87-93. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000023>
- [23] Syusyuka, V. G. (2018). *Kliniko-patohenetichni aspekty akusherskykh i perynatalnykh uskladnen u zhinkoz z urakhuvanniam psykhoemo-tsiinoho stanu ta yikh medyko-psykholohichna korektsiia* [Clinical and pathogenetic aspects of obstetric and perinatal complications in women with regard to psycho-emotional state and their medical and psychological correction (Doctoral dissertation)]. Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia. [in Ukrainian].

## References

# Взаємозв'язок рівня монооксиду азоту з активністю фіброгенного цитокіну TGF-β1 та їхня роль у діагностиці розвитку незворотних морфофункціональних змін бронхів у підлітків, які курять

С. І. Ільченко<sup>id</sup>\*<sup>A,E,F</sup>, А. О. Фіалковська<sup>id</sup><sup>B,C,D</sup>, К. В. Скрябіна<sup>id</sup><sup>B,C</sup>

Дніпровський державний медичний університет, Україна

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

**Мета роботи** – вивчити взаємозв'язок рівня монооксиду азоту в конденсаті повітря, що видихається (FeNO), з активністю фіброгенного цитокіну TGF-β1 у сироватці крові та брашбіоптатах слизової оболонки бронхів для визначення їхньої ролі в розвитку незворотних морфофункціональних змін у підлітків, які курять.

**Матеріали та методи.** Обстежили 20 підлітків-курців із діагнозом хронічний бронхіт (ХБ), середній вік – 17,5 ± 0,2 року. Група порівняння – 37 підлітків, які курять, без респіраторних симптомів (середній вік – 15,9 ± 0,2 року) і 15 здорових осіб, які не курять (середній вік – 15,9 ± 0,4 року). У підлітків-курців оцінювали статус тютюнокуріння. Для підтвердження активного тютюнокуріння визначали метаболіт нікотину котинін у сечі. Інструментальні методи дослідження включали спірометрію, рентгенографію органів грудної порожнини, фібротрахеобронхоскопію. Концентрацію FeNO вимірювали за допомогою апарата Niox Mino. Рівень TGF-β1 визначали в сироватці крові та брашбіоптатах слизової оболонки бронхів, отриманих під час ендоскопічного дослідження.

**Результати.** Рівень FeNO вірогідно нижчий у підлітків-курців із ХБ порівняно з асимптомними підлітками (6,1 ± 0,3 ppb проти 8,8 ± 0,6 ppb, p < 0,05). Визначили взаємозв'язок між рівнем FeNO та показниками статусу тютюнокуріння у хворих на ХБ й асимптомних курців. Виявили вірогідне збільшення рівня TGF-β1 у сироватці крові хворих на ХБ порівняно з асимптомними курцями (478,7 ± 57,9 пг/мл проти 231,5 ± 23,5 пг/мл, p < 0,05). У підлітків, які курять, встановили взаємозв'язок між рівнем FeNO та підвищеною активністю фіброгенного цитокіну TGF-β (r = -0,63; p < 0,05). У третини хворих у бронхіальному ендотелії ідентифікували фактор TGF-β1. Його наявність у бронхіальному ендотелії – важливий прогностичний критерій ризику розвитку «неадекватного» пневмофіброзу, що може призводити до незворотних ремоделювальних процесів у бронхах.

**Висновки.** Визначення рівня FeNO та TGF-β1 у сироватці крові підлітків-курців має вірогідне діагностичне значення для встановлення групи ризику щодо розвитку незворотних морфофункціональних змін у бронхах, а також може сприяти підвищенню ефективності ранньої діагностики хронічної патології органів дихання.

**Ключові слова:** монооксид азоту в конденсаті повітря, що видихається (FeNO), фіброгенний цитокін TGF-β1, підлітки, які курять.

**Патологія.** 2021.  
Т. 18, № 2(52).  
С. 189-195

\*E-mail:  
ilchensv@gmail.com

## Relationship between nitric oxide levels and the activity of fibrogenic cytokine TGF-β1 and their role in diagnostics of the development of irreversible morphofunctional changes in bronchi of smoking adolescents

S. I. Ilchenko, A. O. Fialkovska, K. V. Skriabina

**The aim** is to study the relationship between the level of exhaled nitric oxide (FeNO) and the activity of the fibrogenic cytokine TGF-β1 in blood serum and brush biopsy samples of bronchial mucosa in order to determine their role in the development of irreversible morphological and functional changes in smoking adolescents.

**Materials and methods.** 20 adolescent smokers with chronic bronchitis (CB) (average age – 17.5 ± 0.2 years) were examined. The comparison group consisted of 37 adolescent smokers without respiratory symptoms (average age – 15.9 ± 0.2 years) and 15 healthy adolescents, who never smoked (average age – 15.9 ± 0.4 years). In adolescent smokers the tobacco smoking status was assessed. To confirm active smoking, the nicotine metabolite cotinine was determined in urine. Instrumental methods included spirometry, chest X-ray, tracheobronchoscopy. The FeNO level was measured using a Niox Mino. TGF-β1 level was determined in the blood serum and brush biopsy samples of the bronchial mucosa.

**Results.** The FeNO levels were significantly lower in adolescent smokers with CB in comparison with adolescent smokers without respiratory symptoms (6.1 ± 0.3 ppb versus 8.8 ± 0.6 ppb, P < 0.05). The relationship between the FeNO levels and indicators of the tobacco smoking status has been established in patients with CB and in asymptomatic smokers. There was a significant increase in the TGF-β1 levels in the blood serum in patients with CB compared with asymptomatic smokers (478.7 ± 57.9 pg/ml versus 231.5 ± 23.5 pg/ml, P < 0.05). In smoking adolescents a relationship between a FeNO level and an increased activity of the fibrogenic cytokine TGF-β (r = -0.63; P < 0.05) has been established. In one third of patients the TGF-β1 factor was identified in the bronchial endothelium. The presence of this factor in the bronchial endothelium is a serious prognostic criterion for the risk of developing “inadequate” pneumofibrosis, which can lead to irreversible remodeling processes in the bronchi.

**Conclusions.** Determination of FeNO levels and TGF-β1 in the blood serum in smoking adolescents has a reliable diagnostic value for determining the risk group for the development of irreversible morphological and functional changes in the bronchi and can improve the efficiency of early diagnosis of chronic respiratory pathology.

**Key words:** exhaled nitric oxide (FeNO), TGF-β1, adolescent, smokers.

**Pathologia**  
2021; 18 (2), 189-195

**Ключевые слова:** монооксид азота в конденсате выдыхаемого воздуха (FeNO), фиброгенный цитокин TGF-β1, подростки, которые курят.

**Патология. 2021.**  
**Т. 18, № 2(52).**  
**С. 189-195**

## Взаимосвязь уровня монооксида азота с активностью фиброгенного цитокина TGF-β1 и их роль в диагностике развития необратимых морфофункциональных изменений бронхов у курящих подростков

С. И. Ильченко, А. А. Фиалковская, Е. В. Скрыбина

**Цель работы** – изучить взаимосвязь уровня оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха (FeNO) с активностью фиброгенного цитокина TGF-β1 в сыворотке крови и брашбиоптатах слизистой оболочки бронхов для определения их роли в развитии необратимых морфофункциональных изменений у подростков, которые курят.

**Материалы и методы.** Обследовали 20 подростков-курильщиков с диагнозом хронический бронхит (ХБ), средний возраст –  $17,5 \pm 0,2$  года. Группа сравнения – 37 подростков, которые курят, без респираторных симптомов (средний возраст –  $15,9 \pm 0,2$  года) и 15 здоровых подростков, которые не курят (средний возраст –  $15,9 \pm 0,4$  года). У подростков-курильщиков оценивали статус табакокурения. Для подтверждения активного табакокурения определяли метаболит никотина котинин в моче. Инструментальные методы исследования включали спирометрию, рентгенографию органов грудной полости, трахеобронхоскопию. Концентрацию FeNO измеряли с помощью аппарата Niox MinO. Определяли уровень TGF-β1 в сыворотке крови и брашбиоптатах слизистой оболочки бронхов, полученных при эндоскопическом исследовании.

**Результаты.** Уровень FeNO достоверно ниже у курящих подростков с ХБ по сравнению с асимптомными подростками ( $6,1 \pm 0,3$  ppb против  $8,8 \pm 0,6$  ppb,  $p < 0,05$ ). Установлена взаимосвязь между уровнем FeNO и показателями статуса табакокурения у больных ХБ и асимптомных курильщиков. Отмечено достоверное увеличение уровня TGF-β1 в сыворотке крови у больных ХБ по сравнению с асимптомными курильщиками ( $478,7 \pm 57,9$  пг/мл против  $231,5 \pm 23,5$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). У подростков, которые курят, установлена взаимосвязь между уровнем FeNO и повышенной активностью фиброгенного цитокина TGF-β ( $r = -0,63$ ;  $p < 0,05$ ). У трети больных в бронхиальном эндотелии идентифицирован фактор TGF-β1. Его наличие в бронхиальном эндотелии – серьезный прогностический критерий риска развития «неадекватного» пневмофиброза, что может приводить к необратимым ремоделирующим процессам в бронхах.

**Выводы.** Определение уровня FeNO и TGF-β1 в сыворотке крови подростков-курильщиков имеет достоверную диагностическую значимость для определения группы риска по развитию необратимых морфофункциональных изменений в бронхах и может способствовать повышению эффективности ранней диагностики хронической патологии органов дыхания.

Хронічні захворювання органів дихання в дітей і підлітків – найскладніша й найактуальніша проблема дитячої пульмонології у зв'язку з їхньою поширеністю та соціально-економічною значущістю [1].

У структурі хронічних респираторних захворювань у дітей і підлітків одне з перших місць посідає хронічний бронхіт (ХБ) [2]. Провідну роль у патогенезі розвитку цієї патології в підлітковому віці може відігравати тютюнокуріння, оскільки органи дихання підлітків – основна мішень впливу тютюнового диму [3]. Тютюновий дим містить багато вільних радикалів, які в дихальних шляхах порушують рівновагу в системі «оксиданти – антиоксиданти» та зумовлюють розвиток оксидативного та нітрозольного стресу, гостре пошкодження легеневої тканини трансформуються у хронічний запальний процес [4].

Сучасна дитяча пульмонологія прагне своєчасно діагностувати хронічні захворювання органів дихання в дітей різного віку для запобігання їхньому прогресуванню. Цим пояснюється оновлення та розширення арсеналу діагностичних методик для динамічного оцінювання функціонального стану респираторного тракту. В останні роки все більше уваги приділяють вивченню неінвазивних біомаркерів, що дають змогу диференціювати характер ураження дихальних шляхів, оцінювати їхній прогноз, а також ефективність терапії [5].

Вимірювання фракції монооксиду азоту в конденсаті повітря, що видихається (FeNO), – сучасний клініко-діагностичний метод, який поряд з основними методами визначення функціонального стану дихальних шляхів (спірометрією та пікфлоуметрією) оцінює

патофізіологічні процеси, що відбуваються в дихальних шляхах при різних захворюваннях [6]. Головна діагностична цінність рівня FeNO полягає в тому, що він здатний показати наявність і ступінь запалення в дихальних шляхах.

У результаті численних досліджень виявили загальні закономірності зміни рівня FeNO при різних патологічних станах бронхолегеневої системи. Доведено, що монооксид азоту (NO), що продукується в дихальних шляхах запальними клітинами (еозинофілами, нейтрофілами, макрофагами), – один із маркерів еозинофільного запалення дихальних шляхів, який використовують для діагностики та оцінювання ефективності базисної терапії бронхіальної астми [7,8]. Встановили також, що рівень FeNO знижується при легеневій гіпертензії, первинній циліарній дискінезії та муковісцидозі [9]. Отримали суперечливі результати досліджень рівня FeNO в дорослих при хронічному обструктивному захворюванні легень (ХОЗЛ) [10,11]. Але визначили, що тютюнокуріння та важкість перебігу захворювання – найважливіші фактори, що впливають на цей показник.

Є чимало доказів на підтвердження гіпотези про те, що вільні радикали, зокрема NO, відіграють важливу роль у розвитку фіброзу легень, підсилюючи експресію трансформуючого фактору росту β1 (TGF-β1) у легневих фібробластах [12]. TGF-β1 – один із універсальних маркерів, що діє на процеси проліферації фібробластів, синтез компонентів екстрацелюлярного матрикса та кооперацію клітин запалення. TGF-β1 є фіброгенним цитокином, що стимулює зміну структури стінки бронха, його ремоделювання. Ця морфологічна перебудова у стінці бронха призводить до розвитку незворотної

обструкції дихальних шляхів, що лежить в основі патогенезу ХОЗЛ. TGF- $\beta$ 1 відіграє надзвичайно важливу роль у розвитку легеневого фіброзу й потенційованні апоптозу бронхіальних епітеліальних клітин [13].

Отже, дослідження рівнів FeNO та TGF- $\beta$ 1 має чимале практичне значення для діагностики хронічних захворювань органів дихання. Але відомостей про дослідження рівнів FeNO та TGF- $\beta$ 1 у підлітків, які курять, у сучасній науковій літературі майже немає, а ці аспекти важливі для розуміння механізмів впливу тютюнокуріння в молодому віці на процеси формування ХБ і ХОЗЛ.

## Мета роботи

Вивчити взаємозв'язок рівня монооксиду азоту в конденсаті повітря, що видихається, з активністю фіброгенного цитокину TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові та брашбіоптатах слизової оболонки бронхів для визначення їхньої ролі в розвитку незворотних морфофункціональних змін у підлітків, які курять.

## Матеріали і методи дослідження

Під спостереженням перебували 72 підлітки віком 14–18 років. Основна група включала 20 осіб, які курять, із діагнозом хронічний бронхіт (середній вік –  $17,5 \pm 0,2$  року); група порівняння – 37 підлітків, які курять, без респіраторних симптомів (середній вік –  $15,9 \pm 0,2$  року) і 15 здорових осіб, які не курять (середній вік –  $15,9 \pm 0,4$  року).

Критерії залучення в основну групу – вік від 14 до 18 років, діагностований ХБ у періоді ремісії основного захворювання.

Критерії виключення – наявність спадкової або вродженої патології бронхів і легень (бронхіальної астми, муковісцидозу, первинної циліарної дискінезії, дефіциту альфа-1-антитрипсину, вроджених вад розвитку бронхів і легень), діагностована гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, імунодефіцитні стани, вроджені вади серця.

Верифікацію діагнозів рецидивний бронхіт і ХБ виконали на підставі наказу МОЗ України № 18 від 13.01.2005 р. «Про затвердження Протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю «Дитяча пульмонологія» та нової клінічної класифікації бронхітів у дітей, що ухвалена на XIII з'їзді педіатрів і затверджена МОЗ України (2016 р.).

Критерії ХБ – наявність продуктивного кашлю протягом кількох місяців упродовж 2 років, постійні різнокаліберні вологі хрипи в легенях, 2–3 загострення на рік протягом 2 років, збереження у фазі ремісії ознак порушення вентиляції легень (код за МКХ-10 – J41).

У підлітків-курців оцінювали вік початку, стаж куріння, кількість викурених за добу сигарет.

Аналіз статусу тютюнокуріння включав:

– оцінювання тютюнокуріння як фактора ризику розвитку захворювання з розрахунком індексу курця (ІК) за формулою: кількість викурених за добу сигарет  $\times$  12 місяців у році, які підліток курив (ІК  $>140$  – куріння становить ризик щодо розвитку ХОЗЛ; ІК  $>240$  – куріння неминуче призведе до розвитку ХОЗЛ);

– показник «пачка/роки» в осіб, які курили щоденно, обчислювали за формулою: кількість викурених за добу сигарет  $\times$  кількість років паління / 20;

Для підтвердження активного тютюнокуріння визначали метаболіт нікотину котинін у ранковій сечі за допомогою тест-смужок «КреативМП-котинин» (ТОВ «Производственные Био-Медицинские Технологии», Москва, РФ). Час аналізу – 5 хв, чутливість визначення (мінімальна концентрація) становить 200 нг/мл котиніну.

Інструментальні методи дослідження включали спірометрію, рентгенографію органів грудної порожнини, фібротрахеобронхоскопію (ФТБС).

Спірометричні вимірювання здійснили на сучасному спірографі MicroLab 3500 MK8 (Велика Британія) за загальноприйнятою методикою з визначенням швидкісних та об'ємних показників. Для оцінювання зворотності бронхіальної обструкції здійснювали фармакологічну пробу з сальбутамолом згідно з чинними рекомендаціями.

Рентгенографію органів грудної порожнини виконали на рентген-апараті OPERA RT20 (Італія) за стандартною методикою. Для ФТБС використовували фібробронхоскоп фірми Olympus, модель BF type MP 60 (Японія). Концентрацію FeNO визначали за допомогою апарата Niox Mino (Aerocrine, Швеція).

Матеріал для імуноцитологічного дослідження – брашбіопсії, отримані під час ендоскопічного дослідження шляхом відбитку від слизової оболонки бронхів підлітків із ХБ у періоді клінічної ремісії. Як первинні використовували моноклональні антитіла до  $\beta$ -фракції TGF (регуляторний поліпептид  $\beta$ -тип рецепторів, ліофілізат NCL-TGF- $\beta$ , фірма Novocastra). Інкубацію здійснили в камерах за температури 23–25 °C протягом 30 хвилин. Титр антитіл добирали індивідуально для кожного маркера згідно з вимогами специфікації. Антитіла розводили за допомогою спеціального розчину (antibody diluent) у співвідношенні 1:350. Після первинних антитіл – інкубація в камері до 30 хвилин, а потім промивання в буферному розчині. Ідентифікацію реакції виконали з нанесенням хромогена DAB (діамінобензидину) під контролем мікроскопа від 20 секунд до 3 хвилин. Продукт реакції мав коричневий колір із розташуванням мітки в ядрі або на мембрані. Антигенні детермінанти  $\beta$ -TGF локалізувались на мембрані, субмембранно та в цитоплазмі. Для кожного маркера здійснили контрольні дослідження, щоб не отримати псевдопозитивний або псевдонегативний результат. Для диференціації структур тканини матеріал додатково забарвлювали гематоксиліном Маєра протягом 1–3 хвилин. Паралельно аналізували ендоскопічну характеристику бронхів. Рівень сироваткового трансформуючого фактора росту  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) визначали методом імуноферментного аналізу. Використовували тест-систему «DRG TGF- $\beta$ 1 ELISA» (США).

Статистичне опрацювання результатів здійснили, використавши пакет програм Statistica 6.1 (ліцензійний № AGAR909E415822FA). Для кількісних параметрів виконали перевірку на відповідність закону Гауса за критеріями Колмогорова–Смирнова, Ліл्लефорса,



**Таблиця 1.** Характеристика статусу тютюнокуріння в підлітків, які курять, основної групи та групи порівняння, Ме (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	Асимптомні курці (n = 37)	Підлітки з ХБ (n = 20)	p
Вік початку паління, роки	14,0 (13,0; 15,0)	14,0 (12,0; 14,0)	>0,05
Стаж активного тютюнокуріння, роки	2,0 (1,0; 2,0)	4,0 (3,0; 5,5)	<0,05
Кількість викурених за добу сигарет, шт.	7,0 (5,0; 10,0)	10,0 (10,0; 13,5)	<0,05
Індекс курця	84,0 (60,0; 120,0)	120,0 (120,0; 162,0)	<0,05
Показник «пачка/роки»	0,50 (0,25; 1,00)	2,00 (1,50; 3,25)	<0,05

**Таблиця 2.** Порівняння спірометричних показників у підлітків, які курять, основної групи та групи порівняння, M ± m

Показники, одиниці вимірювання	Асимптомні курці (n = 37)	Підлітки з ХБ (n = 20)	p
FEV1, %	100,3 ± 2,3	79,5 ± 2,7	<0,05
FVC, %	106,4 ± 2,3	82,0 ± 3,6	<0,05
FEV1/FVC, %	92,5 ± 1,5	98,1 ± 2,2	<0,05
PEF, %	83,3 ± 2,7	74,8 ± 3,1	<0,05

Шапіро–Вілкі. При нормальному розподілі значень параметрів визначали середнє арифметичне значення (M) і його стандартну похибку (m). Якщо розподіл відрізнявся від нормального, розраховували медіану (Me) й інтерквартильний розмах (25 %; 75 %). Оцінювали значущість відмінностей показників за допомогою критеріїв Стюдента (t) або Манна–Вітні (U). Наявність і щільність взаємозв'язків між параметрами встановлювали за результатами кореляційного аналізу Пірсона (r). Для всіх видів аналізу критичний рівень значущості (p) становив <0,05.

Для оцінювання діагностичної ефективності показників використовували ROC-аналіз із визначенням площі під ROC-кривою (AUC), за результатом визначали якість діагностичної моделі. За допомогою порогового значення розраховували чутливість, специфічність, позитивну та негативну прогностичну цінність. Під час ROC-аналізу показників визначили оптимальні порогові значення для максимальної суми чутливості та специфічності.

Дослідження здійснили з дозволу локальної комісії з питань біомедициної етики відповідно до головних морально-етичних принципів, вимог щодо дотримання прав, інтересів та особистої гідності учасників дослідження, що забезпечені нормативними документами: Гельсінською декларацією, Конвенцією Ради Європи про права людини та біомедицину, Якісною клінічною практикою (ССР), Загальною декларацією про біоетику і права людини ЮНЕСКО, Конституцією України (ст. 3, 21, 24, 28, 32), Основами законодавства України про охорону здоров'я (ст. 43.1, 44.1).

## Результати

Під час аналізу вмісту котиніну в сечі встановили: в підлітків, які курять, наявність цього метаболіту визначена у 100 % випадків. У всіх обстежених, які не курять, котинін-тест негативний.

Аналіз статусу тютюнокуріння в підлітків із груп дослідження (табл. 1) показав, що вік початку тютюнокуріння в них не відрізнявся. Але в пацієнтів із ХБ порівняно з асимптомними курцями вдвічі більший

стаж тютюнокуріння (p < 0,05), за добу вони викурили в 1,4 раза більше сигарет, ніж асимптомні курці (p < 0,05).

Оцінювання ІК і показника «пачка/роки» показало: в підлітків із ХБ ці показники вірогідно вищі, ніж в асимптомних курців (в 1,4 і 4,0 раза відповідно; p < 0,05). Відомо, що в дорослих ІК понад 140 і показник «пачка/роки» понад 10 – вірогідні фактори ризику розвитку ХОЗЛ [14]. У 30,0 % хворих на ХБ ІК перевищував 140, що надалі вказує на край високий ризик розвитку ХОЗЛ.

Результати спірометричного дослідження показали вірогідне зниження в підлітків із ХБ порівняно з асимптомними курцями середніх значень показників FEV1 (на 20,7 %; p < 0,05), FVC (на 22,9 %; p < 0,05), PEF (на 10,2 %; p < 0,05). Аналіз середніх значень показника FEV1 у підлітків із ХБ до та після проби з бронхолітиком не показав наявності вірогідних відмінностей (79,5 ± 2,7 % проти 81,3 ± 3,6 %; p > 0,05), що свідчить про незворотні зміни прохідності бронхів (табл. 2).

Результати дослідження вмісту FeNO показали: в асимптомних курців його рівень вірогідно нижчий порівняно зі здоровими підлітками, які не курять, – 8,8 ± 0,6 ppb проти 12,0 ± 0,2 ppb (p < 0,001) (рис. 1).

У підлітків із ХБ рівні FeNO вірогідно нижчі порівняно з асимптомними курцями – 6,1 ± 0,3 ppb проти 8,8 ± 0,6 ppb (рис. 1).

За допомогою ROC-аналізу визначили оптимальне порогове значення FeNO у підлітків, які курять, для діагностики ХБ – 6 ppb. Отримали такі показники діагностичної цінності: чутливість – 90,0 %, специфічність – 95,0 %, позитивне прогностичне значення – 80,0 %, негативне прогностичне значення – 94,6 %, площа під кривою (AUC) – 0,935 (95 % ДІ 0,864–1,000).

Кореляційний аналіз показав, що рівень FeNO залежить від показників статусу тютюнокуріння у хворих на ХБ та асимптомних курців: від кількості викурених за добу сигарет (r = -0,81, r = -0,72 відповідно; p < 0,01), ІК (r = -0,81, r = -0,72 відповідно; p < 0,01), показника «пачка/роки» (r = -0,85, r = -0,75 відповідно; p < 0,01).

Аналіз середніх показників рівня TGF-β1 у сироватці крові виявив вірогідне його підвищення у хворих на ХБ порівняно з асимптомними курцями (478,7 ± 57,9 пг/мл проти 231,5 ± 23,5 пг/мл; p < 0,05), що може свідчити про активність фіброзних процесів.

Імуноцитохімічний аналіз брашбіопсії слизової оболонки бронхів у підлітків із ХБ виявив виражену плоскоклітинну метоплазію бронхіального епітелію, що є ранньою ознакою ремоделінгу бронхів. У третині хворих у бронхіальному ендотелії ідентифікували фактор TGF-β1 (рис. 2). Його наявність у бронхіальному ендотелії – важливий прогностичний критерій ризику розвитку «неадекватного» фіброзу, що може призводити до незворотних ремоделювальних процесів у бронхах.

Рівень TGF-β1 у крові підлітків, які мали позитивну експресію в ендотелії бронхів, під час імуноцитохімічного аналізу вірогідно вищий, ніж у групі дітей, у котрих цей фактор не ідентифікували (736,0 ±

22,7 пг/мл та  $350,1 \pm 54,1$  пг/мл;  $p < 0,001$ ), а також порівняно з асимптомними курцями ( $231,5 \pm 23,5$  пг/мл,  $p < 0,001$ ).

За допомогою ROC-аналізу визначили оптимальне порогове значення TGF- $\beta$ 1 у крові підлітків, які курять, для діагностики ХБ – 372,9 пг/мл. Отримали такі показники діагностичної цінності: чутливість – 88,9 %, специфічність – 77,8 %, позитивне прогностичне значення – 66,7 %, негативне прогностичне значення – 77,8 %, площа під кривою (AUC) – 0,778 (95 % ДІ 0,610–0,945) (рис. 3).

Кореляційний аналіз показав сильний негативний взаємозв'язок між рівнями TGF- $\beta$ 1 і FeNO ( $r = -0,63$ ;  $p < 0,05$ ).

## Обговорення

Результати дослідження показали: тютюнокуріння впливає на рівень FeNO, вірогідно знижуючи його і в хворих на ХБ, і в респіраторно асимптомних підлітків, які курять. Встановили, що рівень FeNO залежить від показників статусу тютюнокуріння: кількості викурених за добу сигарет, ІК і показника «пачка/роки». Зниження рівня FeNO в респіраторно асимптомних підлітків, які курять, може зумовлюватися наявністю в тютюновому димі високих концентрацій активних форм кисню, що взаємодіють із NO та утворюють  $\text{NO}_3^-$ , зниженням активності NO-синтази за типом зворотного зв'язку через високий уміст оксиду азоту в тютюновому димі, а також безпосереднім токсичним ураженням NO-продукуючих клітин у курців [11]. Встановили, що при одному вдиху тютюнового диму в організм людини потрапляють майже 5000 різних хімічних сполук,  $10^{17}$  молекул вільних радикалів, а також активні форми кисню, що утворюються з NO/ $\text{NO}_2$  при взаємодії з реактивними складниками диму [15]. У хворих на ХБ зниження рівня FeNO, ймовірно, свідчить про виснаження компенсаторних механізмів його продукції.

Як відомо, NO має важливе значення в регуляції функції легень і патофізіології захворювань дихальної системи. NO – унікальна багатофункціональна молекула, що бере участь у формуванні імунного захисту, має прямиї протимікробний вплив, потужну антиоксидантну дію, впливає на диференціацію Т-лімфоцитів, пригнічує продукцію ІНФ- $\gamma$  тощо. У дихальних шляхах NO чинить бронходилатуючу дію, що призводить до помірного розслаблення гладких м'язів здебільшого великих бронхів, впливає на тонус легневих судин, стимулює секрецію муцину та мукоциліарний кліренс. NO регулює механізми апоптозу, що відіграє важливу роль у процесі саногенезу інфекційних захворювань респіраторного тракту [10, 15]. Спектр біологічної дії NO залежить від його концентрації. У здорових людей рівень FeNO коливається від 10 ppb до 20 ppb, якщо дотримані стандарти його вимірювання, рекомендовані Американським торакальним товариством (ATS) [16].

Оскільки NO відіграє важливу роль у механізмах биття війок, гальмування його ендогенного утворення в респіраторному тракті спричиняє порушення мукоциліарного кліренсу, розвиток мукоциліарної недостатності, виникнення мукостазу, місцевого

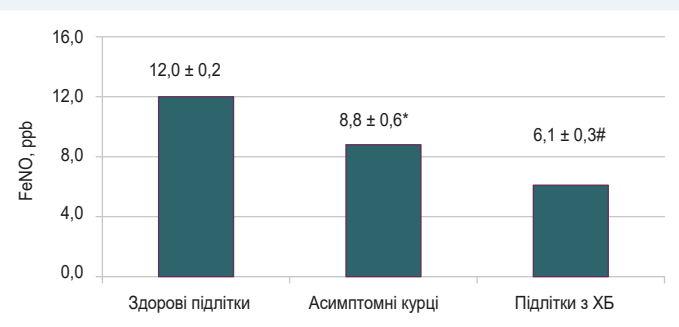


Рис. 1. Рівні FeNO (ppb) у підлітків основної групи та групи порівняння.

\*: вірогідність різниці показників здорових підлітків та асимптомних курців; #: вірогідність різниці показників асимптомних курців і підлітків із ХБ.

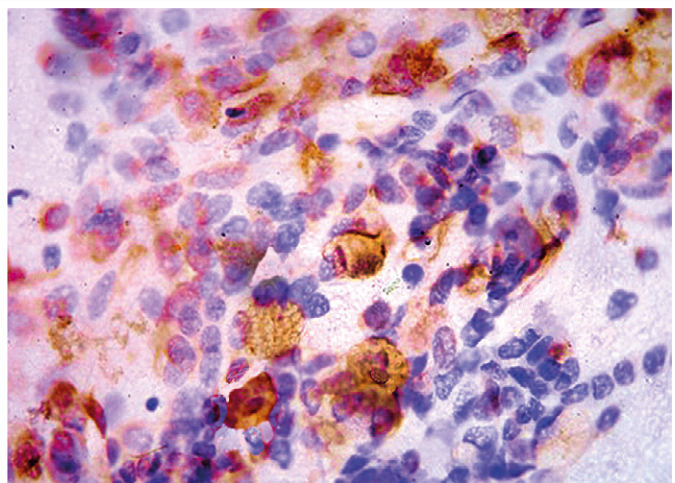


Рис. 2. Виражена позитивна мембранна та цитоплазматична реакція епітеліальних клітин бронхів із TGF- $\beta$ 1. Імуноцитологічний метод, ліофілізат NCL-TGF- $\beta$  (NovoCastra), візуалізація DAB. 36.:  $\times 1000$ .

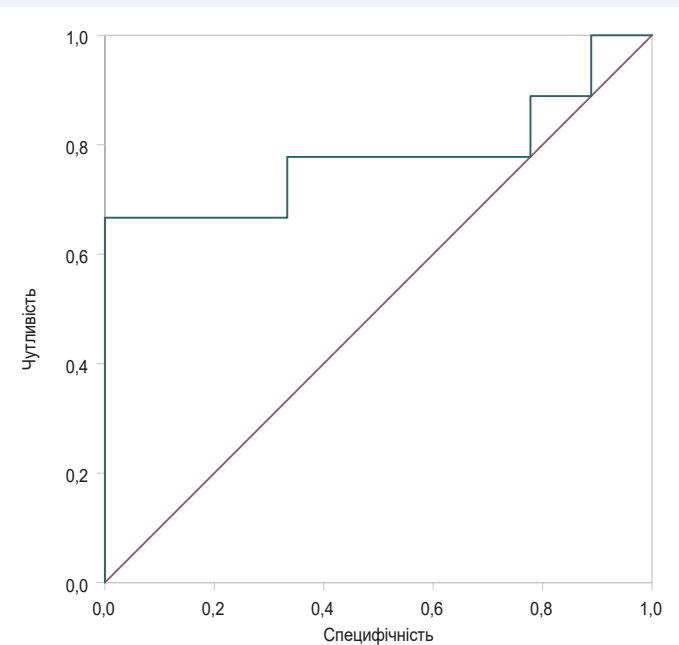


Рис. 3. ROC-крива тесту прогнозування незворотних морфофункціональних змін бронхів у підлітків-курців за рівнем TGF- $\beta$ 1 у крові.

імунодефіциту, створюючи умови для розвитку хронічної інфекції дихальних шляхів і фіксації запалення. Хронічний запальний процес респіраторного тракту супроводжується збільшенням продукції NG, NG-диметил-L-аргініну (ADMA), який є природним інгібітором NO-синтаз. Підвищення генерації ADMA призводить до зменшення вироблення NO та збільшення продукції пероксинітриту, що є біологічним маркером нейтрофільного запалення. Надлишок ADMA та зниження рівня NO індуюють синтез колагену в респіраторному тракті, зумовлюють ремоделювання бронхіальних стінок [15].

Вільні радикали, як-от NO, відіграють важливу роль у розвитку фіброзу легенів, підсилюючи експресію TGF- $\beta$ 1 у легневих фібробластах [12]. Noguchi S. et al. експериментально встановили: в мишей, які позбавлені NO-синтаз, рівень експресії IL-6, IL-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 і колагену I типу істотно вищий, ніж у мишей дикого типу, а рівень експресії антифіброзного цитокіну IFN- $\gamma$  суттєво нижчий. Отже, ступінь запальних і фіброзних змін у них також більший, ніж у тварин дикого типу [17].

Як показало наше дослідження, низькі рівні FeNO корелювали з вищими рівнями TGF- $\beta$ 1 ( $r = -0,93$ ;  $p < 0,05$ ). Визначили, що у хворих на ХБ середні показники рівня TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові вірогідно вищі порівняно з асимптомними курцями. У третини хворих на ХБ у бронхіальному ендотелії ідентифікували фактор TGF- $\beta$ 1, який є ознакою незворотних ремоделювальних процесів у бронхах. Підвищення рівня трансформувального фактора росту в сироватці крові підлітків із ХБ має вірогідне діагностичне значення для визначення групи ризику щодо розвитку незворотних морфофункціональних змін у легенях.

Отже, результати дослідження підтверджують діагностичну значущість FeNO і TGF- $\beta$ 1 у підлітків, які курять. Визначення рівня FeNO в комплексі з основними методами оцінювання функціонального стану дихальних шляхів може сприяти підвищенню ефективності ранньої діагностики хронічної патології органів дихання в дітей і підлітків.

## Висновки

1. Рівень монооксиду азоту в конденсаті повітря, що видихається, вірогідно ( $p < 0,05$ ) нижчий у підлітків-курців із хронічним бронхітом. Імовірно, це свідчить про виснаження компенсаторних механізмів його продукції. Виявили взаємозв'язок між рівнем FeNO та показниками статусу тютюнокуріння у хворих на ХБ та асимптомних курців.

2. Визначили вірогідне збільшення рівня TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові хворих на ХБ порівняно з асимптомними курцями ( $484,9 \pm 80,4$  пг/мл проти  $225,3 \pm 35,8$  пг/мл;  $p < 0,05$ ), що може свідчити про активність фіброзних процесів.

3. У третини хворих на ХБ у бронхіальному ендотелії ідентифікували фактор TGF- $\beta$ 1 у результаті імуногістохімічних досліджень брашбіопатів. Рівень TGF- $\beta$  у крові цих підлітків вірогідно вищий, ніж у групі хворих, в яких цей фактор не виявили ( $736,0 \pm 37,3$  пг/мл проти  $359,4 \pm 74,5$  пг/мл;  $p < 0,05$ ).

4. У групі підлітків-курців визначили взаємозв'язок між низьким рівнем монооксиду азоту в конденсаті повітря, що видихається, та підвищеною активністю фіброгенного цитокіну TGF- $\beta$  ( $r = -0,63$ ;  $p < 0,05$ ).

5. Визначення рівня FeNO та TGF- $\beta$ 1 у сироватці крові підлітків, які курять, має вірогідне діагностичне значення для встановлення групи ризику щодо розвитку незворотних морфофункціональних змін у бронхах, а також може сприяти підвищенню ефективності ранньої діагностики хронічної патології органів дихання.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у розробленні індивідуальних профілактичних програм для пацієнтів із високим ризиком хронічної бронхолегеневої патології.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Дніпровського державного медичного університету «Бронхіти у дітей з коморбідними станами: клінічний перебіг та їх сучасна етіологія», № держреєстрації 01.16U004962.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 22.02.2021

Після доопрацювання / Revised: 24.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 05.07.2021

## Відомості про авторів:

Ільченко С. І., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8052-8678](https://orcid.org/0000-0002-8052-8678)

Фіалковська А. О., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6004-8418](https://orcid.org/0000-0001-6004-8418)

Скрябіна К. В., асистент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9792-6269](https://orcid.org/0000-0002-9792-6269)

## Information about authors:

Ilchenko S. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Fialkovska A. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Skryabina K. V., Assistant of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Ильченко С. И., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики детских болезней, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.

Фиалковская А. А., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики детских болезней, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.

Скрябина Е. В., канд. мед. наук, ассистент каф. пропедевтики детских болезней, Днепропетровский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] Динаміка захворюваності та поширеності бронхолегеневої патології у дітей / Ю. Г. Антіпкін, Н. Г. Чумаченко, В. Ф. Лапшин, Т. Р. Уманець. *Современная педиатрия*. 2016. № 2. С. 73-76. <https://doi.org/10.15574/SP.2016.74.73>

- [2] Ільченко С. І., Фіалковська А. О. Діагноз «хронічний бронхіт» в дитячій пульмонології: «за» та «проти». *Український пульмонологічний журнал*. 2018. № 4. С. 32-34.
- [3] Ільченко С. І., Фіалковська А. О. Прогнозування ризику розвитку хронічного бронхіту у підлітків-курців. *Здоров'я ребенка*. 2017. № 4. С. 29-33. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.12.4.2017.107624>
- [4] Fischer B. M., Voynow J. A., Ghio A. J. COPD: balancing oxidants and antioxidants. *International Journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2015. Vol. 10. P. 261-276. <https://doi.org/10.2147/COPD.S42414>
- [5] Цыпленкова С. Э., Мизерницкий Ю. Л. Современные возможности функциональной диагностики внешнего дыхания у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2015. Т. 60, № 5. С. 14-20.
- [6] Рогачиков А. И., Шаханов А. В., Урясьев О. М. Выдыхаемый оксид азота как дополнительный диагностический инструмент в амбулаторной практике. *Земский врач*. 2015. № 1. С. 32-36.
- [7] Чучалин А. Г. Роль оксида азота в современной клинической практике: научный доклад на V Всероссийском конгрессе «Легочная гипертензия» (13 декабря 2017 г.). *Пульмонология*. 2018. Т. 28, № 4. С. 503-511. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-4-503-511>
- [8] Turner S. W., Chang A. B., Yang I. A. Clinical utility of exhaled nitric oxide fraction in the management of asthma and COPD. *Breathe*. 2019. Vol. 15, Iss. 4. P. 306-316. <https://doi.org/10.1183/20734735.0268-2019>
- [9] Цыпленкова С. Э., Мизерницкий Ю. Л. Клиническое значение фракционного определения оксида азота в выдыхаемом воздухе как инструмента диагностики и оценки эффективности лечения хронических заболеваний органов дыхания у детей. *Пермский медицинский журнал*. 2014. Т. 31, № 2. С. 56-61.
- [10] Роль оксида азота в патофизиологии и лечении хронической обструктивной болезни легких / О. Ю. Кыткова Т. А. Гвозденко, М. В. Антонок, Т. П. Новгородцева. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2019. Т. 1, № 71. С. 105-111. [https://doi.org/10.12737/article\\_5c89ab4f8523c5.66345570](https://doi.org/10.12737/article_5c89ab4f8523c5.66345570)
- [11] Соодаева С. К., Климанов И. А., Никитина Л. Ю. Нитрозивный и оксидативный стресс при заболеваниях органов дыхания. *Пульмонология*. 2017. Т. 27, № 2. С. 262-273. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-262-273>
- [12] Extended Exhaled Nitric Oxide Analysis in Interstitial Lung Diseases: A Systematic Review / P. Cameli, E. Bargagli, L. Bergantini et al. *International Journal of Molecular Science*. 2020. Vol. 21, Iss. 17. P. 6187. <https://doi.org/10.3390/ijms21176187>
- [13] Transforming Growth Factor- $\beta$  Superfamily in Obstructive Lung Diseases. More Suspects Than TGF- $\beta$  Alone / F. M. Verhamme, K. R. Bracke, G. F. Joos, G. G. Brusselle. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2015. Vol. 52, Iss. 6. P. 653-662. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2014-0282RT>
- [14] Ільченко С. І., Фіалковська А. О. Персоніфікований підхід до профілактики тютюнокуріння у підлітків. *ScienceRise: Medical Science*. 2018. № 1(21). С. 35-38. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2018.121691>
- [15] Абатуров А. Е., Волосовец А. П., Юлиш Е. И. Роль прооксидантной и антиоксидантной систем при воспалительных заболеваниях органов дыхания: монография. Харьков: Планета-Принт, 2013. 496 с.
- [16] ATS/ERS Recommendations for standardized procedure for the on-line and off-line measurements of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005 / American Thoracic Society; European Respiratory Society. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005. Vol. 171, Iss. 8. P. 912-930. <https://doi.org/10.1164/rccm.200406-710ST>
- [17] Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice / S. Noguchi, K. Yatera, Ke-Y. Wang et al. *Respiratory Research*. 2014. Vol. 15, Iss. 1. P. 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12931-014-0092-3>
- [5] Tsyplenkova, S. E., & Mizernitskiy, Yu. L. (2015). Sovremennyye vozmozhnosti funktsional'noi diagnostiki vneshnego dykhaniya u detei [Current possibilities of functional diagnosis of external respiration in children]. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii*, 60(5), 14-20. [In Russian].
- [6] Rogachikov, A. I. Shakhanov, A. V., & Uryasev, O. M. (2015). Vydykhaemyi oksid azota kak dopolnitel'nyi diagnosticheskiy instrument v ambulatornoj praktike [Exhaled nitric oxide as an additional diagnostic tool in ambulatory practice]. *Zemskii vrach*, (1), 32-36. [In Russian].
- [7] Chuchalin, A. G. (2018). Rol' oksida azota v sovremennoy klinicheskoy praktike: nauchnyi doklad na V Vserossiiskom kongresse «Legochnaya gipertenziya» (13 dekabrya 2017 g.) [A role of nitric oxide for the modern clinical practice: A scientific report at the 5th Pan-Russian Congress on pulmonary hypertension, December 13, 2017]. *Pulmonologiya*, 28(4), 503-511. [In Russian]. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-4-503-511>
- [8] Turner, S. W., Chang, A. B., & Yang, I. A. (2019). Clinical utility of exhaled nitric oxide fraction in the management of asthma and COPD. *Breathe*, 15(4), 306-316. <https://doi.org/10.1183/20734735.0268-2019>
- [9] Tsyplenkova, S. E., & Mizernitskiy, Yu. L. (2014). Klinicheskoe znachenie fraktsionnogo opredeleniya oksida azota v vydykhaemom vozdukhke kak instrumenta diagnostiki i otsenki effektivnosti lecheniya khronicheskikh zabolevaniy organov dykhaniya u detei [Clinical significance of expired air nitric oxide fractional determination as instrument of diagnosis and therapeutic efficiency assessment of pediatric chronic respiratory diseases]. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*, 31(2), 56-61.
- [10] Kytikova, O. Yu., Gvozdenko, T. A., Antonyuk, M. V., & Novgorodtseva, T. P. (2019). Rol' oksida azota v patofiziologii i lechenii khronicheskoy obstruktivnoy bolezni legkih [The role of nitric oxide in pathophysiology and treatment of chronic obstructive pulmonary disease]. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*, 1(71), 105-111. [In Russian]. [https://doi.org/10.12737/article\\_5c89ab4f8523c5.66345570](https://doi.org/10.12737/article_5c89ab4f8523c5.66345570)
- [11] Soodaeva, S. K., Klimanov, I. A., & Nikitina, L. Yu. (2017). Nitrozivnyi i oksidativnyi stress pri zabolevaniyakh organov dykhaniya [Nitrosative and oxidative stresses in respiratory diseases]. *Pulmonologiya*, 27(2), 262-273. [In Russian]. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-262-273>
- [12] Cameli, P., Bargagli, E., Bergantini, L., d'Alessandro, M., Pieroni, M., Fontana, G. A., Sestini, P., & Refini, R. M. (2020). Extended Exhaled Nitric Oxide Analysis in Interstitial Lung Diseases: A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6187. <https://doi.org/10.3390/ijms21176187>
- [13] Verhamme, F. M., Bracke, K. R., Joos, G. F., & Brusselle, G. G. (2015). Transforming growth factor- $\beta$  superfamily in obstructive lung diseases. more suspects than TGF- $\beta$  alone. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 52(6), 653-662. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2014-0282RT>
- [14] Ільченко С., Фіалковська А. (2018). Персоніфікований підхід до профілактики тютюнокуріння у підлітків [A personalized approach to the prevention of smoking in adolescents]. *ScienceRise: Medical Science*, (1), 35-38. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2018.121691>
- [15] Абатуров А. Е., Волосовец А. П., Юлиш Е. И. (2013). *Rol' prooksidantnoi i antioksidantnoi sistem pri vospalitel'nykh zabolevaniyakh organov dykhaniya* [The role of prooxidant and antioxidant systems in inflammatory diseases of the respiratory system]. Kharkov: Planeta-Print. [In Russian].
- [16] American Thoracic Society, & European Respiratory Society (2005). ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(8), 912-930. <https://doi.org/10.1164/rccm.200406-710ST>
- [17] Noguchi, S., Yatera, K., Wang, K. Y., Oda, K., Akata, K., Yamasaki, K., Kawanami, T., Ishimoto, H., Toyohira, Y., Shimokawa, H., Yanagihara, N., Tsutsui, M., & Mukae, H. (2014). Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respiratory research*, 15(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s12931-014-0092-3>

## References

- [1] Antypkin, J. G., Chumachenko, N. G., Umanets, T. R., & Lapshin, V. F. (2016). Dynamika zakhvoriuvanosti ta poshyrenosti bronkholehenevoi patolohii u ditei. [The aspects of respiratory organs pathological conditions dynamics among child population]. *Sovremennaya pediatriya*, (2), 73-77. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/SP.2016.74.73>.
- [2] Ільченко, С. І., & Фіалковська, А. О. (2018). Diahnoz «khronichnyi bronkhitis» v dytiachii pulmonolohii: «za» ta «proty». [Diagnosis "chronic bronchitis" in children's pulmonology: "pro" and "contra"]. *Ukrainskiy pulmonologichnyi zhurnal*, (4), 32-34. [In Ukrainian].
- [3] Ільченко, С. І., Фіалковська, А. О. (2017). Prohnozuvannya ryzyku rozvytku khronichnoho bronkhitu u pidlitkiv-kurtsiv [Predicting the risk of chronic bronchitis in teenage smokers]. *Zdorov'e rebenka*, (4), 29-33. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2224-0551.12.4.2017.107624>
- [4] Fischer, B. M., Voynow, J. A., Ghio, A. J. (2015). COPD: balancing oxidants and antioxidants. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 10, 261-276. <https://doi.org/10.2147/COPD.S42414>

# Кластерний аналіз причин гострих діарей у дітей раннього віку, госпіталізованих в інфекційне відділення

О. Г. Іванько<sup>id</sup>\*<sup>A,C,E,F</sup>, В. М. Бондаренко<sup>B,C,D</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

## Ключові слова:

діти, кишкова інфекція, діарея, фекальний кальпротектин, кластерний аналіз.

## Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).

С. 196-202

## \*E-mail:

[log@ukr.net](mailto:log@ukr.net)

**Мета роботи** – за допомогою кластерного аналізу класифікувати клініко-лабораторні показники дітей віком від 6 до 24 місяців із гострою діареєю, схарактеризувати типові ознаки інфекційних або функціональних розладів кишечника.

**Матеріали та методи.** Обстежили 56 дітей (35 хлопців, 21 дівчина), госпіталізованих із діареєю в дитяче інфекційно-боксоване відділення. У пацієнтів збрали анамнез, виконали клініко-лабораторні дослідження крові, сечі, мікроскопію та бактеріологічні посіви калу на селективні субстрати, здійснили тести для ідентифікації адено-, ротавірусів. Вивчали наявність у випорожненнях токсинів A/B *Clostridium difficile*, гемоглобіну, фекального кальпротектину (ФКП), визначали відсотковий вміст неперетравлених вуглеводів (редуючих субстанцій). Контрольна група включала 31 дитину.

**Результати.** Більшість дітей отримували антибіотики, але тільки у 58,9 % випадків встановлена бактеріальна, вірусна природа захворювання або клінічно високо вірогідна інфекція. Інші 41,1 % пацієнтів мали епізоди неінфекційної діареї. У 7,1 % з усіх випадків діарея спричинена підвищенням вмісту вуглеводів у випорожненнях. Такий самий механізм мала діарея у 3,4 % хворих при інвазії кишечника *Giardia lamblia*. У 17,9 % пацієнтів часту дефекацію спостерігали при симптоматичній (парентеральній) діареї, спричиненій позакишковими захворюваннями; у 7,1 % хворих кишкова гіпермоторність не пояснена, але за ознаками схожа на синдром подразненого кишечника в дорослих. Додатково кластерний аналіз відокремив 5,4 % хворих із неінфекційною діареєю, в яких виявили тільки значущо підвищені показники ФКП, що може відповідати алергічному або імунному запаленню кишечника.

**Висновки.** Класифікація хворих за причинами діареї стала можливою завдяки застосуванню мікробіологічних тестів і високоінформативних маркерів кишкового здоров'я – фекального кальпротектину та показника вмісту редуючих субстанцій (вуглеводів) у випорожненнях.

## Key words:

children, intestinal infections, diarrhea, calprotectin, cluster analysis.

## Pathologia

2021; 18 (2), 196-202

## Cluster analysis of the acute diarrhea causes in young children admitted to the infectious diseases unit

O. H. Ivanko, V. M. Bondarenko

**Aim.** To use the cluster analysis of clinical and laboratory data, characteristic to children aged 6 to 24 months with acute diarrhea, in demonstrating the signs of infectious or functional intestinal disorders.

**Materials and methods.** 56 children admitted to the children's infectious unit with diarrhea and 31 healthy toddlers of the control group were observed. Anamnesis, laboratory blood and urine tests, microscopy and bacteriological cultures of feces on selective media and tests to identify adeno- and rotaviruses were performed. The presence of *Clostridium difficile* A/B toxins in the stool, hemoglobin, fecal calprotectin (FC) and the content of undigested fecal carbohydrates also were studied.

**Results.** Children who in their majority have received antibiotics only in 58.9 % of cases were corresponding to the bacterial or viral nature of the disease or the infection was clinically highly probable. Another 41.1 % of patients has experienced non-infectious diarrhea. In 7.1 % of all cases the diarrhea was triggered by an increase of the carbohydrate content in the stool. Diarrhea had the same mechanism in 3.4 % of patients with *Giardia lamblia*. In 17.9 % of patients the frequent bowel movements were the manifestation of symptomatic (parenteral) diarrhea caused by extraintestinal diseases, and in another 7.1 % the intestinal hypermotility was not explained but resembled irritable bowel syndrome in adults. Additionally, cluster analysis identified 5.4 % of patients with non-infectious diarrhea who had only significantly increased FC corresponding to allergic or immune inflammation in the gut.

**Conclusions.** The classification of patients for the causes of diarrhea became possible due to the microbiological tests and highly informative markers of intestinal health – fecal calprotectin and reducing substances (carbohydrates) in the stool.

## Ключевые слова:

дети, кишечные инфекции, диарея, фекальный кальпротектин, кластерный анализ.

## Патология. 2021.

Т. 18, № 2(52), с. 196-202

## Кластерный анализ причин острых диарей у детей раннего возраста, госпитализированных в инфекционное отделение

О. Г. Іванько, В. М. Бондаренко

**Цель работы** – с помощью кластерного анализа классифицировать клинико-лабораторные показатели детей в возрасте от 6 до 24 месяцев с острой диареей, охарактеризовать признаки инфекционных или функциональных расстройств кишечника.

**Матеріали і методи.** Обстежили 56 дітей (35 мальчиків і 21 дівочка), госпіталізованих з діареєю в дetskое інфекційно-токсичне відділення. У пацієнтів збирали анамнез, провели клініко-лабораторні дослідження крові, мочі, мікроскопію і бактеріологічні посіви кала на селективні середовища, використовували тести для ідентифікації адено- і ротавірусів. Вивчали наявність в стільці токсинів A/B *Clostridium difficile*, гемоглобіна, фекального кальпротектина (ФКП), вмісту непереварених вуглеводів (редуруючих субстанцій). Контрольна група включала 31 дитину.

**Результати.** Більшість дітей отримували антибіотики, але тільки в 58,9 % випадків встановлено бактеріальну, вірусну природу захворювання або клінічно високо ймовірна інфекція. Решта 41,1 % пацієнтів перенесли епізоди неінфекційної діареї. В 7,1 % випадків діарея викликана підвищенням вмісту вуглеводів в стільці. Такого ж механізму мала діарея у 3,4 % хворих при інвазії кишечника *Giardia lamblia*. У 17,9 % пацієнтів частий стілець – проявлення симптоматичної (парентеральної) діареї, викликаній кишечковими захворюваннями; у 7,1 % хворих кишечкова гіпермоторність не пояснена, але за ознаками нагадувала синдром подразненого кишечника дорослих. Додатково кластерний аналіз виявив 5,4 % хворих з неінфекційною діареєю, у яких відзначено лише значимо підвищені показники ФКП, що може відповідати алергічному або імунному запаленню кишечника.

**Висновки.** Класифікація хворих за причинами діареї стала можливою завдяки використанню мікробіологічних тестів і високоінформативних маркерів кишечкового здоров'я – фекального кальпротектина і показника вмісту редуруючих субстанцій (вуглеводів) в стільці.

Вважають, що гострі діареї в дітей найчастіше викликають бактеріальні, вірусні та паразитарні інфекції. Ця група захворювань належить до так званих «органічних» діарей [1], що мають патоморфологічні ознаки запальних реакцій шлунково-кишкового тракту. У МКХ-10 вони представлені класами A00-A09. Традиційно цю групу захворювань вважають потенційно небезпечною для життя дітей, особливо молодшої вікової групи, оскільки, за даними ВООЗ, вони зумовлюють високу смертність, особливо в країнах, що розвиваються [2]. Можливо, саме тому більшість дітей перших років життя з кишковими інфекціями отримують антибіотики, що створює проблему росту загальної антибіотикорезистентності мікроорганізмів і спричиняє формування асоційованих із прийманням антибіотиків ускладнень.

Друга група хворих, ще недостатньо вивчена, – діти з «неорганічним» діарейним синдромом, коли не вдається виявити інфекційні збудники попри спроби максимального охоплення тестами на інфекційні патогени, що циркулюють у певних клімато-географічних умовах. Ці захворювання мають здебільшого рецидивний або хронічний характер, у класах МКХ-10 представлені рубриками K90.0 (целиація), K58 (синдром подразненого кишечника) та K59 (інші функціональні порушення (ферментопатії)). Під час обстеження таких хворих, які вперше потрапили у стаціонар, привертають увагу відносно задовільний стан, відсутність лихоманки та зневоднення, а часто і збережений апетит. Батьки цих дітей прагнуть якнайшвидше залишити стаціонар після отримання негативних мікробіологічних досліджень, а справжня природа епізоду діареї може бути визначена в історії хвороби як функціональне порушення травлення.

Протягом останніх десятиліть здійснюють дослідження з проблеми функціональних захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) у дітей раннього віку за програмою формування Римських критеріїв діагностики, що передбачають функціональну діарею в дітей молодшого віку (рубрику G5) [3]. Але майже кожна редакція Римських критеріїв пропонує зміни або поновлення рубрику. Так, нещодавно виключили синдром подразненого кишечника [4,5], який фіксують в осіб старшого віку. Пропонують навіть

визначити функціональну діарею як таку, що не має патоморфологічного підґрунтя, тобто є не захворюванням, а тільки сукупністю симптомів [6]. Неодноразово підкреслено роль ЦНС як тригера розладів ШКТ, хоча навіть тепер клінічне дослідження механізмів участі ЦНС доволі складне [7].

Медицина практика в останні роки отримала ефективні лабораторні тести, що дають змогу точніше оцінювати органічні й функціональні причини діареї. Це пов'язано з удосконаленням мікробіологічних досліджень, діагностики харчової алергії та стану запалення кишечника на засадах застосування копрологічних біохімічних маркерів та ендоскопії.

## Мета роботи

За допомогою кластерного аналізу класифікувати клініко-лабораторні показники дітей віком від 6 до 24 місяців із гострою діареєю, схарактеризувати типові ознаки інфекційних або функціональних розладів кишечника.

## Матеріали і методи дослідження

Обстежили 56 дітей, які перебували в дитячому інфекційно-токсичному діагностичному відділенні КНП «Міська дитяча лікарня № 5» м. Запоріжжя (головний лікар – А. Г. Запороженко) в період зима – весна 2019–2020 рр.

Критерії залучення у групу дослідження – наявність гострої діареї, вік 6–24 місяці, наявність інформованої згоди батьків на участь. Вік 42 дітей становив 6–11 місяців, 8 осіб – 12–18 місяців, 6 малюків – 19–24 місяці. Серед обстежених – 35 хлопчиків і 21 дівчинка. Усі діти від народження перебували на раціональному грудному вигодовуванні, їм вчасно ввели прикорм за чинними стандартами. Критерії виключення – неможливість зібрати дуже рідкі випорожнення, вродженні аномалії ШКТ, відмова батьків від участі в дослідженні.

Причина звернення у стаціонар – діарея, що супроводжувалась блюванням у 27 (48,2 %) пацієнтів; у 29 (51,8 %) хворих зареєстрована лихоманка від 37,3 °С до 40,0 °С. Для лабораторних досліджень

**Таблиця 1.** Копрологічні показники у хворих залежно від діагнозу, встановленого в діагностичному відділенні стаціонара, та здорових дітей, Ме (Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Групи дітей	n	Фекальний кальпротектин, мкг/г	Редукуючі субстанції, %
Бактеріальний ГГЕ	11	1485,9 (1284,4; 1800,0)*	0,50 (0,25; 2,00)*
Ротавірусний ГГЕ	10	880,2 (610,5; 1415,6)*	0,5 (0,4; 0,5)*
Симптоматична діарея на тлі некишкових хвороб	10	443,9 (284,9; 743,1)	0,35 (0,10; 0,50)
Лямбліоз	2	259,6 (172,3; 346,9)	1,15 (0,3; 2,0)*
Діарея невстановленої етіології	23	730,2 (416,4; 1232,8)	0,50 (0,25; 0,65)*
Здорові діти	31	422,9 (226,4; 1321,9)	0,01 (0,01; 0,05)

Ме: медіана; Q<sub>25</sub>, Q<sub>75</sub>: 25 і 75 квартилі; ГГЕ: гострий гастроентерит; \*: розбіжності з показником контрольної групи, p < 0,05.

кал збирали в перші години після надходження у стаціонар до призначення антибіотиків. Випорожнення здебільшого водянисті, за Бристольською шкалою – 6–7 класів.

Антибактеріальне лікування призначили 50 (89,3 %) дітям. Усім госпіталізованим виконали комплексне клініко-лабораторне дослідження, якщо передбачало загальні аналізи крові та сечі, біохімічні тести, мікроскопічне дослідження калу. Здійснили дослідження для виявлення бактеріальних, вірусних і паразитарних патогенів діареї: бактеріологічні посіви калу на селективні субстрати щодо мікробів так званої кишкової групи та тести для виявлення ротавірусу (CITO TEST ROTA, Pharmasco, Україна) та аденовірусу (ADENOVIRUS, Vegal Farmaceutica S. L., Іспанія). Водночас дітей обстежили на наявність у випорожненнях токсинів А + В *Clostridium difficile*, гемоглобіну в концентрації  $\geq 50$  нг/мл, використовували імунохроматографічні методи Vegal Farmaceutica S. L. (Іспанія); за показаннями визначали наявність сумарних антитіл до лямблій IgA, IgM, IgG твердофазним імуноферментним аналізом Вектор-Бест. Усім пацієнтам методом Бенедикта визначали відсотковий вміст редукуючих субстанцій (РС) у калі, що відповідає концентрації неперетравлених вуглеводів, припустимий рівень яких у дітей молодшої вікової групи становить 0,25 % від маси випорожнення. Фекальний кальпротектин (ФКП) як показник стану запалення в кишечнику [8,9] вимірювали імуноферментним методом Buhlmannfecal ELISA Calprotectin (Швейцарія). Нормальні значення маркера для дітей цієї вікової групи становлять  $\leq 500$  мкг/г [10], що відповідало результатам обстеження здорових дітей, залучених у це дослідження. Саме для уточнення значень наведених показників обстежили групу контролю, що включала 31 дитину такого самого віку та типу вигодовування без проявів захворювань ШКТ.

Батьки дітей, які залучені в дослідження, надали інформовану письмову згоду на опрацювання персональних даних і лабораторне дослідження калу.

У роботі використали методи варіаційної статистики, дисперсійний і кластерний аналіз методом К-середніх, моделі зв'язності; застосували програму Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., №JPZ8041382130ARCN10-J).

## Результати

Використовуючи дані лікувального закладу, 56 (100 %) дітей поділили на клінічні групи за встановленим в

історіях хвороб діагнозом. Перша група включала 11 (19,6 %) дітей із гострим гастроентеритом (ГГЕ) – бактеріальні інфекції (МКХ-10 A04). Клінічна картина в 10 із них характеризувалася загальним інтоксикаційним синдромом, лихоманкою у 8 малюків, блюванням 3–5 разів на день у 7 осіб. У всіх дітей була діарея з послабленням і вдень, і вночі до 4–8 разів на добу протягом не менше ніж 2–3 днів. У результаті мікробіологічного дослідження в 5 хворих виділили *Kampilobacter jejuni*, у 2 – *Escherichia coli* O-18, в 1 – *Escherichia coli* O-44, у 2 – *Salmonella enteritidis*, в 1 пацієнта – *Yersinia enterocolitica*. Підвищений вміст токсинів *Clostridium difficile* та гемоглобіну в випорожненнях не виявили.

У другу групу включили 10 (17,9 %) дітей з ГГЕ ротавірусної природи (A08.0 МКХ-10). Клінічна картина у всіх хворих характеризувалася загальним інтоксикаційним синдромом, у 7 визначили лихоманку, у 6 хворих – блювання 2–5 разів на день. У всіх дітей випорожнення водянисті, без домішок крові до 8 разів на добу протягом не менше ніж 2–4 дні.

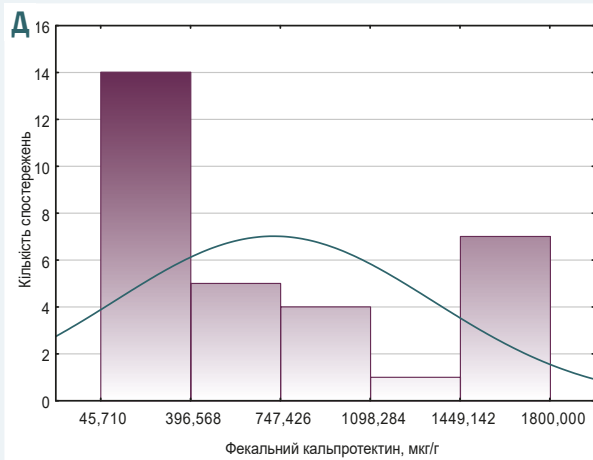
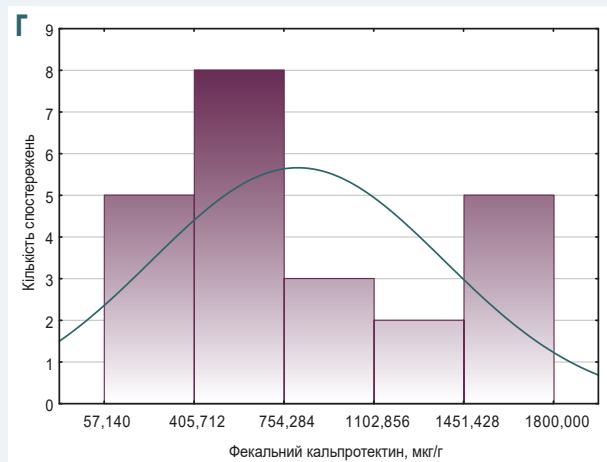
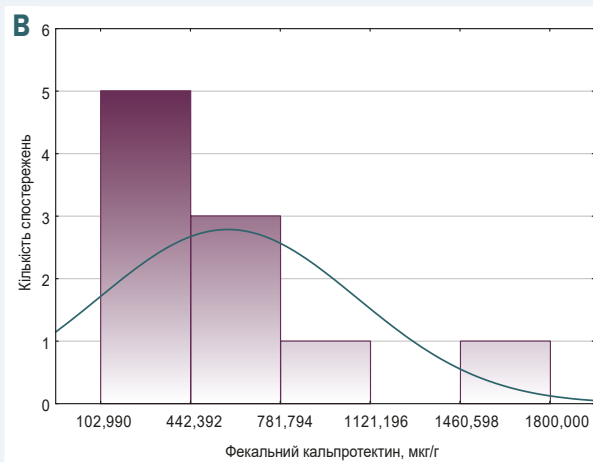
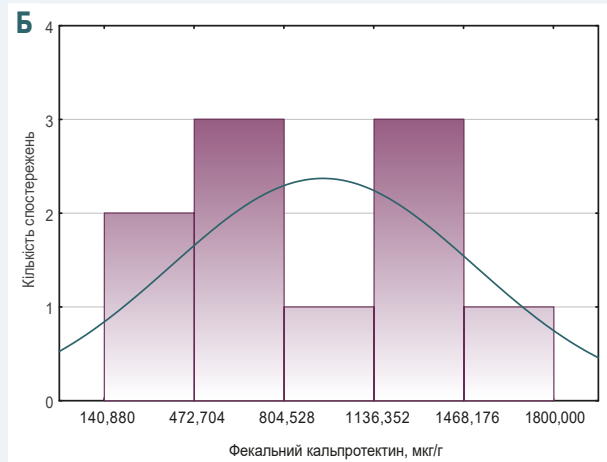
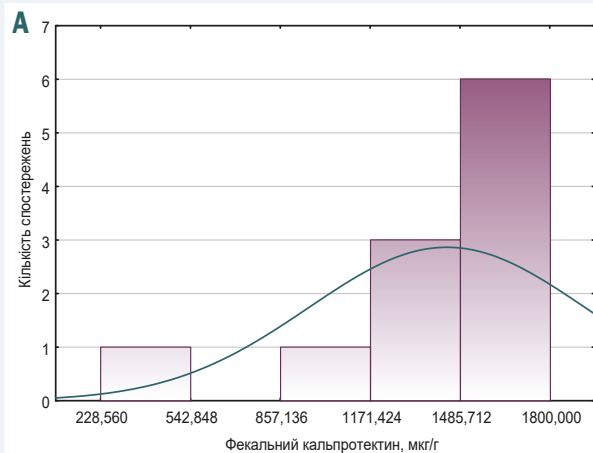
У третю групу залучені хворі з функціональними порушеннями шлунково-кишкового тракту, діагноз яких визначили як К 59 за МКХ-10. У 10 (17,9 %) хворих цієї групи спостерігали помірну діарею, супутню лихоманку та блювання зафіксували в 6 малюків. Звернули увагу, що переважна більшість хворих на тлі діареї мали тяжкі вірусні та бактеріальні некишкові захворювання: 3 пацієнти – гострий середній отит, 2 – позагоспітальну пневмонію, 1 – інфекцію сечовивідної системи, 4 малюків – назофарингіт. У жодного з них не отримали позитивний результат тестів на бактеріальні, вірусні або паразитарні патогени, токсини *Clostridium difficile* або підвищений вміст Hb у випорожненнях. Ці дані дали змогу класифікувати ці випадки як так звану «парентеральну» [11], або симптоматичну діарею.

У четвертій групі дослідження – 2 (3,6 %) хворих із лямбліозом (A07.1 МКХ-10), що встановлений у результаті виявлення вегетуючих *Giardia lamblia* або їхніх цист, підвищеного вмісту специфічних IgA та IgG. Перебіг діареї в них характеризувався відсутністю блювоти, лихоманки, але неінвазивна за характером діарея доволі тяжка, що й зумовило госпіталізацію.

П'ята група – 23 (41 %) пацієнти, в яких діагностували діарею невстановленої етіології (A09 за МКХ-10). Припущення, що ця група неоднорідна та складається з кількох різних за етіологією нозологічних форм, підтверджене варіабельністю перебігу хвороби за тяжкістю, кишковими та некишковими симптомами. Тому припустили, що за даними кластерного аналізу, застосовуючи клінічні та копрологічні ознаки випадків хвороби, в дітей із достатньою вірогідністю можна класифікувати причини гострої діареї.

У таблиці 1 наведені показники ФКП і РС у дітей із гострою діареєю.

За даними, що наведені в таблиці 1, найвищі показники ФКП встановлені у хворих на інфекційні захворювання бактеріальної та вірусної етіології. Цим пацієнтам властиві також ознаки мальабсорбції вуглеводів, що підтверджено підвищеною концентрацією РС у діарейних випорожненнях. Концентрація ФКП у дітей із симптоматичною діареєю та лямбліозом відповідала



**Рис. 1.** Гістограми відносних частот (вісь Y) та лінії ексцесу/асиметрії розподілу показників ФКП у мкг/г (вісь X) у групах спостереження: **А.** Бактеріальний ГГЕ; **Б.** Вірусний (ротавірусний) ГГЕ; **В.** Симптоматична діарея; **Г.** Діарея нестановленої етіології; **Д.** Контрольна група дітей.

нормальним показником, хоча хворі на лямбліоз мали ознаки мальабсорбції вуглеводів.

На рис. 1 наведені гістограми розподілу величин ФКП у пацієнтів у зіставленні груп і порівняно з показниками дітей контрольної групи.

Отже, за даними, що наведені на рис. 1, показники ФКП дітей із симптоматичною діареєю відповідають контрольним із характерним групуванням (лівобічна асиметрія) значень в інтервалі нормальних референтних показників (<500 мкг/г). Показники груп ГГЕ

бактеріальної та вірусної етіології відповідають істотній правобічній асиметрії, тобто значущо підвищеним «запальним» значенням ФКП. Група хворих із діареєю нестановленої етіології характеризується «двогорбим» полігоном розподілу частот із двома максимумами – в межах нормальних та істотно підвищених значень.

Хворі саме цієї групи привернули наш науковий інтерес: припустили, що детальніше вивчення дасть змогу виділити контингенти, які з високою імовірністю відповідали б характеристикам інфекційної діареї,



Таблиця 2. Ознаки та їхня частота при гострій діарейі в дітей залежно від її причини

Групи хворих залежно від причини гострої діарейі	n	Симптоми та їхня частота, %					
		ФКП >500 мкг/г	РС >0,25	Блювання	Лихоманка $\geq 37,2$ °C	Нь <110 г/л	ШОЕ $\geq 10$ мм/год
Бактеріальний ГГЕ	11	91	73	55	55	36	36
Ротавірусний ГГЕ	10	80	90	60	40	20	50
Симптоматична діарейя на тлі позакишкових захворювань	10	40	40	50	80	60	30
Лямбліоз кишечника	2	0	100	0	0	100	100
Інфекційна діарейя з високою імовірністю*	12	100	100	50	58	17	17
Неінфекційна діарейя з накопиченням РС*	4	0	100	25	75	50	100
Неінфекційна гіпермотильність кишечника*	4	0	0	0	25	50	25
Неінфекційна діарейя з ізольованим підвищенням ФКП*	3	100	0	0	0	33	0

\*: причини, встановлені під час поглибленого обстеження дітей із гострою діареєю невідомої етіології.

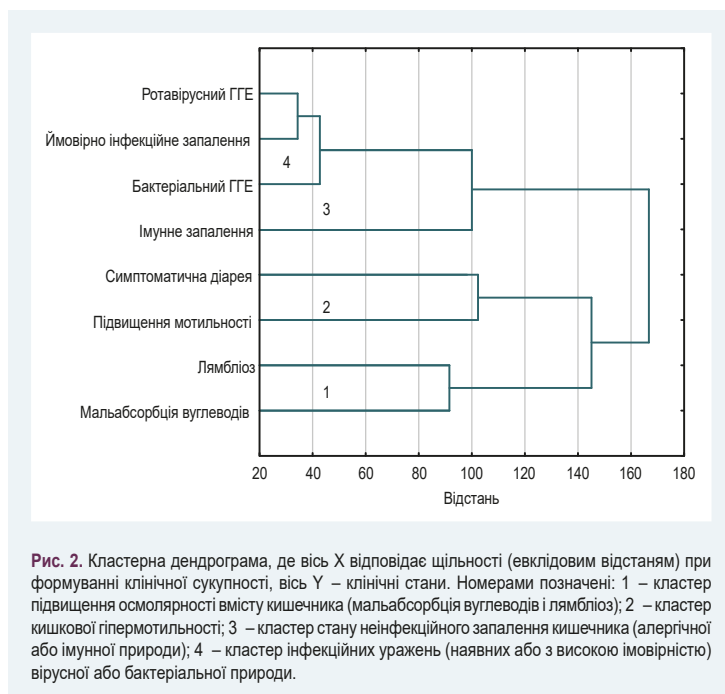


Рис. 2. Кластерна дендрограма, де вісь X відповідає щільності (евклідовим відстаням) при формуванні клінічної сукупності, вісь Y – клінічні стани. Номерами позначені: 1 – кластер підвищення осмолярності вмісту кишечника (мальабсорбція вуглеводів і лямбліоз); 2 – кластер кишкової гіпермотильності; 3 – кластер стану неінфекційного запалення кишечника (алергічної або імунної природи); 4 – кластер інфекційних уражень (наявних або з високою імовірністю) вірусної або бактеріальної природи.

Таблиця 3. Статистичні внески (F) та вірогідність (p) використаних симптомів під час розрахунків кластерів за даними дисперсійного аналізу

Симптоми	F	p
ФКП >500 мкг/г	35,492	0,002
РС >0,25 %	12,22	0,020
Блювання	3,02	0,150
Лихоманка $\geq 37,2$ °C	0,54	0,670
Нь крові <110 г/л	4,28	0,090
ШОЕ $\geq 10$ мм/год	56,91	0,001

невизначеної через труднощі діагностики, та групу пацієнтів із неінфекційною, дійсно «функціональною» діареєю.

У результаті індивідуального аналізу історій хвороб встановили, що найчастіше (у 12 із 23 дітей п'ятої клінічної групи із висновком про діарею невідомої етіології) спостерігали поєднання діарейі з фебрильною лихоманкою на тлі підвищених значень ФКП і РС. За аналогією з ознаками 1 і 2 клінічних груп діагноз цих хворих (21,4 %) визначено як ГГЕ з високою імовірністю, але невідомої інфекційної (вірусної або бактеріальної) природи.

У 4 (7,1 %) дітей на тлі нормальних показників ФКП, незначної (субфебрильної) лихоманки не вище ніж 37,5 °C у двох із них, яку пояснили особливістю реактивності маленької дитини при виникненні кишкової дисфункції, спостерігали значуще підвищенні рівня РС. Це дало підстави визначити їх у групу осмотичної діарейі з суттєвою ізольованою мальабсорбцією вуглеводів або харчовим перенавантаженням вуглеводами за типом Toddler's diarrhea [12,13].

Ще 4 (7,1 %) пацієнти з гострою діареєю мали нормальні показники ФКП і РС, тому їх визначили як тих, хто має передусім моторні (гіпермотильні) порушення внаслідок підвищеної швидкості проходження хіміусу через кишківник.

У 3 (5,4 %) дітей із нормальною температурою тіла виявили істотно підвищені показники ФКП на тлі нормальних РС і ШОЕ. Треба додати, що у 2 дітей були ознаки atopічного дерматиту. У цих малюків припустили неінфекційне запалення кишечника низького ступеня активності як наслідок імунопатологічного ураження на тлі харчової алергії.

Для підтвердження об'єктивної відповідності хворих і названих причин гострої діарейі весь клінічний матеріал поділили за 8 різновидами діарейі. Виконали багатofакторний статистичний аналіз, в який включили частоти (%) наявних у дітей клінічних симптомів (блювання, гіпертермія, підвищення ШОЕ, зниження вмісту Нь крові до ступеня анемії) та значення копрологічних маркерів стану кишечника (ФКП і РС). Етапи дисперсійного та кластерного аналізів наведено в таблицях 2, 3 і на рис. 2.

У таблиці 2 наведені частоти (%) клінічних і копрологічних симптомів у хворих, яких поділили на групи за причинами гострої діарейі, враховуючи мікробіологічні та паразитологічні дані.

## Обговорення

Більшість дітей у стаціонарі отримували антибіотики, але тільки у 58,9 % випадків встановлена бактеріальна, вірусна природа захворювання або клінічно високо вірогідна інфекція. Інші 41,1 % пацієнтів мали епізоди неінфекційної діарейі. У 7,1 % з усіх випадків діарейя спричинена підвищенням вмісту вуглеводів у випорожненнях, тобто високою осмотичністю хіміусу в разі дисахаридазної недостатності та/або внаслідок харчового перевантаження вуглеводами. Такий самий механізм мала діарейя у 3,4 % хворих при

інвазії кишечника *Giardia lamblia*, яку також включили в кластер осмотичної діареї та можна пояснити втратою ферментативної активності ентероцитів при ураженні паразитами апікальної мембрани клітин [14,15].

У 17,9 % пацієнтів часта дефекація розвивалася як реакція кишечника, симптоматична діарея, що спричинена позакишковими вірусно-бактеріальними захворюваннями, як-от гострий назофарингіт, пневмонія, інфекція сечовидільної системи. Ще у 7,1 % хворих кишкова гіпермотильність пояснена не була, але за ознаками схожа на синдром подразненого кишечника без ознак запалення або підвищення осмотичності вмісту. Кластерний аналіз відокремив і 5,4 % хворих із неінфекційною діареєю, яким притаманні тільки істотно підвищені показники ФКП, що може відповідати алергічному або імунному запаленню кишечника.

Отже, хворі молодшого дитячого віку, які госпіталізовані у стаціонар із гострою діареєю, в результаті математичного аналізу їхніх клінічних ознак поділені на 4 кластери: інфекційних уражень вірусної або бактеріальної природи (наявних або з високою імовірністю); гіперосмолярності вмісту кишечника на тлі мальабсорбції вуглеводів, зокрема в разі лямбліозу кишківника; кишкової гіпермотильності; стану неінфекційного запалення кишечника (алергічної або імунної природи).

За результатами дослідження, відсутність позитивних результатів мікробіологічних тестів не виключає інфекційне захворювання, й серед дітей із невстановленими причинами діареї є малюки з функціональними розладами кишечника. Оцінювання комбінації симптомів лихоманки, блювання, анемії, прискореної ШОЕ, значень фекального кальпротектину та вуглеводів у випорожненнях, враховуючи результати бактеріологічних і вірусологічних тестів, може підвищити рівень діагностики інфекційних або неінфекційних діарей.

## Висновки

Класифікація хворих, яку здійснили, стала можливою завдяки застосуванню мікробіологічних тестів і високоінформативних маркерів кишкового здоров'я – фекального кальпротектину та показника вмісту редуруючих субстанцій (вуглеводів) у випорожненнях.

**Перспективи подальших досліджень.** Використання нових копрологічних маркерів, як-от коротколанцюгових жирних кислот, еозинофільного нейротоксину, а також маркерів харчової інтолерантності дасть змогу здійснювати точнішу діагностику інфекційної та неінфекційної (функціональної) діареї в дітей молодшої вікової групи.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 29.03.2021

Після доопрацювання / Revised: 24.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 04.06.2021

## Відомості про авторів:

Іванько О. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7655-5529](https://orcid.org/0000-0001-7655-5529)

Бондаренко В. М., аспірантка каф. пропедевтики дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Ivanko O. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Bondarenko V. M., MD, PhD student, Department of Propedeutics of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Иванько О. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бондаренко В. М., аспирант каф. пропедевтики детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури







- [1] Майданник В. Д., Іванишин Л. М. Клінічні рекомендації з діагностики та лікування функціональних гастроінтестинальних розладів у дітей. Київ, 2013. 66 с.
- [2] Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea / C. Walker, I. Rudan, L. Liu et al. *Lancet*. 2013. Vol. 381, Iss. 9875. P. 1405-1416. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60222-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60222-6)
- [3] Zeevenhooven J., Koppen I. J., Benninga M. A. The New Rome IV Criteria for Functional Gastrointestinal Disorders in Infants and Toddlers. *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition*. 2017. Vol. 20, Iss. 1. P. 1-13. <https://doi.org/10.5223/pghn.2017.20.1.1>
- [4] Grad S., Dumitrascu D. L. Irritable Bowel Syndrome Subtypes: New Names for Old Medical Conditions. *Digestive diseases*. 2020. Vol. 38, Iss. 2. P. 122-127. <https://doi.org/10.1159/000505287>
- [5] Бельмер С. В., Хавкин А. И., Печуров Д. В. Функциональные нарушения органов пищеварения у детей. Принципы диагностики и лечения (в свете Римских критериев IV). Москва 2018. 160 с.
- [6] Sung V. Infantile colic. *Australian prescriber*. 2018. Vol. 41, Iss. 4. P. 105-110. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.033>
- [7] Drossman D. A., Hasler W. L. Rome IV-Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*. 2016. Vol. 150, Iss. 6. P. 1257-1261. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.035>
- [8] Walsham N. E., Sherwood R. A. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clinical and experimental gastroenterology*. 2016. Vol. 2016, Iss. 9. P. 21-29. <https://doi.org/10.2147/CEG.S51902>
- [9] Fecal calprotectin: beyond intestinal organic diseases / G. P. Caviglia, D. G. Ribaldone, C. Rosso et al. *Panminerva medica*. 2018. Vol. 60, Iss. 1. P. 29-34. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03405-5>
- [10] Kolho K. L., Alfthan H. Concentration of fecal calprotectin in 11,255 children aged 0-18 years. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2020. Vol. 55, Iss. 9. P. 1024-1027. <https://doi.org/10.1080/00365521.2020.1794026>
- [11] Urinary Tract Infection as a Cause of Parenteral Diarrhea in Children / J. M. Afridi, S. Amir, Y. Rehman, F. Rahim. *Medical. Forum*. 2018, Vol. 29, Iss. 5. P. 11-14.
- [12] Guiraldes E., Roessler J. L. Functional Diarrhea in Toddlers (Chronic Nonspecific Diarrhea). *Pediatric Neurogastroenterology* / eds. : C. Faure, N. Thapar, C. Di Lorenzo. Cham.: Springer, 2017. P. 381-383. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-43268-7\\_35](https://doi.org/10.1007/978-3-319-43268-7_35)
- [13] Kehar M. Chronic diarrhea in children. *Gastroenterology, Hepatology and Endoscopy*. 2016. Vol. 40, Iss. 3. P. 40-43. <https://doi.org/10.15761/GHE.1000110>
- [14] Kliegman R. M., Geme J. S. Nelson textbook of pediatrics. 21st ed. Philadelphia : Elsevier, 2019. Vol. 2. P. 1833-1836.
- [15] Dunn N., Juergens A. L. Giardiasis. *StatPearls*. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513239/>

## References

- [1] Maidannyk, V. D., & Ivanyshyn, L. M. (2013). *Klinichni rekomendatsii z diahnostryky ta likuvannia funktsionalnykh hastrointestynalnykh rozladiv u ditei* [Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of functional gastrointestinal disorders in children]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [2] Walker, C., Rudan, I., Liu, L., Nair, H., Theodoratou, E., Bhutta, Z. A., O'Brien, K. L., Campbell, H., & Black, R. E. (2013). Global burden of

- childhood pneumonia and diarrhoea. *Lancet*, 381(9875), 1405-1416. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60222-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60222-6)
- [3] Zeevenhooven, J., Koppen, I. J., & Benninga, M. A. (2017). The New Rome IV Criteria for Functional Gastrointestinal Disorders in Infants and Toddlers. *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.5223/pghn.2017.20.1.1>
- [4] Grad, S., & Dumitrascu, D. L. (2020). Irritable Bowel Syndrome Subtypes: New Names for Old Medical Conditions. *Digestive diseases*, 38(2), 122-127. <https://doi.org/10.1159/000505287>
- [5] Bel'mer, S. V., Khavkin, A. I., & Pechkurov D. V. (2018). *Funktsional'nye narusheniya organov pishchevareniya u detei. Printsipy diagnostiki i lecheniya (v svete Rimskikh kriteriev IV)* [Functional disorders of the digestive system in children. Principles of diagnosis and treatment (in Rome IV criteria)]. Moscow: GEOTAR-Media. [in Russian].
- [6] Sung V. (2018). Infantile colic. *Australian prescriber*, 41(4), 105-110. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2018.033>
- [7] Drossman, D. A., & Hasler, W. L. (2016). Rome IV-Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*, 150(6), 1257-1261. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.035>
- [8] Walsham, N. E., & Sherwood, R. A. (2016). Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clinical and experimental gastroenterology*, 2016(9), 21-29. <https://doi.org/10.2147/CEG.S51902>
- [9] Caviglia, G. P., Ribaldone, D. G., Rosso, C., Saracco, G. M., Astegiano, M., & Pellicano, R. (2018). Fecal calprotectin: beyond intestinal organic diseases. *Panminerva medica*, 60(1), 29-34. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03405-5>
- [10] Kolho, K. L., & Alfthan, H. (2020). Concentration of fecal calprotectin in 11,255 children aged 0-18 years. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 55(9), 1024-1027. <https://doi.org/10.1080/00365521.2020.1794026>
- [11] Afridi, J. M., Amir, S., Rehman, Y., & Rahim, F. (2018). Urinary tract infection as a cause of parenteral diarrhea in children. *Medical Forum*, 29(5), 11-14.
- [12] Guiraldes, E., Roessler, J. L. (2017) Functional Diarrhea in Toddlers (Chronic Nonspecific Diarrhea). In: C. Faure, N. Thapar, C. Di Lorenzo (Eds.), *Pediatric Neurogastroenterology*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-43268-7\\_35](https://doi.org/10.1007/978-3-319-43268-7_35)
- [13] Kehar, M. (2016). Chronic diarrhea in children. *Gastroenterology, Hepatology and Endoscopy*, 1(2), 40-43. <https://doi.org/10.15761/GHE.1000110>
- [14] Kliegman, R. M., & Geme, J. S. (2019). *Nelson textbook of pediatrics*, (Vol. 2, 21st ed.) (pp. 1833-1836). Elsevier.
- [15] Dunn, N., & Juergens, A. L. Giardiasis. (2020). In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513239/>

## Peculiarities of ultrasound diagnostics of paraurethral glands in women of fertile age

V. M. Grygorenko  \*A,F,E, O. V. Romashchenko  A,C,F,D, V. V. Biloholovska  A,B,C,D,  
M. O. Kosiukhno  B, S. M. Melnykov  B, A. L. Klius  E

State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv

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

**Aim.** Evaluation of ultrasound diagnostics of paraurethral glands considering their types of location in women of fertile age.

**Materials and methods.** A gynaecological, sexological and ultrasound study of 94 women in the age from 24 to 42 (average age  $31.01 \pm 6.60$ ) was carried out.

Determination of paraurethral glands during ultrasound study was conducted in the format of grey scale (B-mode) using the Doppler colour flow mapping and evaluation of Doppler indices of paraurethral glands both before and after sexual stimulation. To optimize the paraurethral glands visual view at the beginning of examination urinary bladder was catheterized and a balloon, filled with gel, was inserted into vagina.

**Results.** The front type of paraurethral glands location was found in the accumulation of glandular tissues in regard to the distal part of urethra in 67 (71.2 %) of the examined, back type – in the area of back urethra in 19 (20.2 %), diffuse type – along urethra in 7 (7.5 %) and absence – in 1 (1.1 %). Paraurethral glands were visualized in the form of clear isoechoic oval formation with the following dimensions: length –  $2.20 \pm 0.60$  cm, width –  $1.52 \pm 0.40$  cm, thickness –  $1.30 \pm 0.30$  cm, and volume –  $4.75 \pm 0.50$  cm<sup>3</sup>.

The diameter of vessels in the paraurethral glands area was between 0.17 cm and 0.21 cm in calm state and 0.39–0.41 cm – during stimulation. Maximum systolic speed of blood flow (Vps) in calm was 8.9–11.1 cm/sec, while in sexual stimulation it was 13.9–14.1 cm/sec, resistance index (IR) – 0.60–0.62 and 0.63–0.68, respectively, pulsation index (IP) – 1.22–1.44 and 1.61–1.72, respectively.

**Conclusions.** The ultrasound study of vessels of paraurethral glands, when Doppler method is used according to the suggested methodology, gives the opportunity not only to identify its anatomical structure, but also to determine its types. In CDC the increase of diameter of vessels and the optimization of vessels image in the area of paraurethral glands in case of sexual stimulation were marked.

### Key words:

paraurethral glands, ultrasound, Doppler colour flow mapping.

### Pathologia

2021; 18 (2), 203-210

### \*E-mail:

[grygorenkosl@gmail.com](mailto:grygorenkosl@gmail.com)

## Особливості ультрасонографічної діагностики парауретральних залоз у жінок фертильного віку

В. М. Григоренко, О. В. Ромащенко, В. В. Білоголовська, М. О. Косюхно,  
С. М. Мельников, А. Л. Ключ

**Мета роботи** – оцінювання ультрасонографічної діагностики парауретральних залоз, враховуючи типи їхньої локалізації в жінок репродуктивного віку.

**Матеріали та методи.** Здійснили гінекологічне, сексологічне, ультрасонографічне обстеження 94 жінок-волонтерок віком 24–42 роки (середній вік –  $31,01 \pm 6,60$ ). Парауретральні залози під час УЗД визначали у форматі сірої шкали (В-режимі), використовуючи кольорове доплерівське картування, оцінювали доплерометричні індекси судин парауретральних залоз до та після сексуальної стимуляції (перегляд пацієнткою еротичного фільму впродовж 20 хвилин та нанесення на передню стінку піхви збуджувального лубриканта). На початку дослідження для покращення візуалізації парауретральних залоз виконали катетеризацію сечового міхура, в піхву ввели балон, заповнений гелем.

**Результати.** Передній (меатальний) тип локалізації парауретральних залоз (накопичення залозистої тканини у проекції дистального відділу уретри) виявили в 67 (71,2 %) обстежених, задній тип (у зоні задньої уретри) – в 19 (20,2 %), дифузний тип (вздовж уретри) – в 7 (7,5 %), рудиментарний – в 1 (1,1 %) випадку. Парауретральні залози візуалізувалися як чітке ізоехогенне овальне утворення, що має такі розміри: довжина –  $2,20 \pm 0,60$  см, ширина –  $1,52 \pm 0,40$  см, товщина –  $1,30 \pm 0,30$  см, об'єм –  $4,75 \pm 0,50$  см<sup>3</sup>.

Діаметр судин у зоні парауретральних залоз у спокої –  $0,17\text{--}0,21$  см, при стимуляції –  $0,39\text{--}0,41$  см. Максимальна систолічна швидкість кровотоку (Vps) у спокої становила  $8,90\text{--}11,10$  см/с, при сексуальній стимуляції –  $13,9\text{--}14,1$  см/с, індекс резистентності (IR) –  $0,60\text{--}0,62$  та  $0,63\text{--}0,68$ , індекс пульсативності (IP) –  $1,22\text{--}1,44$  та  $1,61\text{--}1,72$  відповідно. Зону G виявили в 90,4 % обстежених.

**Висновки.** Ультрасонографічне дослідження з використанням методу доплерографії судин парауретральних залоз за запропонованою методикою дає змогу не тільки ідентифікувати це анатомічне утворення, але і встановити типи його локалізації, особливості кровотоку судин парауретральної зони, точки G у стані спокою та на тлі сексуальної стимуляції.

### Ключові слова:

парауретральні залози, ультразвукова діагностика, кольорове доплерівське картування.

### Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 203-210

**Ключевые слова:** парауретральные железы, ультразвуковая диагностика, цветное доплеровское картирование.

**Патологія. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 203-210**

## Особенности ультразвукографической диагностики парауретральных желёз у женщин фертильного возраста

**В. Н. Григоренко, О. В. Ромащенко, В. В. Белоголовская, М. А. Косюхно, С. Н. Мельников, А. Л. Ключ**

**Цель работы** – оценка ультразвукографической диагностики парауретральных желёз с учётом типов их локализации у женщин репродуктивного возраста.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное гинекологическое, сексологическое и ультразвукографическое обследование 94 женщин-волонтеров в возрасте 24–42 года (средний возраст –  $31,01 \pm 6,60$ ). Парауретральные железы в ходе УЗИ определяли в режиме серой шкалы (В-режиме) с использованием цветного доплеровского картирования, оценивали доплерометрические индексы сосудов парауретральных желёз до и после сексуальной стимуляции (просмотр пациенткой эротического фильма в течение 20 минут и нанесение на переднюю стенку влагалища возбуждающего лубриканта). В начале исследования для улучшения визуализации парауретральных желёз проводили катетеризацию мочевого пузыря и вводили во влагалище баллон, заполненный гелем.

**Результаты.** Передний (меатальный) тип локализации парауретральных желёз (при накоплении железистой ткани в проекции дистального отдела уретры) установлен у 67 (71,2 %) обследованных, задний тип (в зоне задней уретры) – у 19 (20,2 %), диффузный тип (вдоль уретры) – у 7 (7,5 %), рудиментарный – у 1 (1,1 %). Парауретральные железы визуализировались в виде чёткого изоэхогенного овального образования такими размерами: длина –  $2,20 \pm 0,60$  см, ширина –  $1,52 \pm 0,40$  см, толщина –  $1,30 \pm 0,30$  см, объём –  $4,75 \pm 0,50$  см<sup>3</sup>. Диаметр сосудов в парауретральной зоне в покое –  $0,17–0,21$  см, при стимуляции –  $0,39–0,41$  см. Максимальная систолическая скорость кровотока (Vps) в покое составляла  $8,9–11,1$  см/с, при сексуальной стимуляции –  $13,9–14,1$  см/с, индекс резистентности (IR) –  $0,60–0,62$  и  $0,63–0,68$ , индекс пульсативности (IP) –  $1,22–1,44$  и  $1,61–1,72$  соответственно. Зона G обнаружена у 90,4 % обследованных.

**Выводы.** Ультрасонографическое исследование методом доплерографии сосудов парауретральных желёз по предложенной методике позволяет не только идентифицировать это анатомическое образование, но и установить типы его локализации, в особенности кровотока сосудов парауретральной зоны, точки G в состоянии покоя и на фоне сексуальной стимуляции.

Study of anatomic structure and functional activity of paraurethral glands in today's conditions attracts attention of world scientific community [1–5]. In spite of the fact, that attempts to determine the anatomic structure and functional activity of paraurethral gland have been known since 1672 [6–13], a list of contradictory and unclarified aspects regarding morphological and functional characteristics of this anatomic structure is preserved [1,5].

There are certain contradictions in the determination of homology of paraurethral glands with the anatomic body in a male organism and evaluation of its functional activity [11,14–18].

Paraurethral glands' comparison of characteristics with the homologous men's organ shows that male prostate gland surrounds urethra, meanwhile the accumulation of women's paraurethral glands are located alongside urethra [11]. The thickness of walls and the length of female urethra limit the location of paraurethral glands, and that is why their size is smaller compared to the male prostate gland and constitutes in average  $3.3 \times 1.9 \times 1.0$  cm, while the average weight is 4 times smaller (3.9 and 23.7, respectively) [11,19].

Morphological research of the structure of paraurethral glands in women proves that in the stroma of this anatomic formation ducts similar to male prostate gland and smooth muscles are found, although their muscle component is more developed. A histological study of tissues of paraurethral glands by Rudolf Virchow gave grounds to reveal amyloid bodies, typical only for male organ [10].

In 1947, J. Huffman created three-dimensional models of paraurethral glands. To perform that model, he filled anatomic structures of urethra with hot wax and received characteristic features of paraurethral glands' structure, size and number. The author noticed that this anatomic formation is similar to how a tree looks like. In his view, the urethra

resembles a tree trunk, while tubes of paraurethral glands coming therefrom are similar to tree branches [20]. Taking anatomical data of Huffman's revolutionary wax model, M. Zaviacic (1999) found different types of paraurethral glands according to his pathoanatomic cross-sectional studies: anterior (meatal) type, posterior type, diffuse type, rudimentary type, rare middle type, dumbbell configuration [7,11]. According to the opinion of Huffman (1948), M. Zaviacic et al. (1985), Wernert et al. (1991), in 70 per cent of women the accumulation of glandular tissue is observed along the frontal distal part of urethra [20–22].

The system of outgoing ducts of paraurethral glands is presented by numerous channels, through which ejaculate, extracted during orgasm, comes to urethra. It should be mentioned that in some cases extractions from the female urethra are so abundant that they serve as a reason for comparison with the phenomenon of male ejaculation [9,23–25]. A high amount of alkaline phosphatase was established, with variable PSA levels both in the vagina and in the female ejaculate [23–27].

Paraurethral glands as an active functioning organ in a female body have become the center of attention of clinicians and pathologists only in the second half of XX century. The data regarding the unified embryological origin of paraurethral glands and male prostate from the urogenital sinus have accumulated [28–30].

For a long time, the majority of skeptical scholars had not recognized embryological findings, as a confirmation of the existence of homology of two genitourinary structures and completely disagreed with the understanding of paraurethral glands as an actively functioning organ in a female body. The vestigial concept based on the macroscopic difference in the size of both sexes at that moment was the main one, while the difference in size of glands

has been many times used to substantiate their functional inadequacy.

In the opinion of Wernert and coauthors the accumulation of paraurethral glandular tissue along urethra and also in the place between the wall of urethra and the frontal wall of vagina should be recognized as a rudimentary non-functional anatomic formation in a female body (vestigial concept) [22].

In these conditions M. Zaviacic and coauthors contrary to the traditional views and using the fundamental research persuasively proved the functional activity of paraurethral glands in a female body during all stages of life (non-vestigial concept) [18,22]. Vestigial theory was refuted by M. Zaviacic et al (2000) on the basis that morphologically mature secretarial and basal cells were established in the tissues of paraurethral glands of women of reproductive and perimenopausal age during electronic microscope study. It was proved that paraurethral glands do not disappear in the process of embryological development (as it was regarded before), while in 90 per cent of cases they actively develop in a mature glandular tissue with full-fledged secretarial function (non-vestigial concept) [3].

In 2001 on the basis of studies of M. Zaviacic and coauthors the Federative International Committee on Anatomical Terminology (FICAT) during its meeting, which took place in Orlando (Florida, USA) included the concept of female prostate into the list of Histological Terminology, having prohibited the use of terms "Skene's paraurethral glands" or "paraurethral ducts" to mark female prostate.

In today's conditions the active study of anatomic and functional peculiarities of development of paraurethral glands continues [1]. In these circumstances the study of this anatomic formation in a female organism is related to great research difficulties, because paraurethral glands can constitute the object of research only in case of autopsy in women, which is by itself related to a list of legal prohibitions [16].

The optimization of diagnostics of paraurethral glands and the determination of their role in the formation of urogenital and sexual disorders in a female body remains an obvious problem of clinical medicine.

The presented work is based on the idea of reevaluation of traditional approaches to the standards of identification of paraurethral glands in women of fertile age considering the types of their location.

As of today, in the world's clinical practice, these diagnostic criteria are not standardized and received little research.

## Aim

Evaluation of diagnostics of ultrasound evaluation of paraurethral glands considering their types of location in women of fertile age.

## Materials and methods

A gynecological, sexological and ultrasound study of 94 women in the age from 24 to 42 (average age  $31.01 \pm 6.60$ ), was carried out.

An examination of women-volunteers, who consented to it, was carried out according to the rules of ethical committee and confidentiality requirements.

An examination of women-volunteers, who consented to it, was carried out according to the rules of ethical committee and confidentiality requirements.

It was suggested to use new methods of check-up to optimize ultrasound diagnostics of paraurethral glands. Before the examination bladder was catheterized and a 50.0 ml vessel, filled with gel, was introduced into the vagina. Implementation of these methods of ultrasound study, in our opinion, leads to alleviate visualization of paraurethral glands. In accordance with this research method, paraurethral glands were considered as a separate anatomic formation.

As previously established, the ultrasound study with Doppler method to investigate vessels of this anatomic formation permits the evaluation of indicators that describe blood flow with high accuracy. Under this scenario patients do not experience complications and consequences that are undesirable.

The ultrasound diagnostic expert class system XARIO of TOSHIBA in the format of grey scale (B-mode) was used in the study. Also, Doppler colour flow mapping (CFM) was employed during the examination of paraurethral zone and Doppler indices were determined.

The use of Advanced Dynamic Flow allows CFM receiving high dimensional image to see any vascularization, including insignificant one, and to establish even vague flows.

The program Panoramic View was thought to optimize view of large-format picture having two-dimension effect and optimization in research of topographic anatomy of paraurethral glands area.

There were two kinds of transmitters in the research: linear multi-frequency transmitters (5.0–12.0 MHz) and endocavitary ones (9.0–14.0 MHz).

In the format of CFM vascular angioarchitecture and characteristics of parenchymatous blood flow in paraurethral glands were assessed. The specific studied area included paraurethral glands and G-spot (their availability, characteristics of localization, intensity and symmetry).

In order to evaluate Doppler signals the selected scanning angle between ray and vessel (ranged between 0 and 40 degrees) was used.

We evaluated parameters of 3–4 complexes. Linear size was measured – diameters of vessels of the described formations and evaluation of Doppler parameters: peak systolic speed of blood flow ( $V_s$  cm/s), resistive index (IR), and pulsatility index (IP).

During the examination no one used contraceptives or hormone medicaments. The examination of women took place during the first phase of menstrual cycle (between the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days of cycle).

In course of visualization of the paraurethral glands, the patient was placed on the back. We introduced anesthetic (Cathelijell) into urethra. Bladder was catheterized via Foley catheter No. 12 or No. 14, using the vessel, filled with gel, for 10–15 cm<sup>3</sup>. At the finish of the study, we removed the catheter and prescribed the 3–5 days antibacterial therapy. Our aim was to avoid potential complications after the examination [31].

The inspection was carried out in the state of calm as well as after 20–30 minutes of sexual stimulation using erotic video. The study was performed if convenience for the patient was ensured.

The ultrasound parameters data of women's paraurethral glands  $M \pm SD$ , were analyzed using Wilcoxon signed-rank test and Spearman correlation  $r$ -test. Statistically significant difference was considered for  $P < 0.05$ . Analysis was performed using SPSS 22.0 (IBM, Armonk, NY, 53595fc69139e7c88dec).

## Results

The analysis of data of paraurethral glands ultrasound study allowed to make the following findings. We found the front (meatal) type of paraurethral glands location in the paraurethral glands' accumulation of tissues in regard to the distal part of urethra in 67 (71.2 %) of examined (Fig. 1, 2), back type – in the area of back urethra in 19 (20.2 %) (Fig. 3, 4, 5), diffuse type – along urethra in 7 (7.5 %) (Fig. 6, 7, 8), and absence – in 1 (1.1 %) (Fig. 9).

During ultrasound study of paraurethral glands using the mode of gray scale this anatomic formation was in the form of clear isoechoic oval with the following dimensions: length –  $2.20 \pm 0.60$  cm, width –  $1.52 \pm 0.40$  cm, thickness –  $1.30 \pm 0.30$  cm, and volume –  $2.30 \pm 0.70$  cm<sup>3</sup>.

Sexual stimulation during 20–30 minutes (viewing erotic video) was accompanied by the increase in the diameter of paraurethral glands vessels, intensification of blood flow and brightness of sonographic image during CFM in the regime of energetic Doppler carding, and was characterized by the increase in the indices of blood flow of the studied zone elements (paraurethral glands and G-spot).

The diameter of vessels in the paraurethral glands zone was between 0.17 cm and 0.21 cm in calm, and 0.39–0.41 cm – during stimulation.

Maximum systolic speed of blood flow (Vps) during CFM in calm was 8.90–11.10 cm/sec, while in sexual stimulation it was 13.90–14.10 cm/sec, resistance index (IR) – 0.60–0.62 and 0.63–0.68, respectively, pulsatility index (IP) – 1.44–1.22 and 1.61–1.72 respectively.

There were determined positive correlation and significant difference between changing of ultrasound parameters of women before and after sexual stimulation; increasing of diameter of vessels in the paraurethral zone ( $P < 0.001$ ,  $r = 0.55$ ), maximum systolic speed of blood flow ( $P < 0.001$ ,  $r = 0.4$ ) and pulsatility index ( $P < 0.05$ ,  $r = 0.2$ ), while we didn't notice any correlation and statistically significant changes in resistance index ( $P > 0.05$ ,  $r = -0.07$ ).

In the conducted research the G-spot was found in 85 (90.4 %) of the examined. G-spot was visualized in the form of spheric thickening at the front wall of vagina at the distance 3.00–6.70 cm from introitus vaginae (Fig. 10).

We have noticed, that there is no correlation between paraurethral gland's location type and investigated ultrasound parameters ( $P > 0.05$ ).

It should be noted that in every specific case the location of G-spot had its features. During ultrasound study the parameters of G-spot in calm (length – between 1.24 and 1.31 cm, width – between 0.68 cm and 0.76 cm, thickness – between 0.28 cm and 0.34 cm, volume – between 0.1 cm<sup>3</sup> and 0.2 cm<sup>3</sup>) (Fig. 11, 12, 13) and at the background of video-erotic stimulation (length – between 1.34 cm and 1.38 cm, width – between 0.75 cm and 0.84 cm, thickness – between 0.38 cm and 0.54 cm, volume – between 0.20 cm<sup>3</sup> and 0.30 cm<sup>3</sup>) (Fig. 14) were established.

## Discussion

For a long time, medical academic community, adhering to the vestigial concept, had not recognized paraurethral glands in female body as a functionally active organ. The results of research by M. Zaviacic et al., complying to the principles of interdisciplinary approach, have persuasively demonstrated the fairness of recognition of non-vestigial concept on paraurethral glands with the confirmation of the peculiarities of anatomic structure and functional activity during the whole life of a woman [3, 11, 14–16, 18, 19, 21, 23, 26].

It should be once again stated that the assessment of anatomic structure of paraurethral glands is conditioned by the list of difficulties caused by legal aspects in making autopsies [16].

At the same time there are only occasional data about clinical and paraclinical evaluation of functional activity of paraurethral glands in women of different age groups.

Results of Magnetic Resonance Imaging of paraurethral zone and ultrasound studies of urethrovaginal space accumulate, but remain non-systematic [32].

For instance, during magnetic resonance imaging of paraurethral glands in women F. Wimpissinger established the size of paraurethral glands without focusing on the types of their location [33].

The object of scientific discussion are not only anatomic and functional characteristics of paraurethral glands, but also the Grafenberg spot. In 1950 Ernst Grafenberg described an erogenous zone on the frontal wall of vagina, which for the first time was called G-spot by F. Addiego (1981) [34, 35].

The expected Grafenberg spot is, approximately located in the projection of the pelvic part of urethra, contains periglandular and paraurethral tissues [36–39].

In the opinion of Crooks and Baur, "the G-spot contains a system of glands (Skene's glands) and ducts that surround the urethra" [40].

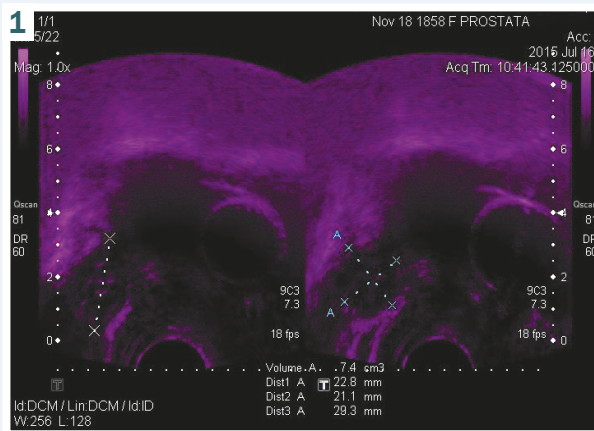
In 2008, G. L. Gravina et al. indicated that during ultrasound study of paraurethral zone the Grafenberg spot was established, but the image of this structure was not presented, which became the basis for debate [41].

In these circumstances the optimization of diagnostics of paraurethral glands and paraurethral zone is a demand of today. The methods of ultrasound study for vessels of paraurethral glands, using Doppler method, allow revealing the peculiarities of a separate anatomic formation considering the type of its localization and its character of development due to the individual features of paraurethral glands' branching. G-spot (projection of glandular tissue in relation to vagina) located in case of proximal and distal location of paraurethral glands was established in 80.4 % of the studied patients.

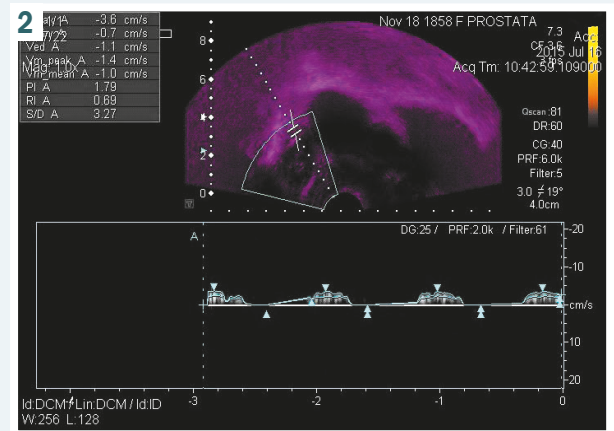
The methods of examination proposed above enhance visualization of paraurethral glands and all its parts. It gives us the opportunity to expand perception about the characteristics of this anatomic formation according to the paraurethral glands' description with different kinds of their placement, character of localization and view on G-spot.

## Conclusions

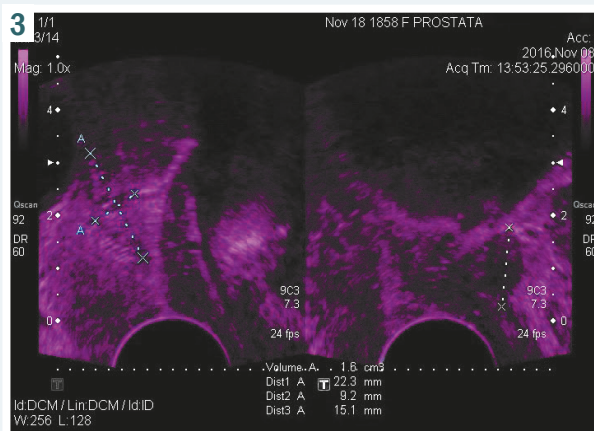
1. The ultrasound research that includes the Doppler method of paraurethral zone vessels on earlier catheterized bladder allows determining paraurethral glands as a unique anatomic formation.



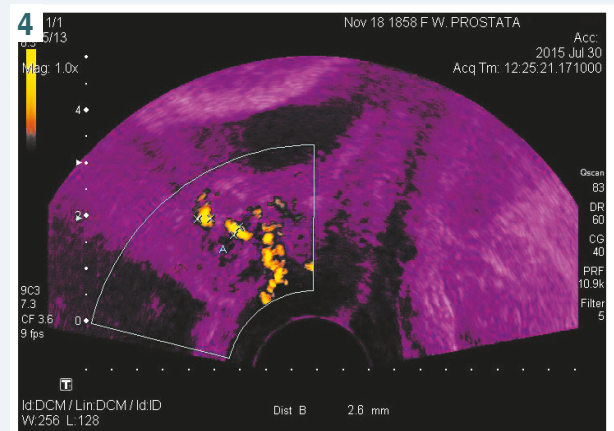
**Fig. 1.** Ultrasound study of paraurethral glands. Front type of paraurethral glands location in calm. Patient L., aged 34. In the projection of distal part of urethra an oval formation of isoechoic structure with clear margins is visualized. Size: length – 2.28 cm, width – 2.11 cm, thickness – 2.39 cm, and volume – 7.4 cm<sup>3</sup>.



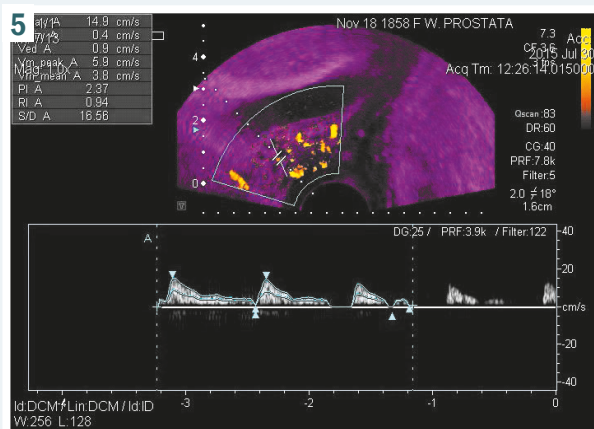
**Fig. 2.** Ultrasound study of paraurethral glands (front type) in calm with the determination of Doppler indices. Patient L. Visualization of front type of paraurethral glands in the mode of gray scale. Vps = 3.60 cm/sec; IR = 0.69; IP = 1.79.



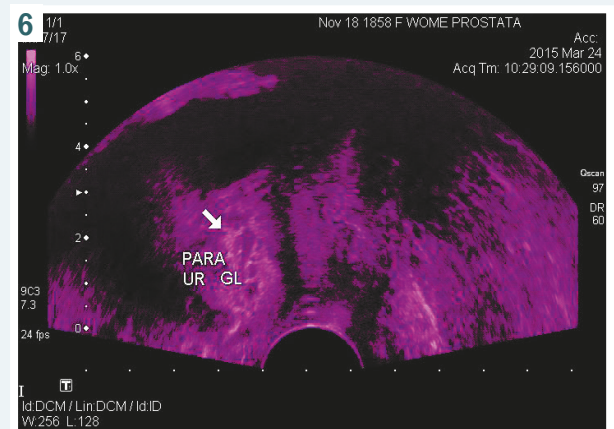
**Fig. 3.** Ultrasound study of paraurethral glands (back type) in calm. Patient P., aged 40. In the projection of proximal part of urethra an oval formation of isoechoic structure with clear margins and homogeneous structure is visualized. Size: length – 2.23 cm, width – 0.92 cm, thickness – 1.51 cm, and volume – 1.60 cm<sup>3</sup>.



**Fig. 4.** Ultrasound study of paraurethral glands (back type) with the determination of diameter of vessels at the background of video-erotic stimulation. Patient Ch., aged 34. In the projection of back urethra an oval flat formation of isoechoic structure is visualized. During CFM a clear vascular image with the diameter of vessels up to 0.26 cm was established at the background of video-erotic stimulation.



**Fig. 5.** Ultrasound study of paraurethral glands (back type) with the determination of Doppler indices of blood flow at the background of video-erotic stimulation. Patient Ch., aged 34. Back PFG type is verified. Increase in brightness of vascular image: Vps = 14.9 cm/sec; IR = 2.37.



**Fig. 6.** Ultrasound study of paraurethral glands (diffuse type) in the regime of gray scale in calm. Patient P., aged 29. Diffuse type of paraurethral glands is verified. Steady accumulation of glandular tissue along urethra.



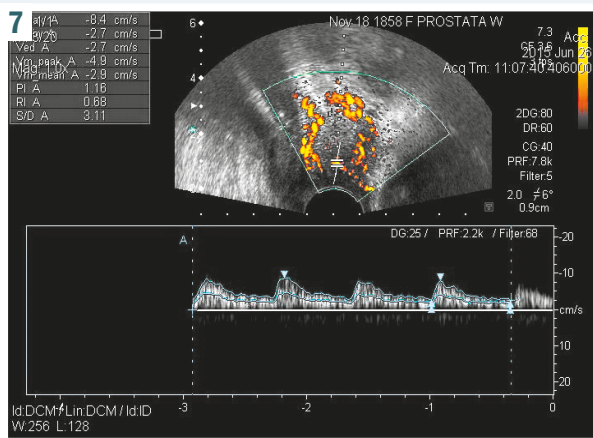


Fig. 7. Ultrasound study of paraurethral glands (diffuse type) at the background of video-erotic stimulation. Patient G., aged 30. Increase of blood flow in the stroma of paraurethral glands with the bright coloration of vascular image.

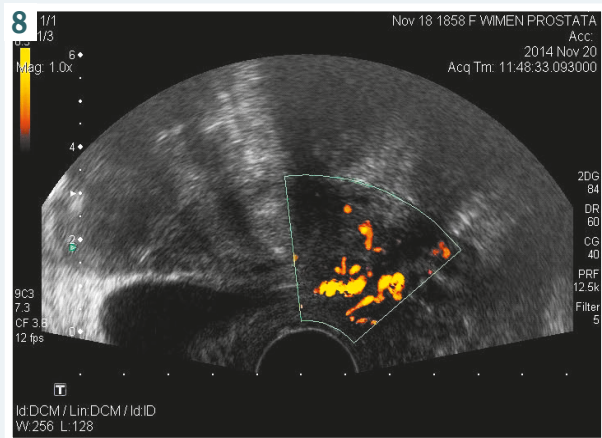


Fig. 8. Ultrasound study of paraurethral glands (diffuse type) with the determination of Doppler indices at the background of video-erotic stimulation. Patient G., aged 30. Steady accumulation of glandular tissue along urethra. Increase in blood flow in tissues of paraurethral glands with bright coloration of vascular image. Doppler indices of blood flow: Vps = 8.40 cm/sec, IR = 0.68; IP = 1.16.

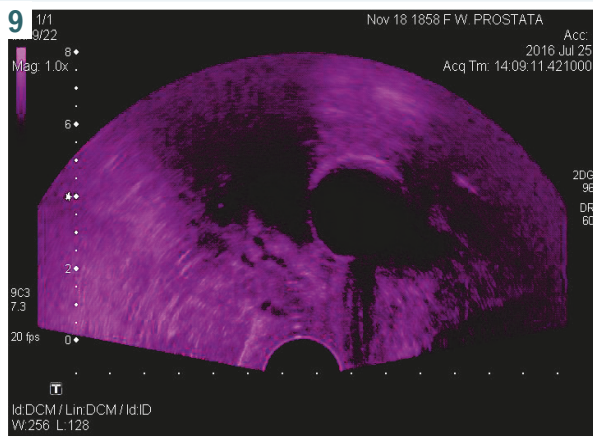


Fig. 9. Ultrasound study of paraurethral zone. Patient B., aged 33. Paraurethral glands were not verified.

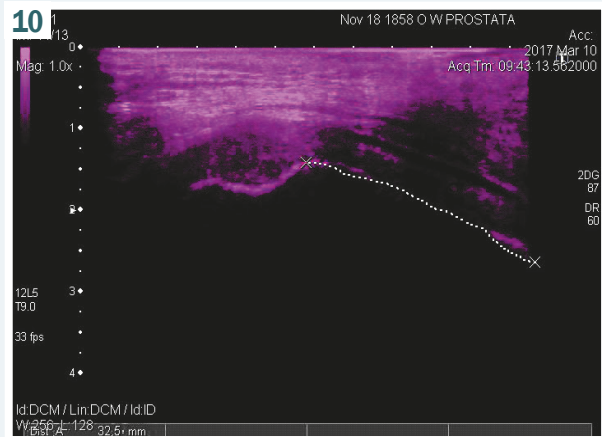


Fig. 10. Ultrasound study of G-spot in the mode of gray scale (B-regime). Patient W., aged 39. G-spot was found at the front wall of vagina as a thickened formation at the distance 3.25 cm from introitus vaginae.

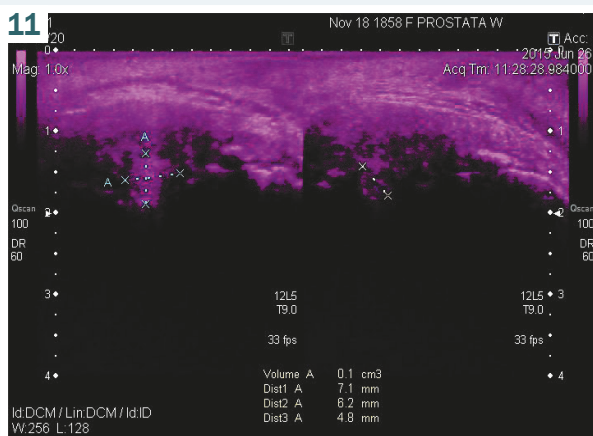


Fig. 11. Ultrasound study of G-spot in the mode of gray scale (B-regime) with the determination of its linear dimensions in calm. Patient G., aged 30. G-spot was found on the front wall of vagina in the form of thickened formation with the following size: length – 0.71 cm, width – 0.62 cm, thickness – 0.48 cm, and volume – 0.11 cm<sup>3</sup>.

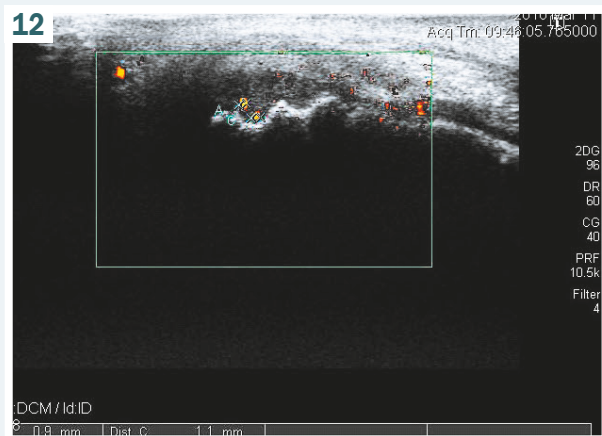
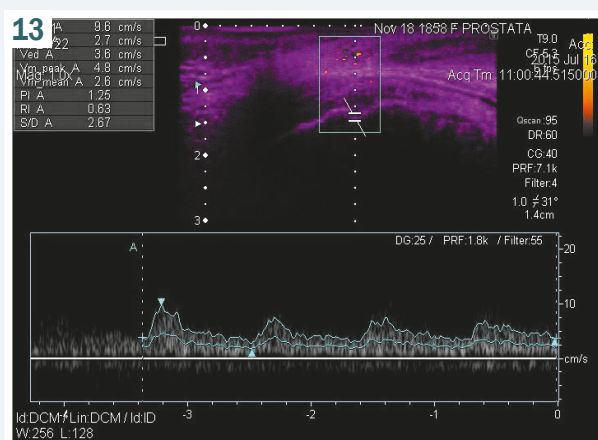
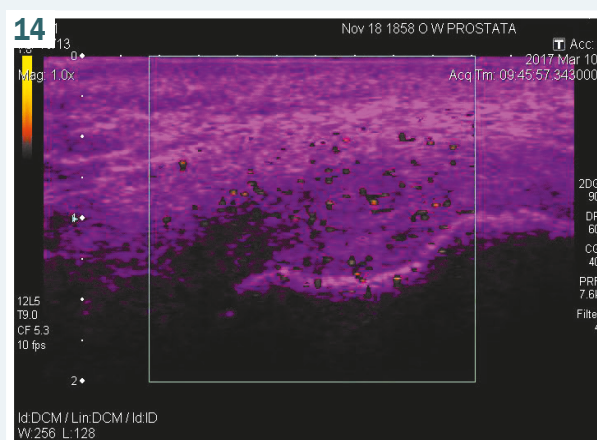


Fig. 12. Ultrasound study of G-spot in the regime of gray scale with the determination of diameter of vessels. Patient K., aged 37. In the stroma of G-spot the vessels with diameter between 0.1 cm and 0.11 cm are visualized.



**Fig. 13.** Ultrasound study of G-spot in the mode of gray scale using Doppler method of this zone vessels in calm. Patient L., aged 34. Doppler indices of blood flow in vessels of G-spot: Vps = 9.6 cm/sec, IR = 0.63, IP = 1.25.



**Fig. 14.** Ultrasound study of G-spot in the mode of gray scale using Doppler method of vessels of this zone during sexual excitement. Patient W., aged 39. In the stroma of G-spot numerous vessels are visualized. During CFM the intensification of vascular image in the form of vascular "flashes" was revealed.

2. Ultrasound investigation of paraurethral glands vessels using Doppler method in accordance with the suggested above methodology gives opportunity to identify paraurethral glands and to determine their types; as a result, we can study blood flow in paraurethral glands, G-spot both in calm and after video-erotic stimulation.

3. Consequently, the "front type" of paraurethral glands location was established in the accumulation of glandular tissue in regard to distal part of urethra in 67 (71.2 %) of the examined women. "back type" of paraurethral glands location was found in the zone of proximal part of urethra in 19 (20.2 %) of the examined women, "diffuse type" – placed along urethra in 7 (7.5 %) of the examined women, and absence in 1 (1.1 %) of the examined women.

4. Colored Doppler examination marked an increase in vascular diameter of vessels and optimization of vessels image in the area of paraurethral glands on the background of sexual stimulation during the 20–30 minutes erotic video, what is confirmed by statistical difference between investigated parameters.

5. The results of the obtained observations and their clinical illustrations allow us to draw a conclusion that using of investigated ultrasound methodology optimizes the visualization of woman's prostate gland zone and allows reaching high quality image and also allows to reach clarity of the described structures; this method of examination also allows evaluating the characteristic of blood flow.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.10.2020  
Після доопрацювання / Revised: 28.06.2021  
Прийнято до друку / Accepted: 05.07.2021

#### Information about authors:

Grygorenko V. M., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Department of Restorative Urology and New Technologies,

State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0003-3282-3709](https://orcid.org/0000-0003-3282-3709)

Romashchenko O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Chief Researcher of the Department of Restorative Urology and New Technologies, State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0002-0544-8758](https://orcid.org/0000-0002-0544-8758)

Biloholovska V. V., MD, PhD, Head of the Ultrasound Department, State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0001-9003-704X](https://orcid.org/0000-0001-9003-704X)

Kosiukhno M. O., Senior Laboratory Assistant of the Department of Restorative Urology and New Technologies, State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0003-4818-9562](https://orcid.org/0000-0003-4818-9562)

Melnykov S. M., MD, PhD, DSc, Chief Researcher of the Department of Restorative Urology and New Technologies, State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0001-8663-5995](https://orcid.org/0000-0001-8663-5995)

Klius A. L., MD, PhD, Urologist of II Urology Department, State Institution "Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0002-5001-2574](https://orcid.org/0000-0002-5001-2574)

#### Відомості про авторів:

Григоренко В. М., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу відновної урології та новітніх технологій, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

Ромашченко О. В., д-р мед. наук, професор, головний науковий співробітник відділу відновної урології та новітніх технологій, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

Білоholовська В. В., канд. мед. наук, зав. відділення ультразвукової діагностики, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

Косюхно М. О., старший лаборант відділу відновної урології та новітніх технологій, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

Мельников С. М., д-р мед. наук, головний науковий співробітник відділу відновної урології та новітніх технологій, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

Клюс А. Л., канд. мед. наук, лікар-уролог II урологічного відділення, ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ.

#### Сведения об авторах:

Григоренко В. Н., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, зав. отделом восстановительной урологии и новейших технологий, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.

Ромашенко О. В., д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник отдела восстановительной урологии и новейших технологий, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.  
Белоголовская В. В., канд. мед. наук, зав. отделением ультразвуковой диагностики, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.  
Косюхно М. А., старший лаборант отдела восстановительной урологии и новейших технологий, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.  
Мельников С. Н., д-р мед. наук, главный научный сотрудник отдела восстановительной урологии и новейших технологий, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.  
Клюс А. Л., канд. мед. наук, врач-уролог II урологического отделения, ГУ «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев.

## References

- [1] Biancardi, M. F., Dos Santos, F. C., de Carvalho, H. F., Sanches, B. D., & Taboga, S. R. (2017). Female prostate: historical, developmental, and morphological perspectives. *Cell Biology International*, 41(11), 1174-1183. <https://doi.org/10.1002/cbin.10759>
- [2] Evatt E. J. (1911). A Contribution to the Development of the Prostate Gland in the Human Female, and a Study of the Homologies of the Urethra and Vagina of the Sexes. *Journal of anatomy and physiology*, 45(Pt 2), 122-130.
- [3] Zaviacic, M., Jakubovská, V., Belosovic, M., & Breza, J. (2000). Ultrastructure of the normal adult human female prostate gland (Skene's gland). *Anatomy and embryology*, 201(1), 51-61. <https://doi.org/10.1007/pl00022920>
- [4] Santos, F. C. A., & Taboga, S. R. (2018). Female prostate: a review about the biological repercussions of this gland in humans and rodents. *Animal Reproduction*, 3(1), 3-18.
- [5] Chen, Y., Zhao, J. Z., Feng, R. E., Shi, J. H., Li, X. M., Fei, Y. Y., Shi, Y., Zhang, W., & Zhang, F. C. (2016). Types of Organ Involvement in Patients with Immunoglobulin G4-related Disease. *Chinese medical journal*, 129(13), 1525-1532. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.184459>
- [6] De Graaf R. (1672). De mulierum organis generationi inservientibus. Tractatus novus demonstranstamhomines et animalia caetera omnia, quae viviparadicuntur, haud minus quam vivipara abovooriginem ducere. Leyden.
- [7] Zaviacic, M., Zaviacicová, A., Brozman, M., Holomán, I. K., Bruchac, D., Oberucová, J., & Kokavec, M. (1985). Prostata ženy alebo Skeneove žľazy a vývody? (Dôvody pre návrat k pôvodnému termínu De Graafe) [The female prostate or Skene's glands and ducts? (Reasons for returning to De Graaf's original term)]. *Ceskoslovenska gynekologie*, 50(5), 372-377.
- [8] Korda, J. B., Goldstein, S. W., & Sommer, F. (2010). The history of female ejaculation. *The journal of sexual medicine*, 7(5), 1965-1975. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.01720.x>
- [9] Skene, A. J. C. (1880). *The anatomy and pathology of two important glands of the female urethra*. NY: William Wood & Co. <http://resource.nlm.nih.gov/101316080>
- [10] Ribatti D. (2019). Rudolf Virchow, the founder of cellular pathology. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie*, 60(4), 1381-1382.
- [11] Zaviacic, M. (1999). *The human female prostate : from vestigial Skene's paraurethral glands and ducts to woman's functional prostate*. Slovak Academic Press. <https://doi.org/10.1023/A:1019852411051>
- [12] Gittes, R. F. (2002). Female prostatitis. *The Urologic clinics of North America*, 29(3), 613-616. [https://doi.org/10.1016/s0094-0143\(02\)00062-9](https://doi.org/10.1016/s0094-0143(02)00062-9)
- [13] Johnson, F. P. (1922). The homologie of the prostate in the female. *The Journal of Urology*, 8(1), 13-33. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)3790-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)3790-1)
- [14] Zaviacič, M., Ablin, R., Ružič, M., Štvrtina, S., Galbavý, Š., Danihel, L., Pohlodek, K., Zaviacič, T., & Holomán, K. (2000). Immunohistochemical study of prostate-specific antigen in normal and pathological human tissues: Special reference to the male and female prostate and breast. *Journal of Histotechnology*, 23(2), 105-111. <https://doi.org/10.1179/his.2000.23.2.105>
- [15] Zaviacic, M., & Ablin, R. J. (2000). The female prostate and prostate-specific antigen. Immunohistochemical localization, implications of this prostate marker in women and reasons for using the term "prostate" in the human female. *Histology and histopathology*, 15(1), 131-142. <https://doi.org/10.14670/HH-15.131>
- [16] Zaviacic, M., Zaviacic, T., Ablin, R. J. & Holoman, J. (2001). The human female prostate: history, functional morphology and sexology implications. *Sexologies*, 11, 44-49.
- [17] Taboga, S. R., Góes, R. M., Zanetoni, C., & Santos, F. C. A. (2001). Ultrastructural characterization of the prostate secretory cells. A comparative study between the male and female organs. *Acta Microscopica*, 3, 205. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2003.12.008>
- [18] Zaviacic, M. (1987). The female prostate: nonvestigial organ of the female. A reappraisal. *Journal of sex & marital therapy*, 13(2), 148-152. <https://doi.org/10.1080/00926238708403888>
- [19] Zaviacič, M., Zajičková, M., Blažeková, J., Donárová, L., Štvrtina, S., Mikulecký, M., Zaviacič, T., Holomán, K., & Breza, J. (2000). Weight, Size, Macroanatomy, and Histology of the Normal Prostate in the Adult Human Female: A Minireview. *Journal of Histotechnology*, 23(1), 61-69. <https://doi.org/10.1179/his.2000.23.1.61>
- [20] Huffman, J. W. (1948). The detailed anatomy of the para-urethral ducts in the adult human female. *American journal of obstetrics and gynecology*, 55(1), 86-101. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(48\)90157-4](https://doi.org/10.1016/0002-9378(48)90157-4)
- [21] Zaviacic, M., Brozman, M., Zajičková, M., Blažeková, J., & Oberucová, J. (1985). The adult human female urethra. Enzyme-histochemical study. *Acta histochemica*, 77(2), 165-175. [https://doi.org/10.1016/S0065-1281\(85\)80078-7](https://doi.org/10.1016/S0065-1281(85)80078-7)
- [22] Wernert, N., Albrecht, M., Sesterhenn, I., Goebbels, R., Bonkhoff, H., Seitz, G., Inniger, R., & Remberger, K. (1992). The 'female prostate': location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *European urology*, 22(1), 64-69. <https://doi.org/10.1159/000474724>
- [23] Zaviacic, M., & Whipple, B. (1993). Update on the female prostate and the phenomenon of female ejaculation. *Journal of Sex Research*, 30(2), 148-151. <https://doi.org/10.1080/0022449309551695>
- [24] Perry, J. D., & Whipple, B. (1981). Pelvic muscle strength of female ejaculators: Evidence in support of a new theory of orgasm. *Journal of Sex Research*, 17(1), 22-39. <https://doi.org/10.1080/00224498109551095>
- [25] Wimpissinger, F., Stifter, K., Grin, W., & Stackl, W. (2007). The female prostate revisited: perineal ultrasound and biochemical studies of female ejaculate. *The journal of sexual medicine*, 4(5), 1388-1393. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2007.00542.x>
- [26] Zaviacic, M., Ružicková, M., Jakubovský, J., Danihel, L., Babál, P., & Blažeková, J. (1994). Výnam prostatických markerov v ortológii ženskej prostaty [The significance of prostate markers in the orthology of the female prostate]. *Bratislavské lekárske listy*, 95(11), 491-497.
- [27] Cartwright, R., Elvy, S., & Cardozo, L. (2007). Do women with female ejaculation have detrusor overactivity?. *The journal of sexual medicine*, 4(6), 1655-1658. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2007.00541.x>
- [28] Engloff, B. (1972). Pathologische anatomie der weiblichen urethra. In *Vulva, Vagina, Urethra* (pp. 433-488). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [29] Inomata, T., Ninomiya, H., Somiya, H., Saito, H., & Mochizuki, K. (1992). Histological observation on the female prostate in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Jikken dobutsu. Experimental animals*, 41(3), 383-386. [https://doi.org/10.1538/expanim1978.41.3\\_383](https://doi.org/10.1538/expanim1978.41.3_383)
- [30] Rodríguez, D., de Lima, R. F., Campos, M. S., Costa, J. R., Biancardi, M. F., Marques, M. R., Taboga, S. R., & Santos, F. C. (2016). Intrauterine exposure to bisphenol A promotes different effects in both neonatal and adult prostate of male and female gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Environmental toxicology*, 31(12), 1740-1750. <https://doi.org/10.1002/tox.22176>
- [31] Romashchenko, O. V., Hryhorenko, V. M., Biloholovska, V. V., Melnykov, S. M., & Kosiukhno, M. O. (2019). *Spisib identifikatsii typu zhinochoi peredmikhuurovoi zalozy* [Method for identifying the type of female prostate gland]. Ukraine Patent UA 120007.
- [32] Itani, M., Kielar, A., Menias, C. O., Dighe, M. K., Surabhi, V., Prasad, S. R., O'Malley, R., Gangadhar, K., & Lawani, N. (2016). MRI of female urethra and periurethral pathologies. *International urogynecology journal*, 27(2), 195-204. <https://doi.org/10.1007/s00192-015-2790-x>
- [33] Wimpissinger, F., Tscherny, R., & Stackl, W. (2009). Magnetic resonance imaging of female prostate pathology. *The journal of sexual medicine*, 6(6), 1704-1711. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2009.01287.x>
- [34] Grafenberg, E. (1950). The role of the urethra in female orgasm. *International Journal of Sexology*, 3(2), 145-149.
- [35] Addiego, F., Belzer Jr, E. G., Comolli, J., Moger, W., Perry, J. D., & Whipple, B. (1981). Female ejaculation: A case study. *Journal of Sex Research*, 17(1), 13-21. <https://doi.org/10.1080/00224498109551094>
- [36] Goldstein, I., Clayton, A. H., Goldstein, A. T., Kim, N. N., & Kingsberg, S. A. (Eds.). (2018). *Textbook of female sexual function and dysfunction: Diagnosis and treatment*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119266136.fmatter>
- [37] Buisson, O. (2010). Le point G ou l'absence de médecine sexuelle féminine [The G-spot and lack of female sexual medicine]. *Gynécologie, obstétrique & fertilité*, 38(12), 781-784. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2010.10.005>
- [38] Buisson, O., Folds, P., & Paniel, B. J. (2008). Sonography of the clitoris. *The journal of sexual medicine*, 5(2), 413-417. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2007.00699>
- [39] Buisson, O., Folds, P., Jannini, E., & Mimoun, S. (2010). Coitus as revealed by ultrasound in one volunteer couple. *The journal of sexual medicine*, 7(8), 2750-2754. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2010.01892.x>
- [40] Crooks, R., & Baur, K. (1999). *Our sexuality* (7th ed.). New York: Brooks/Cole.
- [41] Gravina, G. L., Brandetti, F., Martini, P., Carosa, E., Di Stasi, S. M., Morano, S., Lenzi, A., & Jannini, E. A. (2008). Measurement of the thickness of the urethrovaginal space in women with or without vaginal orgasm. *The journal of sexual medicine*, 5(3), 610-618. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2007.00739.x>

# Вплив цитомегаловірусу на клініко-параклінічні та імунні параметри дітей, які хворі на ротавірусну інфекцію

М. Ю. Слєпченко  \*B,C,D, С. В. Кузнєцов  A,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

**Мета роботи** – оцінити вплив цитомегаловірусу на клініко-параклінічні та імунологічні параметри в дітей, які хворі на ротавірусну інфекцію (РВІ).

**Матеріали та методи.** Обстежили 50 дітей віком 1–3 роки, які хворі на середньої тяжкості та тяжкі форми кишкової інфекції ротавірусної етіології. Всіх дітей обстежили на наявність інфікування вірусами герпесу 1, 2, 4, 5, 6 типів. Методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначали рівень специфічних Ig G і Ig M до вірусів герпесу 1, 2, 4, 5, 6 типів. У разі позитивного результату тесту методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) визначали наявність ДНК (якісно) названих герпесвірусів. У 1 групи (моно-РВІ), яку визначили як референсну, залучили 33 дитини, в котрих не виявили інфікування жодним із наведених вірусів групи герпес. У 2 групи ввійшли 17 пацієнтів із РВІ на тлі інфікування цитомегаловірусом (ЦМВ), інфікування іншими вірусами групи герпес виключене. Аналізували показники імунної відповіді (CD 3+, CD 4+, CD 8+, CD 16+, CD 22+, Ig A, Ig M, Ig G, ІЛ 1β, 4, ФНП-α) у гострий період захворювання та в період реконвалесценції.

Якісні показники наведені як абсолютне та відносне (%) значення. Вірогідність відмінностей визначали за допомогою тесту  $\chi^2$  Пірсона (Pearson's Chi-squared test). Кількісні показники наведені як медіана (Me) та нижній (LQ) і верхній (UQ) квартилі. Вірогідність відмінностей кількісних показників у двох непов'язаних групах визначали за допомогою U-тесту Манна–Вітні (Mann–Whitney U-test). Порогове значення рівня вірогідності – 0,05.

**Результати.** Аналіз результатів дослідження показав: у гострому періоді РВІ інфікування дітей ЦМВ призводить до нижчих показників температурної реакції, меншої кратності блювоти, подовження терміну госпіталізації, зменшення вмісту лейкоцитів, CD 16+ (%) клітин і показника імунорегуляторного індексу (CD 4+/CD 8+) на тлі збільшення рівнів моноцитів, CD 8+ (%) Т-лімфоцитів, концентрації ІЛ-4 та ФНП-α. У період реконвалесценції наявність ЦМВ асоціюється зі збільшенням тривалості лихоманки та діареї, вмісту моноцитів, CD 8+ (%) Т-клітин, концентрації ІЛ-4, ФНП-α та нижчими показниками імунорегуляторного індексу, вмісту CD 16+ (%), CD 22+ (%) Т-клітин і Ig M.

**Висновки.** Латентна цитомегаловірусна інфекція в дітей, які хворі на ротавірусний гастроентерит, вірогідно впливає на низку клініко-параклінічних та імунних показників, що призводить до зменшення інтенсивності клінічних проявів у гострий період захворювання та пролонгації окремих симптомів у період реконвалесценції.

## Ключові слова:

діти, цитомегаловірус, ротавірусний гастроентерит.

Патологія. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 211-217

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

## The effect of cytomegalovirus on clinical and paraclinical as well as immune parameters of children with rotavirus infection

M. Yu. Sliepchenko, S. V. Kuznietsov

**The aim** is to evaluate the effect of cytomegalovirus on clinical and paraclinical as well as immunological parameters in children with rotavirus infection (RVI).

**Materials and methods.** 50 children aged one to three years, patients with moderate and severe intestinal infections of rotavirus etiology were examined. All children were examined for herpes virus infections types 1, 2, 4, 5, 6. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the level of specific Ig G and Ig M for herpes viruses types 1, 2, 4, 5, 6, and in the case of a positive test, polymerase chain reaction (PCR) determined the presence of DNA (qualitatively) of these herpesviruses. Group 1 (mono-RVI), which was taken as a reference, included 33 children in whom no infection with any of these viruses of the herpes group was detected. Group 2 included 17 patients who underwent RVI on the background of CMV infection, the presence of infection with other viruses of the herpes group was excluded. Immune response parameters (CD 3+, CD 4+, CD 8+, CD 16+, CD 22+, Ig A, Ig M, Ig G, IL 1β, 4, TNF-α) in the acute period of the disease and in the period of convalescence were analyzed.

Qualitative indicators were given in the form of absolute and relative (%) value. Significance of differences was determined using Pearson's  $\chi^2$  test (Pearson's Chi-squared test). Quantitative indicators were given in the form of median (Me) and values of lower (LQ) and upper (UQ) quartiles. The significance of differences in quantitative indicators in two unrelated groups was determined using the Mann–Whitney U-test. The threshold value of the confidence level was taken as 0.05.

**Results.** The analysis of the obtained data allows to establish that in the acute period of RVI infection in children with CMV leads to lower figures of temperature reaction, lower vomiting rate, prolongation of hospitalization, along with decrease in leukocytes, CD 16+ (%) cells and immunoregulatory index (CD 4+/CD 8+) against the background of increased levels of monocytes, CD 8+ (%) T-lymphocytes, concentrations of IL-4 and TNF-α. During convalescence, the presence of CMV is associated with an increase in the duration of fever and diarrhea, an increase in monocytes, CD 8+ (%) T cells, concentrations of IL-4, TNF-α and lower figures of immunoregulatory index, CD 16+ (%), CD 22+ (%) T cells and Ig M.

## Key words:

children, cytomegalovirus, rotavirus gastroenteritis.

Pathologia 2021; 18 (2), 211-217

**Conclusions.** Latent cytomegalovirus infection in children with rotavirus gastroenteritis significantly affects a number of clinical and paraclinical as well as immune parameters, which leads to a decrease in the intensity of clinical manifestations in the acute period of the disease and the prolongation of some symptoms during convalescence.

**Ключевые слова:**  
дети,  
цитомегаловирус,  
ротавирусный  
гастроэнтерит.

**Патологія. 2021.**  
**Т. 18, № 2(52).**  
**С. 211-217**

## Влияние цитомегаловируса на клинико-параклинические и иммунные параметры детей, больных ротавирусной инфекцией

М. Ю. Слепченко, С. В. Кузнецов

**Цель работы** – оценить влияние цитомегаловируса на клинико-параклинические и иммунологические параметры детей, больных ротавирусной инфекцией (РВИ).

**Материалы и методы.** Обследовали 50 детей в возрасте 1–3 года, больных средней тяжести и тяжелыми формами кишечной инфекции ротавирусной этиологии. Всех детей обследовали на наличие инфицирования вирусами герпеса 1, 2, 4, 5, 6 типов. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровни специфических Ig G и Ig M к вирусам герпеса 1, 2, 4, 5, 6 типов. В случае положительного результата теста методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), определяли наличие ДНК (качественно) указанных герпесвирусов. В 1 группу (моно-РВИ), которую взяли как референтную, включили 33 ребенка, у которых не установлено инфицирование ни одним из названных вирусов группы герпес. Во 2 группу вошли 17 больных, которые перенесли РВИ на фоне инфицирования цитомегаловируса (ЦМВ), инфицирование другими вирусами группы герпес исключено. Анализировали показатели иммунного ответа (CD 3+, CD 4+, CD 8+, CD 16+, CD 22+, Ig A, Ig M, Ig G, ИЛ 1β, 4, ФНО-α) в острый период заболевания и в период реконвалесценции.

Качественные показатели представлены в виде абсолютных и относительных (%) значений. Достоверность различий определяли с помощью теста  $\chi^2$  Пирсона (Pearson's Chi-squared test). Количественные показатели представлены в виде медианы (Me) и нижнего (LQ) и верхнего (UQ) квартилей. Достоверность различий количественных показателей в двух несвязанных группах определяли с помощью U-теста Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Пороговое значение уровня достоверности – 0,05.

**Результаты.** Анализ результатов исследования показал: в остром периоде РВИ инфицирование детей ЦМВ приводит к более низким показателям температурной реакции, меньшей кратности рвоты, пролонгации сроков госпитализации, снижению содержания лейкоцитов, показателя иммунорегуляторного индекса (CD 4+/CD 8+) и CD 16+ (%) клеток на фоне повышения уровня моноцитов, CD 8 + (%) Т-лимфоцитов, концентрации ИЛ-4 и ФНО-α. В период реконвалесценции наличие ЦМВ ассоциируется с увеличением продолжительности лихорадки и диареи, увеличением содержания моноцитов, CD 8+ (%) Т-клеток, концентрации ИЛ-4, ФНО-α и меньшими показателями иммунорегуляторного индекса, содержания CD 16+ (%), CD 22+ (%) Т-клеток и Ig M.

**Выводы.** Латентная цитомегаловирусная инфекция у детей, больных ротавирусным гастроэнтеритом, достоверно влияет на ряд клинико-параклинических и иммунных показателей, что приводит к уменьшению интенсивности клинических проявлений в острый период заболевания и пролонгации некоторых симптомов в период реконвалесценции.

За даними ВООЗ, ротавірусна інфекція (РВИ) – найчастіша причина діареї в дітей раннього віку [1,2]. Інша актуальна проблема сучасної інфектології – поширеність інфікування дітей вірусами групи герпес, зокрема цитомегаловірусом (ЦМВ) [3,4]. Чимало дослідників вивчають механізми взаємодії ЦМВ та імунної системи [5–7]. Так, група авторів із Кейптаунського та Оксфордського університетів встановила, що наявність інфікування ЦМВ є фактором ризику розвитку туберкульозу в дітей [8]. Інші науковці визначили, що високий рівень ДНК ЦМВ у слизовій оболонці товстого кишечника – незалежний предиктор неефективності терапії кортикостероїдами в пацієнтів із неспецифічним виразковим колітом [9]. Дослідники з Великої Британії встановили нижчі титри захисних антитіл у відповідь на вакцинацію проти лихоманки Ебола, у ЦМВ(+) молодих осіб, ніж у ЦМВ(-), що асоціюється з імуносупресивним впливом ЦМВ на імунну систему організму хазяїна [10]. Furman D. et al. зробили висновки, що у молодих людей, інфікованих ЦМВ, спостерігають кращу відповідь на вакцинацію проти грипу, ніж у неінфікованих, що свідчить про імуномодельований ефект ЦМВ [11].

За даними О. В. Усачової та Р. К. Бабік, наявність ЦМВ у дітей із ротавірусною інфекцією асоціюється з

більш тривалим перебігом захворювання, збільшенням умістом нейтрофілів і моноцитів на тлі зниженого фагоцитарного числа [12,13]. Щодо імунних показників дітей із вірусними кишковими інфекціями, які перебігають на тлі інфікування ЦМВ, виявлено дещо нижчі рівні CD 3+, CD 4+, CD 16+ Т-клітин [13].

Аналіз сучасних досліджень дає підстави вважати інфікування цитомегаловірусом фактором, який змінює імунну відповідь організму, може бути тригером розвитку інших захворювань та впливати на їхній перебіг [8,10,13,14]. Але висновки дослідників щодо характеру впливу ЦМВ різняться, що підтверджує актуальність досліджень з цієї теми.

### Мета роботи

Оцінити вплив цитомегаловірусу на клініко-параклінічні та імунологічні параметри в дітей, які хворі на ротавірусну інфекцію.

### Матеріали і методи дослідження

Для реалізації поставленої мети обстежили 50 дітей віком 1–3 роки, які хворі на середньої тяжкості та тяжкі форми кишкової інфекції ротавірусної етіології, які

перебували на лікуванні в КНП ХОР «Обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня» (м. Харків). Пацієнтів поділили на 2 групи: перша – 33 дитини, які не мали фонового інфікування герпесвірусами (моно-РВІ), друга – 17 пацієнтів, в яких діагностовано РВІ на тлі латентної ЦМВ інфекції (мікст-РВІ). Групи дослідження зіставні за статтю, віком дітей, тяжкістю захворювання та іншими параметрами. У першу групу залучили 15 (45,5 %) дівчат і 18 (54,5 %) хлопців, у другу – 10 (58,8 %) дівчат і 7 (41,2 %) хлопців,  $\chi^2 = 1,666$ ,  $p = 0,197$ . РВІ середньо-важкої форми діагностували в 15 (45,5 %) дітей першої групи та 9 (52,9 %) другої; тяжкий перебіг мали 18 (54,50 %) пацієнтів першої групи та 8 (47,1 %) другої,  $\chi^2 = 0,252$ ,  $p = 0,616$ . Медіанний показник віку у 1 групі – 23,0 [19,0; 26,0] міс., у 2 групі – 24,0 [20,5; 32,5] міс.,  $p = 0,257$ .

Діагноз РВІ верифікували за допомогою виділення ротавірусного антигена з калових мас хворих методом імуноферментного аналізу (ІФА) і відповідних антитіл класу Ig M із крові.

Усіх дітей обстежили на наявність інфікування вірусами герпесу 1, 2, 4, 5, 6 типів. Методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначали рівень специфічних Ig G та Ig M до вірусів герпесу 1, 2, 4, 5, 6 типів. У разі позитивного результату тесту методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) визначали наявність ДНК (якісно) названих герпесвірусів. У 1 групу (моно-РВІ), яку визначили як референсу, залучили дітей, у котрих не виявили інфікування жодним із наведених вірусів групи герпес. У 2 групу включили хворих, в яких діагностували РВІ на тлі інфікування ЦМВ, інфікування іншими вірусами групи герпес виключене.

Крім клініко-лабораторного обстеження, в гострому періоді (1–3 доба) та в період реконвалесценції (8–10 доба) в сироватці крові хворих визначали вміст CD 3+, CD 4+, CD 8+, CD 16+ та CD 22+ лімфоцитів методом імунофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл (ГРАНУМ, Україна). Вміст імуноглобулінів (Ig) класу А, М, G (Ig A, Ig M, Ig G) визначали за допомогою двосайтового імуноферментного аналізу (ГРАНУМ, Україна). Рівні інтерлейкінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ФНП- $\alpha$ ) сироватки крові визначали твердофазним імуноферментним методом («Novamedline», ФРН).

Обстеження пацієнтів виконували, якщо батьки надавали письмову інформовану згоду. Комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 7 від 11 вересня 2018 р.) встановлено: методи дослідження відповідають чинному законодавству України та міжнародним етичним вимогам, не порушують етичних норм у науці та стандартів здійснення біомедичних досліджень.

Характер розподілу кількісних ознак оцінювали візуальним графічним методом і з використанням критерію Шапіро–Вілкі (Shapiro–Wilk's test of normality). Оскільки оцінювання показників встановило суттєві відмінності від нормального характеру розподілу, в розрахунках використовували непараметричні статистичні методи. Якісні показники наведені як абсолютне та відносне (%) значення. Вірогідність відмінностей визначали за допомогою тесту  $\chi^2$  Пірсона (Pearson's Chi-squared test). Кількісні показники наведені як медіана (Me) та нижній (LQ) і верхній (UQ) квартилі.

**Таблиця 1.** Характеристика клінічних проявів РВІ в дітей, які не інфіковані та інфіковані цитомегаловірусом, Me [LQ; UQ]

Показники, одиниці вимірювання	1 група (n = 33)	2 група (n = 17)	p
Термін госпіталізації, дб	2,0 [1,0; 2,0]	2,0 [2,0; 3,0]	0,015
Максимальна температура, °C	38,9 [38,8; 39,2]	38,6 [38,3; 39,0]	0,004
Тривалість лихоманки протягом хвороби, дб	3,0 [2,0; 3,5]	4,0 [4,0; 5,0]	<0,001
Тривалість субфебрильної лихоманки, дб	1,0 [1,0; 1,0]	2,0 [1,0; 2,0]	0,001
Мах кратність блювоти, разів/добу	4,0 [3,0; 5,0]	2,0 [2,0; 3,5]	0,009
Тривалість блювоти, дб	1,0 [1,0; 2,0]	1,0 [1,0; 1,0]	0,099
Кратність діареї, разів/доба	5,0 [4,5; 6,0]	5,0 [4,5; 6,0]	0,717
Тривалість діареї, дб	3,0 [3,0; 4,0]	5,0 [4,0; 6,0]	<0,001
Тривалість катарального синдрому, дб	3,0 [3,0; 4,0]	4,0 [3,0; 4,0]	0,234

Вірогідність відмінностей кількісних показників у двох непов'язаних групах визначали за допомогою U-тесту Манна–Вітні (Mann–Whitney U-test). Критичним значенням p вважали 0,05. Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою пакета прикладних програм IBM SPSS 25.0® для Windows® (Trial version).

## Результати

Під час аналізу терміну госпіталізації пацієнтів обох груп встановили: пацієнти 2 групи надходили у стаціонар пізніше порівняно з хворими 1 групи (2,0 [2,0; 3,0] і 2,0 [1,0; 2,0] доби,  $p = 0,015$ ) (табл. 1). У дітей, інфікованих ЦМВ, порівняно з пацієнтами з моно-РВІ зареєстрували вірогідно нижчі показники температурної реакції (38,6 [38,3; 39,0] та 38,9 [38,8; 39,2] °C,  $p = 0,004$ ), меншу кратність блювоти (2,0 [2,0; 3,5] і 4,0 [3,0; 5,0] разів на добу,  $p = 0,009$ ), що свідчить про менш виражені клінічні симптоми РВІ у дебюті захворювання у хворих, інфікованих ЦМВ, та, ймовірно, зумовлює пізніше надходження в стаціонар. У хворих 2 групи зафіксували вірогідно триваліші лихоманку та діарейний синдром. Так, тривалість фебрильної та субфебрильної лихоманки в хворих 2 групи щодо дітей 1 групи становила 4,0 [4,0; 5,0] і 3,0 [2,0; 3,5] доби ( $p < 0,001$ ) та 2,0 [1,0; 2,0] і 1,0 [1,0; 1,0] доби ( $p = 0,001$ ), а термін збереження діарейного синдрому в дітей 2 групи майже в 1,5 раза триваліший, ніж у хворих 1 групи (5,0 [4,0; 6,0] і 3,0 [3,0; 4,0] доби відповідно,  $p < 0,001$ ).

За іншими клінічними показниками, як-от кратність діареї, тривалість блювоти й катарального синдрому, вірогідні відмінності груп порівняння не виявили (табл. 1).

За даними, що наведені в таблиці 2, загальна тенденція змін показників клінічного аналізу крові протягом захворювання в обох групах має односпрямований характер, між окремими параметрами встановили вірогідні відмінності. Так, у гострий період захворювання в дітей із латентною ЦМВ інфекцією визначили нижчі рівні лейкоцитів щодо хворих 1 групи (7,3 [4,6; 8,7] і 9,1 [7,5; 10,5]  $10^9/л$ ,  $p = 0,008$ ), підвищений відносний вміст моноцитів (4,00 [2,50; 4,50] та 2,00 [2,00; 3,00] %,  $p = 0,002$ ). У період ранньої реконвалесценції єдиний показник, що мав вірогідні відмінності у хворих 2 групи порівняно з дітьми 1 групи, – відносний вміст моноцитів, який був майже в 1,5 раза більшим у дітей із латентною ЦМВ інфекцією (6,00 [4,50; 6,50] та 4,00

**Таблиця 2.** Характеристика показників клінічного аналізу крові дітей, які не інфіковані та інфіковані цитомегаловірусом, протягом захворювання, Ме [LQ; UQ]

Показники, одиниці вимірювання	Моно-РВІ (n = 33)		РВІ та ЦМВ (n = 17)		p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
	ГП	ПР	ГП	ПР		
Еритроцити, ×10 <sup>12</sup> /л	4,0 [3,9; 4,2]	4,5 [4,2; 4,8]	4,1 [4,0; 4,3]	4,4 [4,2; 4,7]	0,240	0,466
Гемоглобін, г/л	112,0 [108,5; 120,0]	120,0 [116,0; 123,5]	118,0 [114,0; 120,5]	123,0 [119,0; 126,0]	0,098	0,207
Лейкоцити, ×10 <sup>9</sup> /л	9,1 [7,5; 10,5]	5,6 [5,1; 6,4]	7,3 [4,6; 8,7]	5,8 [5,3; 7,0]	0,008	0,238
П/я нейтрофіли, %	2,0 [1,0; 2,0]	2,0 [1,0; 2,0]	2,0 [1,0; 2,0]	2,0 [1,0; 2,0]	0,935	0,490
С/я нейтрофіли, %	32,0 [32,0; 41,0]	30,0 [28,0; 34,0]	36,0 [24,0; 48,5]	29,0 [26,5; 31,5]	0,806	0,275
Еозинофіли, %	1,0 [1,0; 1,0]	2,0 [1,5; 2,0]	1,0 [1,0; 2,0]	2,0 [1,0; 2,5]	0,078	0,665
Лімфоцити, %	63,0 [53,0; 70,0]	63,0 [60,0; 65,0]	59,0 [43,5; 68,0]	62,0 [59,5; 64,0]	0,460	0,504
Моноцити, %	2,0 [2,0; 3,0]	3,0 [3,0; 4,0]	4,0 [2,5; 4,5]	6,0 [4,5; 6,5]	0,002	<0,001
ШОЕ, мм/год	9,0 [6,0; 13,0]	8,00 [6,0; 10,5]	8,0 [5,5; 14,5]	8,0 [5,0; 10,0]	0,894	0,797

p<sub>1</sub>: між показниками 1 і 2 груп у гострий період захворювання; p<sub>2</sub>: між показниками 1 та 2 груп у період ранньої реконвалесценції.

**Таблиця 3.** Характеристика показників імунної відповіді дітей, які не інфіковані та інфіковані цитомегаловірусом, протягом захворювання, Ме [LQ; UQ]

Показники, одиниці вимірювання	Моно-РВІ (n = 33)		РВІ та ЦМВ (n = 17)		p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
	ГП	ПР	ГП	ПР		
Лімфоцити, абс	5,2 [3,4; 6,5]	3,5 [2,9; 3,9]	5,4 [4,2; 6,3]	4,1 [3,4; 5,3]	0,774	0,025
CD 3+, %	59,0 [55,5; 66,0]	63,0 [59,0; 66,0]	60,0 [56,0; 65,5]	64,0 [61,0; 66,0]	0,951	0,593
CD 3+, abs.	3,2 [2,2; 3,8]	2,1 [1,7; 2,5]	3,3 [2,3; 3,8]	2,30 [1,95; 3,20]	0,759	0,081
CD 4+, %	28,0 [25,0; 32,5]	4,0 [37,0; 42,0]	30,0 [28,0; 31,5]	37,0 [35,0; 38,0]	0,289	0,036
CD 4+, abs.	1,5 [1,0; 1,8]	1,2 [1,1; 1,5]	1,4 [1,3; 1,8]	1,4 [1,1; 1,8]	0,660	0,301
CD 8+, %	24,0 [22,0; 25,5]	29,0 [27,0; 32,0]	30,0 [27,5; 30,0]	35,0 [32,0; 35,0]	<0,001	<0,001
CD 8+, abs.	1,1 [0,7; 1,5]	0,9 [0,8; 1,1]	1,5 [1,2; 1,8]	1,3 [1,0; 1,6]	0,024	0,001
CD 4/CD 8	1,2 [1,0; 1,3]	1,3 [1,2; 1,4]	1,0 [0,9; 1,1]	1,0 [1,0; 1,0]	<0,001	<0,001
CD 16+, %	25,0 [22,0; 28,5]	19,0 [17,0; 21,0]	23,0 [21,0; 24,5]	17,0 [16,0; 18,0]	0,054	0,003
CD 16+, abs.	1,2 [1,0; 1,6]	0,6 [0,5; 0,7]	1,1 [0,9; 1,4]	0,6 [0,5; 0,7]	0,373	0,601
CD 22+, %	21,0 [19,0; 23,0]	33,0 [30,5; 36,5]	22,0 [19,5; 26,5]	30,0 [28,0; 32,0]	0,289	0,009
CD 22+, abs.	1,1 [0,7; 1,3]	1,1 [0,9; 1,2]	1,1 [1,0; 1,3]	1,1 [0,8; 1,4]	0,264	0,545
IgA, г/л	0,4 [0,3; 0,4]	0,9 [0,7; 1,0]	0,3 [0,2; 0,4]	0,8 [0,7; 1,0]	0,290	0,603
IgM, г/л	0,7 [0,6; 0,9]	1,9 [1,5; 2,1]	0,7 [0,6; 0,8]	1,4 [1,2; 1,5]	0,966	<0,001
IgG, г/л	8,0 [7,3; 8,3]	10,3 [9,8; 10,9]	8,0 [7,1; 8,8]	10,4 [9,8; 11,0]	0,738	0,890
ІЛ-1β, пг/мл	21,1 [18,5; 24,6]	8,0 [7,3; 9,5]	19,2 [16,4; 20,5]	9,0 [7,5; 9,6]	0,015	0,645
ІЛ-4, пг/мл	4,9 [3,9; 6,2]	12,6 [11,4; 13,9]	8,3 [7,0; 9,9]	17,3 [14,2; 18,2]	<0,001	<0,001
ФНП-α, пг/мл	6,3 [5,7; 7,1]	4,9 [4,0; 5,3]	10,3 [9,0; 12,2]	7,6 [6,8; 9,3]	<0,001	<0,001

p<sub>1</sub>: між показниками 1 і 2 груп у гострий період захворювання; p<sub>2</sub>: між показниками 1 і 2 груп у період ранньої реконвалесценції.

[2,50; 4,50] % відповідно, p < 0,001). 3-поміж інших параметрів клінічного аналізу крові вірогідні відмінності не встановили (табл. 2).

За даними, що наведені в таблиці 3, загальний абсолютний уміст лімфоцитів та абсолютні й відносні рівні їхніх CD 3+ і CD 4+ субпопуляцій протягом захворювання не мали вірогідних розбіжностей у групах порівняння. Але в пацієнтів 2 групи у гострий період захворювання зафіксували вищий, ніж у хворих 1 групи відносний та абсолютний уміст CD 8+ Т-лімфоцитів (30,0 [27,5; 30,0] і 24,0 [22,0; 25,5] %, p < 0,001; 1,5 [1,2; 1,8] і 1,1 [0,7; 1,5], p = 0,024). Аналогічні зміни спостерігали в період ранньої реконвалесценції, для якого характерне вірогідне підвищення відносного й абсолютного рівнів CD 8+ Т-клітин у хворих 2 групи щодо показників дітей 1 групи (35,0 [32,0; 35,0] і 29,0 [27,0; 32,0] %, p < 0,001; 1,3 [1,0; 1,6] і 0,9 [0,8; 1,1], p = 0,001).

Показник імунорегуляторного індексу (ІРІ) у хворих, інфікованих ЦМВ, вірогідно нижче, ніж у 1 групі, у гострий період (1,3 [1,2; 1,4] проти 1,2 [1,0; 1,3], p < 0,001) та в період ранньої реконвалесценції (1,0 [1,0; 1,0] і 1,3 [1,2; 1,4], p < 0,001).

У хворих 2 групи визначили вірогідне зниження відносного вмісту CD 16+ Т-лімфоцитів у гострий період ротавірусного гастроентериту щодо відповідного показника дітей 1 групи (23,0 [21,0; 24,5] і 25,0 [22,0; 28,5] %, p = 0,054). Таку саму динаміку співвідношення медіанних значень рівнів CD 16+ Т-лімфоцитів зафіксували в період ранньої реконвалесценції (17,0 [16,0; 18,0] і 19,0 [17,0; 21,0] %, p = 0,003). Щодо абсолютних показників CD 16+ клітин у дітей із латентною ЦМВ інфекцією, вірогідне зниження не встановили, хоча була тенденція до нижчих показників.

У дебюті захворювання показники гуморальної ланки імунної відповіді не мали вірогідних розбіжностей у дітей груп порівняння. У період ранньої реконвалесценції в дітей 2 групи вміст Ig M вірогідно нижчий, ніж у хворих 1 групи (1,4 [1,2; 1,5] і 1,9 [1,5; 2,1] г/л, p < 0,001).

Під час аналізу вмісту цитокінів у дітей, які інфіковані ЦМВ, виявили вірогідно нижчу концентрацію ІЛ-1β у гострий період захворювання порівняно з дітьми 1 групи (19,2 [16,4; 20,5] і 21,1 [18,5; 24,6] пг/мл,

$p = 0,015$ ). У період ранньої реконвалесценції вірогідні відмінності за вмістом ІЛ-1 $\beta$  не встановили.

Цитокінова відповідь у хворих із латентною ЦМВ-інфекцією характеризується підвищеним медіанним вмістом ІЛ-4 і ФНП- $\alpha$  протягом усього захворювання. Так, у гострий період РВІ в дітей 2 групи концентрація ІЛ-4 перевищує відповідний показник пацієнтів 1 групи майже в 1,5 раза (8,3 [7,0; 9,9] і 4,9 [3,9; 6,2] пг/мл,  $p < 0,001$ ). У період ранньої реконвалесценції таке співвідношення вмісту ІЛ-4 у дітей 2 і 1 груп зберігається (17,3 [14,2; 18,2] і 12,6 [11,4; 13,9] пг/мл,  $p < 0,001$ ). Щодо медіанних показників концентрації ФНП- $\alpha$ , встановили вірогідно вищі рівні в дітей 2 групи порівняно з особами 1 групи у гострий період (10,3 [9,0; 12,2] та 6,3 [5,7; 7,1] пг/мл,  $p < 0,001$ ) та період ранньої реконвалесценції (7,6 [6,8; 9,3] та 4,9 [4,0; 5,3] пг/мл,  $p < 0,001$ ).

## Обговорення

Результати дослідження здебільшого відповідають відомостям фахової літератури, що присвячена вивченню впливу латентної ЦМВ-інфекції на імунну відповідь і перебіг інших інфекційних захворювань.

За даними Р. К. Бабік, у дітей, які інфіковані ЦМВ, клінічні прояви вірусної кишкової інфекції в гострий період захворювання більш демонстративні, а в клінічному аналізі крові хворих виявлено нейтрофіліоз і моноцитоз. Щодо імунної відповіді, в гострий період захворювання в цих пацієнтів виявили зниження CD 3+, CD 4+ та CD 16+ Т-лімфоцитів; у період ранньої реконвалесценції автор виявила незначущу пролонгацію клінічних симптомів, нормальну концентрацію Іg М на тлі зниженого рівня Іg G. Результати нашого дослідження лише частково збігаються з наведеними. На відміну від названого дослідження, ми виявили асоціацію ЦМВ із менш вираженими клінічними симптомами РВІ у дебюті захворювання. Втім, як і О. В. Усачова, Р. К. Бабік, встановили пролонгацію тривалості лихоманки та діареї протягом хвороби в дітей із мікст-РВІ [12, 13]. Ми не визначили вірогідні відмінності за рівнями CD 3+, CD 4+ Т-клітин, але виявили вірогідне зниження вмісту CD 16+ лімфоцитів у дітей 2 групи, що може бути пов'язано з пригнічувальним впливом герпесвірусів на натуральні кілери [15]. Наведені відмінності, на нашу думку, можна пояснити тим, що в дослідження Р. К. Бабік залучено пацієнтів із кишковою інфекцією, що зумовлена не тільки ротавірусом, але й норо- та астровірусами. Також у цій роботі показано перинатальний контакт дітей із ЦМВ, що, ймовірно, спричиняє триваліший вплив вірусів герпесу на організм хазяїна.

У нашому дослідженні зафіксували вірогідне підвищення відносного вмісту CD 8+ клітин на тлі знижених показників ІРІ протягом усього захворювання в дітей 2 групи, що збігається з даними інших дослідників, які вивчали вплив ЦМВ на імунні параметри хворих на гострі респіраторні інфекції у відповідь на вакцинацію та порівнюючи імунний статус ЦМВ(+) та ЦМВ(-) дітей [11, 16, 17]. Підвищення вмісту CD 8+ клітин, на нашу думку, пов'язано з їхньою цитотоксичною, противірусною функціями [18]. Вва-

жаємо, зниження ІРІ зумовлене власне підвищеним вмістом CD 8+ лімфоцитів, який використовують під час обрахунку ІРІ.

У нашому дослідженні, на відміну від наведених, додатково проаналізували концентрації про- та протизапальних цитокинів у динаміці захворювання, що сприяло поглибленню розуміння змін, що викликані наявністю ЦМВ у дітей із РВІ.

Як і в нашому дослідженні, науковці А. Pachnio, М. Ciauriz, які вивчали функціональні властивості ЦМВ-специфічних Т-клітин у пацієнтів з ураженням серцево-судинної системи, зареєстрували не тільки підвищення вмісту CD 8+ лімфоцитів, але й більшу концентрацію ІЛ-4 і ФНП- $\alpha$  [7].

У хворих 2 групи виявили підвищення вмісту протизапального фактора ІЛ-4 в гострий період РВІ, що, ймовірно, може зумовлювати нижчі показники температурної реакції та меншу кратність блювоти; це, на нашу думку, спричинило пізнішу госпіталізацію дітей. З іншого боку, такий вплив ЦМВ на клінічні прояви РВІ може зменшувати ризик розвитку ексікозу в дебюті захворювання, сприятиме здійсненню ефективної оральної регідрації на догоспітальному етапі та, можливо, навіть зниженню випадків госпіталізації пацієнтів.

Аналіз співвідношення імунних показників у період ранньої реконвалесценції РВІ показав: інфікування ЦМВ асоціюється зі збереженням високого вмісту ІЛ-4 і ФНП- $\alpha$ , затримкою активації продукції CD 22+ Т-клітин на тлі нижчого, ніж у контрольній групі, вмісту Іg М. Це свідчить про дисбаланс про- та протизапальних цитокинів, затримку активації гуморальної відповіді імунної системи. Припускаємо, що ці зміни призвели до збільшення тривалості лихоманки та діарейного синдрому в пацієнтів із мікст-РВІ.

Результати дослідження показали, що наявність цитомегаловірусної інфекції безпосередньо впливає на механізм імунної відповіді, змінюючи вміст Т-лімфоцитів, особливо цитотоксичних, інтерлейкінів та імуноглобулінів, що врешті впливає на клінічні прояви захворювання.

## Висновки

1. До клінічних особливостей перебігу РВІ в дітей, інфікованих ЦМВ, належать пізніший термін госпіталізації, нижчі показники температурної реакції, менша кратність блювоти в дебюті захворювання та більша тривалість збереження лихоманки та діареї в період ранньої реконвалесценції.

2. Наявність латентної ЦМВ-інфекції в дітей із РВІ характеризується вірогідним зменшенням вмісту лейкоцитів у гострий період ротавірусного гастроентериту та підвищеним рівнем моноцитів протягом усього захворювання в периферичній крові дітей.

3. З-поміж імунних показників у дітей із латентною ЦМВ-інфекцією спостерігали збільшення відносного й абсолютного вмісту CD 8+ (%) Т-лімфоцитів, концентрації ІЛ-4 і ФНП- $\alpha$  пг/мл на тлі зниженого рівня CD 16+ (%) клітин та ІРІ протягом усього захворювання. У період ранньої реконвалесценції зафіксували нижчі рівні CD 22+ (%) клітин та Іg М (г/л).



**Перспективи подальших досліджень.** Результати дослідження можна застосовувати для розроблення моделі прогнозування наявності латентної ЦМВ-інфекції в дітей із ротавірусним гастроентеритом, а також сприятимуть пошуку нових перспективних шляхів оптимізації лікування таких хворих.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.04.2021

Після доопрацювання / Revised: 11.05.2021

Прийнято до друку / Accepted: 27.07.2021

#### Відомості про авторів:

Слепченко М. Ю., асистент каф. дитячих інфекційних хвороб, Харківський національний медичний університет, Україна. ORCID ID: [0000-0001-5539-2177](https://orcid.org/0000-0001-5539-2177)

Кузнецов С. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячих інфекційних хвороб, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9145-3915](https://orcid.org/0000-0002-9145-3915)

#### Information about the authors:

Sliepenchenko M. Yu., MD, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Kuznietsov S. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

#### Сведения об авторах:

Слепченко М. Ю., ассистент каф. детских инфекционных болезней, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Кузнецов С. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детских инфекционных болезней, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

#### Список літератури

- [1] Systematic review of the rotavirus infection burden in the WHO-EMRO region / S. Badur, S. Öztürk, P. Pereira et al. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 2019. Vol. 11, Iss. 15. P. 2754-2768. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1603984>
- [2] Rotavirus infection / S. E. Crawford, S. Ramani, J. E. Tate et al. *Nature Reviews Disease Primers*, 2017. Vol. 3. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- [3] Cytomegalovirus (CMV) Shedding in French Day-Care Centers: A Nationwide Study of Epidemiology, Risk Factors, Centers' Practices, and Parents' Awareness of CMV / S. Alain, F. Garnier-Geoffroy, A. Labrunie et al. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 2020. Vol. 9, Iss. 6. P. 686-694. <https://doi.org/10.1093/jpids/piz097>
- [4] Incidence, Risk Factors, and Morbidity of Acquired Postnatal Cytomegalovirus Infection among Preterm Infants Fed Maternal Milk in a Hlg hly Seropositive Population / F. P. Martins-Celini, A. Y. Yamamoto, D. M. Passos et al. *Clinical Infectious Diseases*, 2016. Vol. 63, Iss. 7. P. 929-936. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw394>
- [5] Picarda G., Benedict C. A. Cytomegalovirus: Shape-Shifting the Immune System. *The Journal of Immunology*, 2018. Vol. 200, Iss. 12. P. 3881-3889. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800171>
- [6] The hallmarks of CMV-specific CD8 T-cell differentiation / S. P. H. Van den Berg, I. N. Pardieck, J. Lanfermeijer et al. *Medical Microbiology and Immunology*, 2019. Vol. 208, Iss. 3-4. P. 365-373. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00608-7>
- [7] Cytomegalovirus Infection Leads to Development of Hlg h Frequencies of Cytotoxic Virus-Specific CD4+ T Cells Targeted to Vascular Endothelium / A. Pachnio, M. Ciauriz, J. Begum et al. *PLoS Pathogens*, 2016. Vol. 12, Iss. 9. P. e1005832. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005832>
- [8] Cytomegalovirus infection is a risk factor for tuberculosis disease in infants / J. Müller, R. Tanner, M. Matsumiya et al. *JCI insight*, 2019. Vol. 4, Iss. 23. P. e130090. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.130090>
- [9] Hlg mucosal cytomegalovirus DNA helps predict adverse short-term outcome in acute severe ulcerative colitis / S. Jain, D. Namdeo, P. Sahu et al. *Intestinal Research*, 2020. 10.5217/ir.2020.00055. <https://doi.org/10.5217/ir.2020.00055>
- [10] Reduced Ebola vaccine responses in CMV+ young adults is associated with expansion of CD57+KLRG1+ T cells / G. Bowyer, H. Sharpe, N. Venkatraman et al. *The Journal of experimental medicine*, 2020. Vol. 217, Iss. 7. e20200004. <https://doi.org/10.1084/jem.20200004>
- [11] Cytomegalovirus infection enhances the immune response to influenza / D. Furman, V. Jovic, S. Sharma et al. *Science Translational Medicine*, 2015. Vol. 7, Iss. 281. 281ra43. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa2293>
- [12] Особливості перебігу рота вірусної інфекції в дітей раннього віку з цитомегалією та підходи до патогенетичної терапії / О. В. Усачова, Т. М. Пахольчук, Е. А. Силина та ін. *Современная педиатрия*, 2013. № 1. С. 134-138.
- [13] Бабик П. К. Клинико-иммунологические особенности вирусных кишечных инфекций у детей : автореф. дис. д-ра мед. наук : 14.01.09 ; 14.03.09. Москва, 2013.
- [14] Herpesvirus Evasion of Natural Killer Cells / S. De Pelsmaeker, N. Romero, M. Vitale, H. W. Favoreel. *Journal of virology*, 2018. Vol. 92, Iss. 11. P. e02105-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.02105-17>
- [15] Klenerman P., Oxenius A. T cell responses to cytomegalovirus. *Nature Reviews Immunology*, 2016. Vol. 16, Iss. 6. P. 367-377. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.38>
- [16] Cytomegalovirus-Mediated T Cell Receptor Repertoire Perturbation Is Present in Early Life / M. Attaf, J. Roider, A. Malik et al. *Frontiers in immunology*, 2020. Vol. 11. P. 1587. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01587>
- [17] Клініко-імунологічні особливості перебігу гострих респіраторних інфекцій у дітей раннього віку, інфікованих цитомегаловірусом / Л. М. Боярська, О. В. Усачова, Т. С. Герасімчук та ін. *Современная педиатрия*, 2014. № 1. С. 87-91.
- [18] Клінічна імунологія та алергологія : навчальний посібник медичних ВНЗ IV рівня акредитації та медичних факультетів університетів / О. М. Біловол, П. Г. Кравчун, В. Д. Бабаджан та ін. Харків : Гриф, 2011. 550 с.

#### References

- [1] 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 and Immunotherapeutics*, 15(11), 2754-2768. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1603984>
- [2] 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. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- [3] Alain, S., Garnier-Geoffroy, F., Labrunie, A., Montané, A., Marin, B., Gatet, M., Grosjean, J., Dufour, V., Sauger, M., Postil, D., & Hantz, S. (2020). Cytomegalovirus (CMV) Shedding in French Day-Care Centers: A Nationwide Study of Epidemiology, Risk Factors, Centers' Practices, and Parents' Awareness of CMV. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 9(6), 686-694. <https://doi.org/10.1093/jpids/piz097>
- [4] Martins-Celini, F. P., Yamamoto, A. Y., Passos, D. M., Do Nascimento, S. D., Lima, E. V., Di Giovanni, C. M., Quadrado, E. R. S., Barta, R., Aragon, D. C., Do Prado, S. I., De Almeida, M. F. B., & Mussi-Pinhalta, M. M. (2016). Incidence, Risk Factors, and Morbidity of Acquired Postnatal Cytomegalovirus Infection among Preterm Infants Fed Maternal Milk in a Hlg hly Seropositive Population. *Clinical Infectious Diseases*, 63(7), 929-936. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw394>
- [5] Picarda, G., & Benedict, C. A. (2018). Cytomegalovirus: Shape-Shifting the Immune System. *The Journal of Immunology*, 200(12), 3881-3889. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800171>
- [6] Van den Berg, S. P. H., Pardieck, I. N., Lanfermeijer, J., Sauce, D., Klenerman, P., van Baarle, D., & Arens, R. (2019). The hallmarks of CMV-specific CD8 T-cell differentiation. *Medical Microbiology and Immunology*, 208(3-4), 365-373. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00608-7>
- [7] Pachnio, A., Ciauriz, M., Begum, J., Lal, N., Zuo, J., Beggs, A., & Moss, P. (2016). Cytomegalovirus Infection Leads to Development of High Frequencies of Cytotoxic Virus-Specific CD4+ T Cells Targeted to Vascular Endothelium. *PLoS pathogens*, 12(9), e1005832. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005832>
- [8] Müller, J., Tanner, R., Matsumiya, M., Snowden, M. A., Landry, B., Satti, I., Harris, S. A., O'Shea, M. K., Stockdale, L., Marsay, L., Chomka, A., Harrington-Kandt, R., Thomas, Z. M., Naranbhai, V., Stylianou, E., Mbandi, S. K., Hatherill, M., Hussey, G., Mahomed, H., Tameris, M., ... Fletcher, H. A. (2019). Cytomegalovirus infection is a risk factor for tuberculosis disease in infants. *JCI insight*, 4(23), e130090. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.130090>

- [9] Jain, S., Namdeo, D., Sahu, P., Kedia, S., Sahni, P., Das, P., Sharma, R., Gupta, V., Makharia, G., Dar, L., Travis, S. P., & Ahuja, V. (2020). High mucosal cytomegalovirus DNA helps predict adverse short-term outcome in acute severe ulcerative colitis. *Intestinal research*, 10.5217/ir.2020.00055. Advance online publication. <https://doi.org/10.5217/ir.2020.00055>
- [10] Bowyer, G., Sharpe, H., Venkatraman, N., Ndiaye, P. B., Wade, D., Brenner, N., Mentzer, A., Mair, C., Waterboer, T., Lambe, T., Dieye, T., Mboup, S., Hill, A., & Ewer, K. J. (2020). Reduced Ebola vaccine responses in CMV+ young adults is associated with expansion of CD57+KLRG1+ T cells. *The Journal of experimental medicine*, 217(7), e20200004. <https://doi.org/10.1084/jem.20200004>
- [11] Furman, D., Jovic, V., Sharma, S., Shen-Orr, S. S., Angel, C. J., Onengut-Gumuscu, S., Kidd, B. A., Maecker, H. T., Concannon, P., Dekker, C. L., Thomas, P. G., & Davis, M. M. (2015). Cytomegalovirus infection enhances the immune response to influenza. *Science translational medicine*, 7(281), 281ra43. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa2293>
- [12] Usachova, E. V., Paholchuk, T. M., Silina, E. A., Matveeva, T. B., Shulga, O. V., Pechugina, V. V., Berestovaya, I. V., Shtibler, A. V., & Turlyun, V. A. (2013). Osoblyvosti perebihu rota virusnoi infektsii v ditei rannoho viku z tsytomehaliiu ta pidkhody do patohenetychnoi terapii [Features of rotavirus infection course in infants with cytomegalovirus and the way of pathogenic therapy]. *Sovremennaya pediatriya*, (1), 134-138. [in Ukrainian].
- [13] Babik R. K. (2013). *Kliniko-immunologicheskie osobennosti virusnykh kishhechnykh infektsii u detei* [Clinical and immunological features of viral intestinal infections in children]. Extended abstract of Doctor's thesis. Moscow. [in Russian].
- [14] Klenerman, P., & Oxenius, A. (2016). T cell responses to cytomegalovirus. *Nature reviews. Immunology*, 16(6), 367-377. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.38>
- [15] De Pelsmaeker, S., Romero, N., Vitale, M., & Favoreel, H. W. (2018). Herpesvirus Evasion of Natural Killer Cells. *Journal of virology*, 92(11), e02105-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.02105-17>
- [16] Attaf, M., Roider, J., Malik, A., Rius Rafael, C., Dolton, G., Predergast, A. J., Leslie, A., Ndung'u, T., Kløverpris, H. N., Sewell, A. K., & Goulder, P. J. (2020). Cytomegalovirus-Mediated T Cell Receptor Repertoire Perturbation Is Present in Early Life. *Frontiers in immunology*, 11, 1587. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01587>
- [17] Boyarskaya, L. N., Usacheva, E. V., Gerasimchuk, T. S., Silina, E. A., Paholchuk, T. N., Konakova, O. V., Slipko, V. A., & Turlyun, V. A. (2014). Kliniko-immunologichni osoblyvosti perebihu hostrykh respiratornykh infektsii u ditei rannoho viku, infikovanykh tsytomehalivirusom [Clinical and immunological features of acute respiratory infections in infants infected with cytomegalovirus]. *Sovremennaya pediatriya*, (1), 87-91. [in Ukrainian].
- [18] Bilovol, O. M., Kravchun, P. H., Babadzhan, V. D., Kuznetsova, L. V., Tsyhanenko, A. Y., Olkhovskiy, D. V., Kozhyn, M. I., Sydorov, O. P., Borzova, O. Y., Ryndina, N. H., & Tytova, H. Y. (2011). *Klinichna imunohiia ta alerholohiia* [Clinical immunology and allergology], (pp. 38-71). Kharkiv: Grif. [in Ukrainian].

## Зв'язок морфологічних показників ураження великогомілкової кістки та м'яких тканин і деяких біохімічних показників крові у хворих на травматичний остеомиєліт

В. В. Григоровський \*<sup>A-F</sup>, С. Магомедов <sup>A-F</sup>, М. П. Грицай <sup>A,C,E,F</sup>, В. М. Цокало <sup>A,B,C</sup>,  
Т. А. Кузуб <sup>B,D</sup>, Л. В. Поліщук <sup>B,D</sup>, А. В. Григоровська <sup>B,C</sup>

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ

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

### Ключові слова:

травматичний остеомиєліт, великогомілкова кістка, м'які тканини, трофічні розлади.

### Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).

С. 218-228

### \*E-mail:

val\_grigorov@bigmir.net

**Мета роботи** – встановити статистичні відмінності біохімічних показників крові та морфометричних показників ураження тканин, зв'язків між ними у хворих на травматичний остеомиєліт великогомілкової кістки з трофічними розладами кінцівки.

**Матеріали та методи.** Дослідили матеріал від 28 хворих на травматичний остеомиєліт, що супроводжувався трофічними розладами тканин різних ступенів вираженості. Визначали рівні прокальцитоніну, лактатдегідрогенази та ацетилхолінестерази у сироватці крові. Гістологічно у тканинах гомілки вивчали кількісні біохімічні, градаційні морфометричні показники, частоти трапляння випадків різних ступенів вираженості та зв'язки «клініка – біохімія – патоморфологія».

**Результати.** Середні значення прокальцитоніну, лактатдегідрогенази та ацетилхолінестерази у хворих на травматичний остеомиєліт великогомілкової кістки, що супроводжується трофічними порушеннями у тканинах гомілки, вірогідно вищі, ніж в інтактних донорів.

У більшості хворих на хронічний травматичний остеомиєліт у тканинах гомілки виявили патологічні зміни, які за результатами клінічного оцінювання є трофічними порушеннями. Це поєднання дисциркуляторних, ішемічно-некротичних, ексудативних, продуктивно-запальних, а також репаративних процесів, що разом створюють складну картину комплексного ураження та можуть персистувати впродовж багатьох років.

Найтісніші зв'язки, за значенням коефіцієнта асоціації, щодо біохімічних показників встановили для таких клінічних даних: ступінь неконсолідованості відламків кістки та вираженість трофічних порушень у кістковій тканині (за клінічними оцінками); щодо морфометричних показників для біохімічних даних: рівні прокальцитоніну та лактатдегідрогенази крові. З-поміж морфометричних показників ураження найтісніші зв'язки щодо біохімічних показників виявляли в кістках (форма патологічного осередку травматичного остеомиєліту та наявність секвестрів) і м'яких тканинах (ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку).

**Висновки.** При хронічному травматичному остеомиєліті, що поєднується з трофічними розладами тканин гомілки, є залежності між певними клінічними, біохімічними та морфометричними показниками стану тканин кінцівки. Відхилення показників метаболізму від норми можуть бути біохімічними маркерами під час визначення ступеня їхньої вираженості та ефективності лікування хворих.

### Key words:

osteomyelitis, tibia, soft tissues, trophic disturbances.

### Pathologia

2021; 18 (2), 218-228

## Relationships between morphological indicators of the tibia and soft tissues lesions and some biochemical blood indicators in patients with traumatic osteomyelitis

V. V. Hryhorovskiy, S. Mahomedov, M. P. Hrytsai, V. M. Tsokalo, T. A. Kuzub,  
L. V. Polishchuk, A. V. Hryhorovska

**Aim.** Research aim was to find statistical differences of biochemical indicators of blood and morphometric indicators of crural tissue lesion and relationships between them in patients with traumatic osteomyelitis of the tibia with trophic disturbances in extremity.

**Material and methods.** The work material includes data from 28 patients with traumatic osteomyelitis which was combined with trophic tissue disturbances of different manifestation degree. The levels of procalcitonin, lactate dehydrogenase and acetylcholinesterase of blood serum were estimated. In crural tissues quantitative biochemical, gradual morphometric indicators, frequencies of occurrence of different manifestation degree cases and relationships “clinic – biochemistry – pathomorphology” were defined histologically.

**Results.** Average values of procalcitonin, lactate dehydrogenase and acetylcholinesterase in patients with traumatic osteomyelitis of the tibia, combined with trophic disturbances in crural tissues, are significantly higher, than average values of these indicators in intact donors.

In the majority of the patients with chronic traumatic osteomyelitis in crural tissues pathological changes were found out, which by clinical estimations are considered as trophic disturbances. They represent a combination of discirculatory, ischemic-necrotic, exsudative, productive-inflammatory, and also reparative processes which in total create a composite picture of complex lesion and can persist for many years.

As closest relations, according to values of association coefficient, concerning certain biochemical indicators, can be noted such clinical indicators: “degree of bone fragments non-consolidation” and “severity of trophic disturbances in bone tissue (by clinical estimation)”, concerning defined morphometric indicators – such biochemical indicators: “level of procalcitonin” and “level of lactate dehydrogenase” in blood serum. Among morphometric lesion indicators the closest relations concerning biochemical indicators were revealed: in bones – “the form of the pathological focus of traumatic osteomyelitis” and “presence of sequesters”, in soft tissues – “exsudative inflammation in internal membrane of a focus capsule”.

**Conclusions.** In chronic traumatic osteomyelitis combined with trophic disturbances of crural tissues, there are relationships between some clinical, biochemical and morphological indicators of the extremity tissues condition. A deviation of metabolism indicators from norm can serve as biochemical markers in definition of severity degree and efficiency of treatment in patients.

## Связь морфологических показателей поражения большеберцовой кости и мягких тканей и некоторых биохимических показателей крови у больных травматическим остеомиелитом

**В. В. Григоровский, С. Магомедов, Н. П. Грицай, В. Н. Цокало, Т. А. Кузуб, Л. В. Полищук, А. В. Григоровская**

**Цель работы** – установить статистические различия биохимических показателей крови и морфометрических показателей поражения тканей, связей между ними у больных травматическим остеомиелитом большеберцовой кости с трофическими нарушениями в конечности.

**Материалы и методы.** Исследовали материал от 28 больных травматическим остеомиелитом, который сопровождался трофическими нарушениями тканей разной степени выраженности. Определяли уровень прокальцитонина, лактатдегидрогеназы и ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови. Гистологически в тканях голени определяли параметры градационных показателей, частоты встречаемости случаев разной степени выраженности и связь «клиника – биохимия – патоморфология».

**Результаты.** Средние значения прокальцитонина, лактатдегидрогеназы и ацетилхолинэстеразы у больных травматическим остеомиелитом большеберцовой кости, сопровождающимся трофическими нарушениями в тканях голени, достоверно выше, чем у интактных доноров.

У большинства больных хроническим травматическим остеомиелитом в тканях голени отмечают патологические изменения, которые по результатам клинической оценки рассматривают как трофические нарушения. Они представляют собой сочетание дисциркуляторных, ишемически-некротических, экссудативных, продуктивно-воспалительных, а также репаративных процессов, которые в совокупности создают сложную картину комплексного поражения и могут персистировать в течение многих лет.

Наиболее тесными связями, согласно коэффициента ассоциации, относительно определенных биохимических показателей обладают клинические данные: степень неконсолидированности отломков кости и выраженность трофических нарушений в костной ткани (по клиническим оценкам); относительно морфометрических показателей такие биохимические данные: уровень прокальцитонина и лактатдегидрогеназы крови. Среди морфометрических показателей поражения наиболее тесные связи относительно биохимических показателей отмечены в костях (форма патологического очага травматического остеомиелита и наличие секвестров) и мягких тканях (экссудативное воспаление во внутренней оболочке капсулы очага).

**Выводы.** При хроническом травматическом остеомиелите, сочетанном с трофическими расстройствами тканей голени, установлены зависимости между некоторыми клиническими, биохимическими и морфологическими показателями состояния тканей конечности. Отклонение показателей метаболизма от нормы могут быть биохимическими маркерами при определении степени их выраженности и эффективности лечения больных.

**Ключевые слова:** травматический остеомиелит, большеберцовая кость, мягкие ткани, трофические расстройства.

**Патология. 2021. Т. 18, № 2(52). С. 218-228**

Травматичний остеомиєліт (ТО) – тяжке інфекційне ураження кістки та прилеглих м'яких тканин, що викликає запальні, дистрофічні, деструктивні та репаративні зміни [1–3].

Гострий і хронічний ТО (ХТО) найчастіше розвивається внаслідок механічного пошкодження кісток гомілки та прилеглих м'яких тканин, як-от відкритого перелому тощо [4,5]. Хронічний неспецифічний запальний процес у тканинах гомілки інколи супроводжується трофічними порушеннями, що зумовлюють різноманітні зміни у тканинах кінцівки та/або неврологічні розлади [6].

Проте якісно-напівкількісна вираженість цих патологічних змін, частота трапляння випадків певних градацій, їхнє співвідношення в окремих тканинах кінцівки, зв'язок із деякими клінічними та клініко-лабораторними, включаючи біохімічні, показниками раніше не були предметом ґрунтовного вивчення.

Наявність в організмі хворого великих запальних осередків не може не позначитися на клініко-лабораторних біохімічних показниках, що показують стан зміненого метаболізму тканин унаслідок ураження [7,8].

Нині чималу увагу приділяють дослідженню ензимів і біологічно активних білків як біохімічних маркерів, що показують активність запального процесу. Для цього використовують низку біохімічних тестів, зокрема кількісне визначення гострофазних білків та ензимів [9,10]. Важливий біохімічний показник у діагностиці бактеріальної інфекції у клінічній практиці (хірургії, травматології та ортопедії) – прокальцитонін (ПКТ) [11–13]. Відомості фахової літератури свідчать, що цей біохімічний маркер показує активність запального процесу та сепсису. Синтез ПКТ індукується ендотоксинами, бактеріальними токсичними речовинами –

**Таблиця 1.** Ступені вираженості трофічних порушень у тканинах кінцівки при ТО відповідно до клініко-візуалізаційного оцінювання

Ступені вираженості трофічних порушень у великогомілкової кістці	
Розладів немає	Без порушення процесів репаративної регенерації кістки (консолідація перелому).
Низький ступінь	Локальне порушення структури кісткової тканини (остеопороз, остеолізіс, остеосклероз), сповільнення консолидації уламків кістки.
Середній ступінь	Поширене порушення структури кісткової тканини (остеопороз, остеолізіс, остеосклероз). Порушення процесів репаративної регенерації кісткової тканини – консолидація уламків сповільнена чи відсутня.
Високий ступінь	Поширене, з залученням кісток стопи або стегна порушення структури кісткової тканини (остеопороз, остеолізіс, остеосклероз). Порушення процесів репаративної регенерації кісткової тканини – формування несправжніх суглобів, дефектів.
Ступені вираженості трофічних порушень у параоссальних м'яких тканинах	
Розладів немає	Об'єм м'яза аналогічний здоровій гомілці, функція не порушена.
Низький ступінь	Зменшення об'єму м'яза (гіпо- та атрофія), незначне порушення його функції.
Середній ступінь	Зменшення об'єму м'яза, зменшення його сили й амплітуди роботи, зменшення скоротливої здатності, контрактура суміжного суглоба.
Високий ступінь	Ознаки ішемічної контрактури стопи (контрактури Фолькмана після компартмент-синдрому), фіброзування м'яза, контрактура та вадна установка суміжного суглоба, еквінус стопи.

**Таблиця 2.** Середні параметри біохімічних показників сироватки крові ( $\bar{X} \pm SD$ ) у групах здорових осіб і хворих на ТО великогомілкової кістки з трофічними порушеннями у тканинах гомілки (без поділу на підгрупи за ступенем тяжкості трофічних порушень)

Біохімічні показники, одиниці вимірювання	Середні величини ( $\bar{X} \pm SD$ ) у групах порівняння	
	Норма, n = 10	Хворі, n = 28
Прокальцитонін, нг/мл	0,065 ± 0,022 <b>k = 36, t = 4,649, p &lt; 0,001</b>	0,1001 ± 0,0198
Лактатдегідрогеназа, МО/л	117,10 ± 3,071 <b>k = 36, t = 7,686, p &lt; 0,001</b>	228,214 ± 45,281
Ацетилхолінестераза, МО/л	252,640 ± 2,229 <b>k = 36, t = 8,676, p &lt; 0,001</b>	738,132 ± 175,395

k: число ступенів свободи; t: фактичне значення критерію Стьюдента; p: імовірність помилки при скасуванні нуль-гіпотези про відсутність різниці групових середніх величин.

структурними компонентами бактеріальних клітин, що вивільняються під час їхнього розпаду [14, 15].

Менше даних про зміни параметрів таких ензимів, як лактатдегідрогеназа (ЛДГ) та ацетилхолінестераза (АХЕ) у хворих із різноманітними запальними процесами в органах опорно-рухової системи – в окремих дослідженнях визначали рівень концентрації цих ензимів у крові хворих [16–19]. ЛДГ та АХЕ є ключовими ферментами енергетичного обміну в функціонально найактивнішій тканині опорно-рухової системи – скелетних м'язах. Оскільки у хворих на ХТО запальний процес, фіброзування, атрофічні та дистрофічні зміни більше чи менше поширюються на параоссальні м'які тканини, логічно очікувати, що індивідуальні значення рівня цих ферментів в окремих пацієнтів матимуть відхилення від норми. Систематичних досліджень динаміки та відмінностей групових параметрів ЛДГ та АХЕ в разі нозологічних одиниць остеомієлітів у доступній фаховій літературі не виявили.

Раніше не здійснювали комплексні морфологічні та біохімічні дослідження на матеріалах від хворих

ТО, особливо з вивченням не тільки групових величин або частот трапляння випадків певної вираженості, але і зв'язків між біохімічними та морфологічними показниками ураження тканин. Відомості про ці залежності необхідні для визначення діагностичної цінності біохімічних даних щодо морфологічних показників ураження кісток і м'яких тканин гомілки при ТО.

## Мета роботи

Встановити статистичні відмінності біохімічних показників крові та морфометричних показників ураження тканин, зв'язків між ними у хворих на травматичний остеомієліт великогомілкової кістки з трофічними розладами кінцівки.

## Матеріали і методи дослідження

Матеріал дослідження – результати біохімічного визначення рівня ПКТ, ензимів ЛДГ та АХЕ у сироватці крові, а також фрагменти патологічно змінених кісткової та м'яких тканин гомілок, видалених у 28 хворих (середній вік  $X \pm SD = 43,14 \pm 12,57$  року) на ТО під час операцій фістулосеквестректомії.

Критерії залучення в дослідження:

– встановлення хворим діагнозу хронічного травматичного остеомієліту великогомілкової кістки внаслідок обстеження клінічними та візуалізаційними методами; у тканинах гомілки констатували трофічні порушення низького, середнього або високого ступеня (табл. 1);

– виконання хворому (визначеному за першим критерієм) біохімічних досліджень: визначення до операції рівнів ПКТ, ЛДГ та АХЕ у плазмі крові; здійснення в цих хворих патоморфологічного дослідження фрагментів уражених кісткової та м'яких тканин, вилучених під час операції.

Концентрацію ПКТ у сироватці крові визначали на імунохімічному аналізаторі Cobas 411, активність ензимів (ЛДГ, АХЕ) – на біохімічному аналізаторі Cobas 311 із використанням тест-систем Roche Diagnostics.

Як референтні значення взяли середні параметри групи 10 здорових дорослих осіб.

Для гістологічного дослідження вилучені фрагменти кісток і м'яких тканин використовували цілком, не подрібнюючи. Фіксували 10 % формаліном, виконували декальцинацію шматочків кісткової тканини 5 азотною кислотою, заливали в целоїдин або парафін, отримали мікромомні зрізи завтовшки 10 мкм; забарвлення гематоксилін-еозином і гематоксилін-пікрофуксином за ван Гізоном. Мікроскопічні дослідження виконали на мікроскопах МБС-2 та Olympus CX-41, мікрофотографії зробили фотоапаратом Nikon D90, закріпленим на вертикальному тубусі мікроскопа.

Під час статистичного аналізу обраховували середні групові та підгрупові параметри та стандартне відхилення середньої, відмінності середніх величин між групами та підгрупами порівняння визначали за критерієм Стьюдента (табл. 2,3). Для морфометричних градаційних показників визначали частоти трапляння випадків різних ступенів вираженості (табл. 4). Протягом аналізу зв'язку між морфометричними та

**Таблиця 3.** Відмінності середніх параметрів біохімічних показників сироватки крові ( $\bar{X} \pm SD$ ) у підгрупах хворих на ТО великогомілкової кістки з трофічними порушеннями різних ступенів тяжкості у тканинах гомілки

Показники, одиниці вимірювання	Норма (група 1), n = 10, $\bar{X} \pm SD$	Ступені трофічних порушень у великогомілкової кістки, $\bar{X} \pm SD$		Порівняння середніх групових параметрів
		Низький або середній (група 2), n = 11	Високий (група 3), n = 17	
Прокальцитонін, нг/мл	0,065 ± 0,022	0,0997 ± 0,0220	0,1004 ± 0,0190	k = 19, t = 3,634; p <sub>1,2</sub> < 0,002; k = 25, t = 4,442, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 0,090, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB
ЛДГ, Од/л	117,100 ± 3,071	238,909 ± 49,646	221,294 ± 42,310	k = 19, t = 7,727, p <sub>1,2</sub> < 0,001; k = 25, t = 7,713, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 1,005, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB
АХЕ, Од/л	252,640 ± 2,229	780,282 ± 193,510	710,859 ± 162,779	k = 19, t = 8,601, p <sub>1,2</sub> < 0,001; k = 25, t = 8,829, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 1,024, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB

Показники, одиниці вимірювання	Норма (група 1), n = 10, $\bar{X} \pm SD$	Ступені трофічних порушень у параоссальних м'яких тканинах, $\bar{X} \pm SD$		Порівняння середніх групових параметрів
		Низький (група 2), n = 9	Середній або високий (група 3), n = 19	
Прокальцитонін, нг/мл	0,065 ± 0,022	0,0967 ± 0,0271	0,1017 ± 0,0160	k = 17, t = 2,828, p <sub>1,2</sub> < 0,02; k = 27, t = 5,155, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 0,614, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB
ЛДГ, Од/л	117,100 ± 3,071	214,667 ± 58,970	234,632 ± 37,347	k = 17, t = 5,241, p <sub>1,2</sub> < 0,001; k = 27, t = 14,392, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 1,094, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB
АХЕ, Од/л	252,640 ± 2,229	676,678 ± 267,032	767,242 ± 108,030	k = 17, t = 5,038, p <sub>1,2</sub> < 0,001; k = 27, t = 14,931, p <sub>1,3</sub> < 0,001; k = 26, t = 1,292, p <sub>2,3</sub> > 0,1 HB

p<sub>1,2</sub>: імовірність помилки при порівнянні середніх параметрів груп 1 і 2; p<sub>1,3</sub>: імовірність помилки при порівнянні середніх параметрів груп 1 і 3; p<sub>2,3</sub>: імовірність помилки при порівнянні середніх параметрів груп 2 і 3; HB: різниця середніх невірогідна.

біохімічними показниками для всіх них сформувавши по дві градації, ранжовані ряди значень кількісних біохімічних показників поділили з використанням медіани варіаційного ряду. Потім усі випадки з парами значень «біохімія – морфологія» поділили за таблицею 2 × 2 і розрахували коефіцієнт асоціації Пірсона, його знак і ступінь значущості (табл. 4).

## Результати

### Середні параметри біохімічних показників крові в нормі та групах хворих на травматичний остеомиєліт з ознаками трофічних порушень

Середні параметри всіх показників сироватки крові, які визначали у хворих на ТО, об'єднаних в одну групу без урахування ступеня трофічних порушень, були збільшені порівняно з параметрами норми (табл. 2): ПКТ – у понад 1,5 раза, ЛДГ – майже вдвічі, АХЕ – майже втричі. Відмінності групових параметрів у всіх групах порівняння статистично значущі.

Порівняння середніх величин біохімічних показників сироватки крові у здорових донорів і хворих на ТО з клінічно визначеними ступенями трофічних порушень (низький, середній, високий окремо для великогомілкової кістки та м'яких тканин (табл. 3)) показало, що параметри ПКТ у хворих збільшуються відповідно до збільшення ступеня трофічних розладів, оцінених для кістки. Відмінності середніх параметрів ПКТ між підгрупами хворих із різними ступенями тяжкості трофічних розладів у великогомілкової кістки не мали статистичної значущості. Максимальні середні значення активності обох ензимів (ЛДГ, АХЕ) визначили в підгрупі хворих не з високим, а з сумарно низьким або середнім ступенем трофічних розладів. Відзначимо значні варіації індивідуальних параметрів активності

у всіх підгрупах хворих на ТО з різними ступенями трофічних порушень у тканинах гомілки.

Середні параметри всіх трьох біохімічних показників у хворих підгруп із різним ступенем трофічних порушень, оцінених для м'яких тканин ураженої гомілки, збільшувалися порівняно з середніми величинами групи інтактних донорів (табл. 3). Усі показники вірогідно відрізнялися від середніх параметрів норми і для ПКТ, і для ензимів ЛДГ та АХЕ. Але відмінності середніх параметрів кожного з біохімічних показників між підгрупами хворих із різними ступенями вираженості трофічних розладів (сумарна підгрупа «низький – середній» проти «високого» для великогомілкової кістки та «низький» проти підгрупи сумарно «середнього – високого» для параоссальних м'яких тканин) виявилися статистично незначущими для наявної кількості клінічних випадків.

### Патоморфологічні зміни у тканинах гомілки хворих на травматичний остеомиєліт з ознаками трофічних порушень

**Гістоструктура патологічних осередків у кістках.** Типове ураженням при ТО – запально-деструктивний осередок, локалізований цілком чи частково в ураженій кістці; при цьому тканина, що міститься в кістковому мозку, далі продовжується в судинні канали кортексу, окістя та параоссальні тканини, обмежує осередки деструкції різних форм (рис. 1).

У частині випадків капсула запально-деструктивного осередку побудована переважно зі щільної зрілої фіброзної тканини, в якій траплялися різних розмірів острівці добре васкуляризованої незрілої сполучної тканини, що структурно відповідала грануляційній тканині (ГТ). На внутрішній поверхні капсули деструктивного осередку наявні неоднорідної товщини нашарування фібринозного та/або фібринозно-гнійного екссудату.

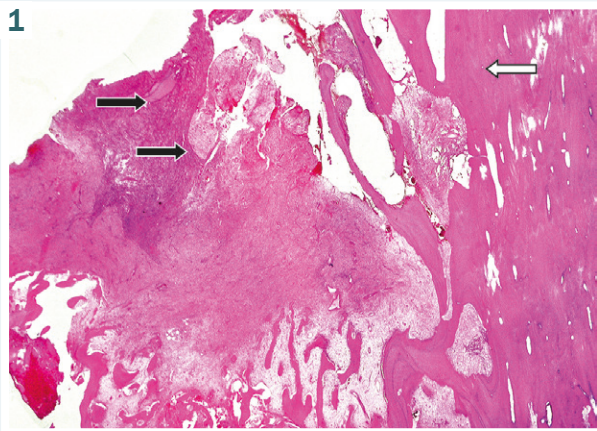


Рис. 1. Деструктивна форма осередку ТО, що прилягає до кортексу відламка, з поширеним остеонекрозом (білі стрілки). Осередок має товсту фіброзну оболонку капсули (чорні стрілки), у порожнині осередку – дрібні секвестри (чорні стрілки). Мікрофото гістопрепарату хворого Г., 35 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×12.

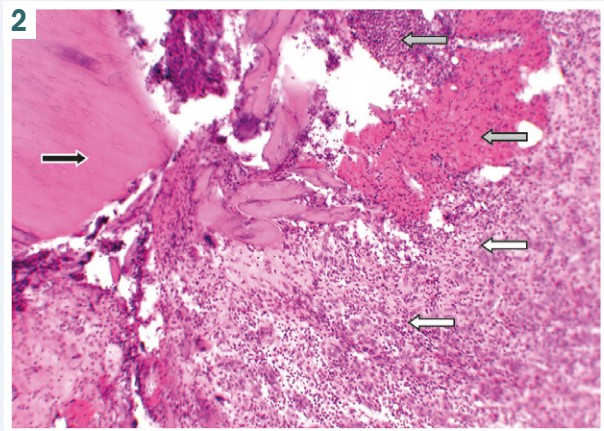


Рис. 2. Капсула та вміст деструктивного осередку ТО. Білі стрілки – внутрішня оболонка, побудована з грануляційної тканини, чорні стрілки – фібринозний і гнійний екссудат, чорна стрілка – неповний компактний секвестр. Мікрофото гістопрепарату хворої К., 54 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×75.

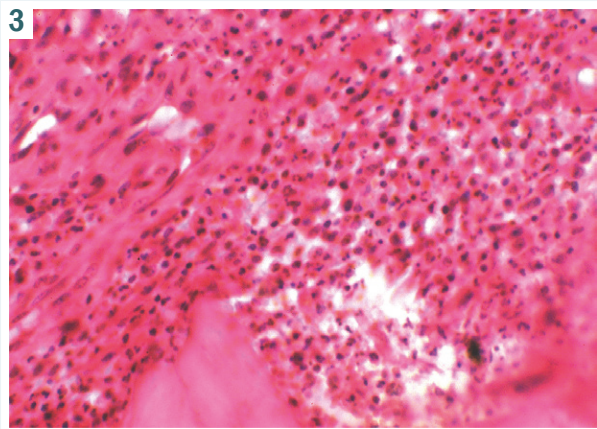


Рис. 3. Гнійне запалення у грануляційній тканині внутрішньої оболонки капсули осередку травматичного остеомієліту. Мікрофото гістопрепарату хворого П., 50 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×300.

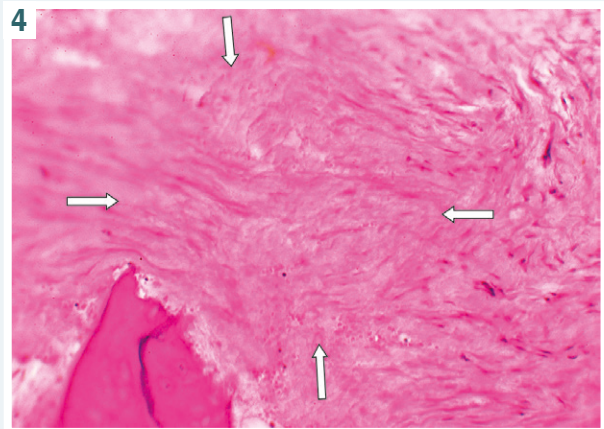


Рис. 4. Безклітинна ділянка фібронекрозу (позначена стрілками) у капсулі деструктивного осередку ТО. Мікрофото гістопрепарату хворого О., 35 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×150.

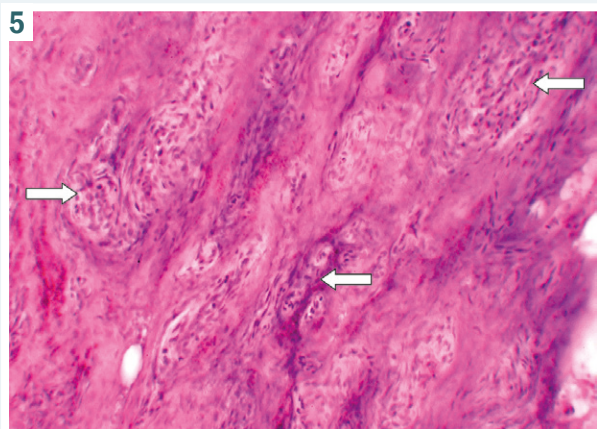


Рис. 5. Продуктивне запалення у фіброзній тканині капсули осередку ТО. Мононуклеарно-макрофагальні та плазмочитарні інфільтрати позначено стрілками. Мікрофото гістопрепарату хворого Н., 58 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×150.

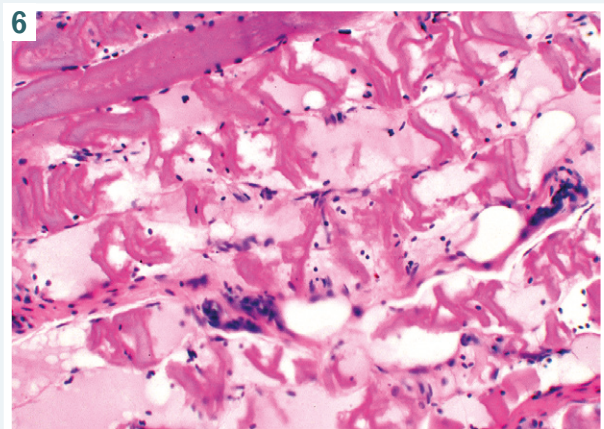


Рис. 6. Різко виражені дистрофічно-деструктивні зміни в ділянці, що прилягає до порівняно збережених МВ (праворуч внизу). Мікрофото гістопрепарату хворої К., 66 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×150.

В інших випадках сполучна тканина різних ступенів зрілості формувала типову капсулу деструктивного остеомієлітичного осередку. Внутрішня оболонка капсули утворена пухкою волокнистою, незрілою фіброзною або, найчастіше, грануляційною тканиною, котрі майже завжди мали гістологічні ознаки неспецифічного ексудативного та продуктивного запалення (рис. 2).

Характерна ознака інфекційно-запального процесу при ТО – ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку. Прояви запального процесу топографічно неоднорідні, але найхарактерніші його види – гнійне, фібринозно-гнійне, гнійно-деструктивне запалення, тобто з наявністю вторинних коагуляційних некрозів ГТ і щільною нейтрофілоцитарною інфільтрацією (рис. 3). У деяких біоптатах тканин осередків ТО від хворих із клінічними ознаками трофічних порушень у фіброзній оболонці визначили ділянки ішемічного некрозу (фібрoneкрози) різних розмірів.

**Патологія сполучної тканини.** Патогістологічне дослідження м'яких тканин, прилеглих до осередку ураження при ТО, показало: фіброзна тканина в різних ділянках має різні ступені зрілості, за об'ємом переважає доволі зріла, а подекуди склерозована фіброзна тканина. У фіброзній оболонці капсули деструктивного осередку часто виявляли слабо окреслені ділянки фібрoneкрозів, де на чималій площі відсутні клітини сполучної тканини – фібробласти, фіброцити (рис. 4).

Ступінь активності запального процесу у тканині внутрішньої оболонки капсули остеомієлітичного осередку варіював від серозного та фібринозного запалення низької активності аж до фібринозно-гнійного та гнійно-деструктивного (види найактивнішого ексудативного запалення). У внутрішній і фіброзній оболонках капсули осередку ТО спостерігали інфільтрацію мононуклеарами, макрофагоцитами та плазмодитами (рис. 5).

**Патологія скелетних м'язів.** Комплекс патологічних змін, що характеризують стан параоссальних скелетних м'язів при ТО, включає зміни м'язових волокон (МВ): атрофічні, дистрофічні та некротичні, різні ступені фіброзування строми м'яза з ущільненням ендомізії та перимізії. У розростаннях фіброзної тканини м'яза виявлена запальна інфільтрація лімфоцитами, моноцитами, макрофагоцитами та плазмодитами. Подібні патологічні зміни трактували як хронічний неспецифічний міозит різних ступенів активності.

У скелетних м'язах подекуди траплялися ділянки більш або менш виражених дистрофічно-деструктивних змін: набряк МВ із гомогенізацією та втратою поперечної посмугованості, фрагментацією, ділянками контрактурних змін, глибокого та дисконічного розпаду МВ, що супроводжувалися мононуклеарно-макрофагальною інфільтрацією помірної інтенсивності (рис. 6).

**Зв'язки між окремими клінічними, морфометричними та біохімічними показниками у хворих на травматичний остеомієліт.** Аналіз зв'язків між клінічними, біохімічними та морфометричними показниками виявив низку пар, що характеризуються слабкою силою, зі статистично значущими та статистично невірогідними значеннями коефіцієнта асоціації.

Серед пар показників «клініка – біохімія», що мали статистично значущі параметри коефіцієнта асоціації, можна відзначити такі (табл. 4):

- ступінь неконсолідованості відламків кістки – рівень ЛДГ крові. Залежність пряма, слабкої сили, з імовірністю помилки  $<0,1$ . Ця залежність означає, що у понад третині випадків поєднуються якісна ознака високий ступінь неконсолідованості відламків кістки пацієнта (псевдоартроз або повна неконсолідованість) з високими параметрами ЛДГ крові. Тобто випадки з високими значеннями першого показника частіше поєднуються з високими значеннями другого та навпаки;

- ступінь неконсолідованості відламків кістки – рівень ПКТ крові. Залежність пряма, слабкої сили, високо вірогідна. Ця залежність означає, що в понад 2/5 випадків поєднуються високий ступінь неконсолідованості відламків кістки пацієнта (псевдоартроз або повна неконсолідованість) із високими параметрами ПКТ крові. Тобто випадки з високими значеннями першого показника частіше поєднуються з високими значеннями другого та навпаки;

- вираженість трофічних порушень у кістковій тканині за клінічними оцінюванням – рівень АХЕ крові. Залежність зворотна, слабкої сили, вірогідна. Ця залежність означає, що в понад третині випадків поєднуються трофічні порушення високого ступеня в кістці з низькими параметрами АХЕ крові та навпаки. Імовірно, рівень АХЕ крові не залежить від стану трофічних порушень в ураженій ТО кістці, який оцінюють за клінічними ознаками, а визначається він іншими факторами. Можна припустити, що патологічно змінені тканини ураженої кістки (фіброзна, грануляційна) та/або запальний ексудат відіграють важливу роль у зв'язуванні АХЕ, що потрапила з уражених м'яких тканин хворого у кров.

3-поміж пар показників морфологія кісток – біохімія, що мали статистично значущі коефіцієнти асоціації, можна відзначити:

- форма патологічного осередку ТО – рівень ЛДГ крові. Залежність зворотна, слабкої сили, вірогідна. Ця залежність означає, що майже в половині випадків є зв'язок між деструктивною формою ТО великогомілкової кістки з низькими параметрами рівня ЛДГ крові. Імовірно, форма патологічного осередку ТО в ураженій кістці (деструктивна, фіброзна) не впливає на рівень ЛДГ крові, або компоненти деструктивного осередку (грануляційна, незріла фіброзна тканини, запальний ексудат) зв'язують та/або зумовлюють руйнування ЛДГ, що спричиняє зниження цього ензиму у крові;

- форма патологічного осередку ТО – рівень ПКТ крові. Залежність пряма, слабкої сили, вірогідна з імовірністю помилки  $<0,1$ . Ця залежність означає, що у приблизно третині випадків поєднуються деструктивна форма ураження кістки ТО з високими параметрами ПКТ крові та навпаки – в разі фіброзної форми рівень ПКТ частіше низький. Якщо врахувати, що при деструктивній формі ТО активність і поширеність запального процесу в капсулі осередку загалом вища, ніж при фіброзній, то ця залежність здається природною;

- секвестри в осередку ТО – рівень ЛДГ крові. Залежність зворотна, слабкої сили, вірогідна. Ця залежність означає, що майже в половині випадків



Таблиця 4. Зв'язки клінічних і морфометричних показників ураження тканин гомілки та деяких біохімічних показників сироватки крові хворих на ТО з ознаками трофічних розладів

Клінічні та морфометричні показники, їхні градації низького та високого ступенів	Біохімічні показники, їхні градації низького та високого ступенів		Коефіцієнти асоціації та статистична значущість величин		
	$r_a$	$t_{\sigma}$	$p$		
<b>Клініка – біохімія</b>					
<b>Ступінь неконсолідованості відламків кістки</b>	<b>Рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;220 од/л, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;220 од/л, n</b>			
низький ступінь: відламки консолидовані або сповільнена консолидація, n	9	4	+0,358	2,029	<0,1
високий ступінь: псевдоартроз або уламки зовсім не консолидовані, n	5	10			
<b>Ступінь неконсолідованості відламків кістки</b>	<b>Рівень прокальцитоніну (ПКТ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;0,1 нг/мл, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;0,1 нг/мл, n</b>			
низький ступінь: відламки консолидовані або сповільнена консолидація, n	10	4	+0,429	2,510	<0,02
високий ступінь: псевдоартроз або уламки зовсім не консолидовані, n	4	10			
<b>Вираженість «трофічних» порушень у кістковій тканині за клінічними оцінками</b>	<b>Рівень ацетилхолінестерази (АХЕ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;750 од/л, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;750 од/л, n</b>			
низький ступінь (трофічні порушення слабкої або середньої вираженості), n	3	11	-0,366	2,079	<0,05
високий ступінь (трофічні порушення сильної вираженості), n	8	6			
<b>Патоморфологія кісток – біохімія</b>					
<b>Форма патологічного осередку травматичного остеомієліту</b>	<b>Рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;220 од/л, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;220 од/л, n</b>			
Низький ступінь: форма фіброзна або фіброзна з мікроабсцедуванням, n	0	10	-0,462	2,500	<0,05
Високий ступінь: форма деструктивна, n	5	8			
<b>Форма патологічного осередку травматичного остеомієліту</b>	<b>Рівень прокальцитоніну (ПКТ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;0,1 нг/мл, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;0,1 нг/мл, n</b>			
Низький ступінь: форма фіброзна або фіброзна з мікроабсцедуванням, n	4	7	+0,339	1,731	<0,1
Високий ступінь: форма деструктивна, n	1	11			
<b>Секвестри</b>	<b>Рівень лактатдегідрогенази (ЛДГ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;220 од/л, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;220 од/л, n</b>			
Низький ступінь: секвестри відсутні, n	3	7	-0,469	2,548	<0,05
Високий ступінь: наявні повні або неповні секвестри, n	10	3			
<b>Патоморфологія м'яких тканин – біохімія</b>					
<b>Ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку в параосальних м'яких тканинах</b>	<b>Рівень прокальцитоніну (ПКТ) крові</b>				
	<b>Низький ступінь – &lt;0,1 нг/мл, n</b>	<b>Високий ступінь – &gt;0,1 нг/мл, n</b>			
Низький ступінь: ексудативне запалення відсутнє, n	7	0	+0,394	1,871	<0,1
Високий ступінь: наявне ексудативне запалення будь-якої активності, n	8	4			

У таблицю включили тільки пари показників, для яких значення коефіцієнта асоціації становить  $r_a > |0,3|$  з імовірністю помилки <0,1 або менше, напівжирним шрифтом позначено пари показників, для яких параметри зв'язків виявилися статистично значущими.

$r_a$ : значення коефіцієнта асоціації;  $t_{\sigma}$ : фактичне значення критерію Стюдента при оцінюванні статистичної значущості коефіцієнта асоціації  $r_a$ ;  $p$ : імовірність помилки при спростуванні нуль-гіпотези під час оцінювання значення коефіцієнта асоціації.

поєднуються наявність секвестрів в осередку ТО великогомілкової кістки з низькими параметрами рівня ЛДГ крові та навпаки. Вважаємо, що наявність секвестрів в осередку ТО ураженої кістки не впливає на збільшення рівня ЛДГ крові, або припускаємо, що компоненти деструктивного осередку (грануляційна, незріла фіброзна тканини, запальний ексудат), які майже завжди супроводжують секвестри в осередку ТО, зв'язують та/або руйнують ЛДГ, що спричиняє зниження цього ензиму в крові хворих;

Серед пар показників морфологія м'яких тканин – біохімія найвище значення коефіцієнта асоціації з вірогідністю помилки <0,1 мала пара:

– ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку в параосальних м'яких тканинах – рівень ПКТ крові. Залежність пряма, слабкої сили. Ця залежність означає, що в майже 2/5 випадків поєднуються наявність ексудативного запалення в осередку в м'яких тканинах з високими параметрами ПКТ крові та навпаки – за відсутності ознак ексудативного запалення рівень ПКТ частіше має низькі параметри. Імо-

вірно, рівень ПКТ у сироватці крові об'єктивно показує наявність або відсутність ексудативного запалення в осередку ураження м'яких тканин, який супроводжує осередок ТО, що є у великогомілкової кістці.

## Обговорення

Використання біохімічних маркерів для клінічної диференційної діагностики різних бактеріальних інфекцій порівняно широко застосовують у медичній практиці.

У результаті метааналізів здійснили порівняльне оцінювання точності визначення ПКТ і С-реактивного протеїну (СРП) у діагностиці бактеріальних інфекцій. Показник рівня ПКТ виявився чутливішим (88 % проти 75 %) і специфічним (81 % проти 67 %), ніж СРП щодо диференціювання випадків бактеріального та неінфекційного запалення. Чутливість методу для розрізнення бактеріальної та вірусної інфекції також була вищою в разі застосування ПКТ, ніж СРП (92 % проти 86 %), специфічність показників зівставна (73 % проти 70 %) [11].

В іншій роботі, де на підставі метааналізу 33 досліджень визначали точність ПКТ-тесту як діагностичного для сепсису, тяжкого сепсису або септичного шоку порівняно з СРП, встановили: у 15 дослідженнях, де використовували обидва маркери, підсумкова крива оперативних характеристик суттєво вища для ПКТ, ніж для СРП (0,78 vs. 0,71,  $p = 0,02$ ). Автори зробили висновок, що ПКТ як біологічний діагностичний маркер для названих патологічних станів є кращим, ніж СРП [14].

Окремі автори підкреслюють, що під час застосування ПКТ-тесту в діагностиці інфекцій, які потребують призначення антибіотиків, важливим є визначення кінетики параметрів ПКТ. Це стосується хворих з інфекціями нижніх відділів респіраторного тракту, септичних хворих у критичному стані, пацієнтів з інфекціями сечовивідних шляхів, менінгітом, а також хворих на гостру серцеву недостатність, що, ймовірно, ускладнена пневмонією тощо [15].

Кілька досліджень та оглядів присвячено вивченню діагностичної цінності ПКТ-тесту у хворих на найпоширеніші інфекційно-запальні ураження кісток і суглобів – остеомієліти й остеоартрити. Так, мета одного з ранніх досліджень із цієї теми – визначення цінності ПКТ-тесту в діагностиці остеомієліту, септичного артриту та інших запальних уражень скелета у хворих дитячого віку. З-поміж лабораторних показників визначали кількість лейкоцитів, ШОЕ, СРП і ПКТ, останній – із застосуванням імунохроматографії. У 12 дітей діагностували остеомієліт, із них у 7 виявили підвищений рівень ПКТ; у 11 – септичний артрит, рівень ПКТ підвищений лише у трьох. Серед дітей з іншими діагнозами (інфекція м'яких тканин, транзиторний синовіт або реактивний артрит) рівень ПКТ не підвищувався, різниця середніх параметрів ПКТ між випадками скелетної інфекції та іншими захворюваннями вірогідна [20].

У роботі, присвяченій визначенню діагностичної цінності ПКТ у хворих на септичний (14 пацієнтів) та нон-септичний артрит (28 осіб), яким діагноз визначали, ґрунтуючись на результатах і та лабораторних методів, встановили: пацієнти з септичним артритом мали суттєво вищі параметри ПКТ, ніж пацієнти з нон-септичним артритом. При пороговому рівні ПКТ 0,1 нг/мл чутливість методу становила 100 %, специфічність – 46 %, але специфічність підвищувалась до 93 % після виключення пацієнтів із нон-септичним артритом або супутньою інфекцією інших органів. Чутливість і специфічність щодо діагнозу септичного артриту вищі в разі використання ПКТ, ніж СРП [21].

У дослідженні когорти проспективно визначених 82 хворих різного віку, в яких клінічно припускали остеомієліт або септичний артрит, визначали низку лабораторних показників, і зокрема ПКТ-тест. Хворих класифікували на три групи: I – підтверджена піогенна інфекція ( $n = 27$ ), II, – ймовірно, піогенна ( $n = 21$ ), III – нон-інфекційне запалення ( $n = 34$ ). Виявилось, що у I групі середній параметр ПКТ вірогідно вищий, ніж у групах II та III ( $p < 0,05$ ). При пороговому рівні 0,4 нг/мл чутливість ПКТ-тесту щодо остеомієліту та септичного артриту становила 85,2 %, специфічність – 87,3 % [22].

Виконали метааналіз результатів 7 досліджень можливостей ПКТ-тесту для ідентифікації остеомієліту та септичного артриту у хворих з ортопедичною патологією. Масив обстеження включав 583 пацієнтів з припущенням про інфекцію кісток і суглобів, із них у 131 підтвердили остеомієліт або септичний артрит. Аналіз ПКТ-даних показав загальну чутливість 0,67, пороговий рівень – 0,2–0,3 нг/мл. Результати роботи свідчать, що ПКТ-тест може бути зручнішим у діагностиці септичного артриту або остеомієліту, а врахування нижнього порогового рівня ПКТ може поліпшити результати діагностики [23].

В одній із робіт оцінювали диференційно-діагностичні можливості ПКТ-тесту щодо септичного артриту порівняно з підрахунком лейкоцитів у синовіальній рідині, ШОЕ, СРП і гемокультурою. Виконали проспективне обстеження 78 хворих на гострий артрит, у 28 осіб діагностували септичний артрит, у 50 – артрит, ймовірно, нон-бактеріальної етіології. Встановили, що хворі на септичний артрит мали майже втричі вищі середні параметри ПКТ, ніж хворі на нон-бактеріальний артрит. Пороговий рівень ПКТ становив 0,5 нг/мл, чутливість, специфічність і точність під час діагностики бактеріального артриту – 59,3 %, 86,0 % і 75,3 % відповідно. Комбінування ПКТ-тесту з іншими методами не показало вищу чутливість і специфічність щодо бактеріального артриту, ніж рівень тільки ПКТ [24].

У результаті метааналізу 10 робіт, що включав 838 пацієнтів, яким визначали параметри ПКТ і СРП, виявили: загальна чутливість ПКТ-тесту під час діагностики септичного артриту становила 0,54, специфічність – 0,95. Автори зробили висновок, що ПКТ-тест є більш цінним показником для диференціації септичного та нон-септичного артриту, ніж СРП [25].

У роботах, присвячених опису випадків остеомієліту, де визначали вміст ензимів ЛДГ та АХЕ, наведено їхні значення в окремих хворих. Так, у пацієнта 10 років із хронічним рецидивним мультифокальним остеомієлітом (ХРМО) рівень ЛДГ крові становив 230 Од/л [17] (норма – 140–280 Од/л). Ще в одній дитині з білатеральним остеомієлітом клубових кісток та ураженням печінки, що викликані збудником хвороби котячих подряпин *Bartonella henselae*, рівень ЛДГ відповідав нормі [18]. Але у рідкісному випадку малосимптомного остеомієліту стегнової кістки у хлопчика 5 років із лабораторних показників був підвищений тільки рівень ЛДГ – 276 Од/л (референсні значення норми – 120–250 Од/л) [19]. Отже, слід враховувати, що відхилення рівня ЛДГ за межі норми за гематогенного остеомієліту можуть траплятися у клініці.

Щодо АХЕ, то знайшли тільки одну роботу, де визначали параметри цього біохімічного показника. Так, у хворого 26 років, у якого діагностували ХРМО з ураженням великогомілкової кістки та прилеглих м'язів, рівень АХЕ відповідав нормі (11,6 Од/л) [16].

Раніше ми встановили низку залежностей між клінічними та морфометричними показниками стану тканин ураженої кінцівки у хворих на ТО, що поєднується з трофічними розладами у тканинах гомілки. Найтісніші зв'язки щодо окремих морфометричних показників осередків ураження виявляють такі клінічні

дані, як стать хворих, вид перелому та давність останньої некротомії [6].

У цій роботі результати патоморфологічного та біохімічного досліджень показали зворотні зв'язки проявів запально-деструктивного ураження з активністю ензимів метаболізму клітин скелетних м'язів (ЛДГ, АХЕ), прямі зв'язки з показником ПКТ, що показує активність запального процесу у тканинах патологічних осередків у кістці та м'яких тканинах. Відхилення біохімічних показників метаболізму від норми показують глибину трофічних порушень у кістках і м'яких тканинах, можуть бути маркерами для визначення ступеня вираженості й ефективності лікування хворих на ТО кісток гомілки.

## Висновки

1. Середні параметри окремих біохімічних показників сироватки крові (вмісту прокальцитоніну, лактатдегідрогенази та ацетилхолінестерази) у хворих на травматичний остеомієліт великогомілкової кістки, що супроводжується трофічними порушеннями у тканинах гомілки, вірогідно вищі за середні параметри цих показників в інтактних донорів.

2. У більшості хворих на хронічний травматичний остеомієліт кісток гомілки виявили патологічні зміни в тканинах гомілки, які за результатами клінічного оцінювання зазвичай вважають трофічними порушеннями. Це поєднання дисциркуляторних, ішемічно-некротичних, ексудативних, продуктивних запальних і репаративних процесів, що разом створюють складну картину комплексного ураження та можуть персистувати впродовж багатьох років.

3. Проявами трофічних порушень у кістках і пароссальних м'язах при хронічному травматичному остеомієліті слід вважати істотне фіброзування капсули запально-деструктивного осередку, що супроводжується редукцією мікроциркуляторного русла, остеонекрози за межами травматичних інфарктів кісток і секвестри як наслідки гострого травматичного осередково-ішемічного ушкодження кісткової тканини, а також фібрoneкрози капсули остеомієлітичного осередку. У м'яких тканинах, – імовірно, запально-некротичні васкуліти, що спричиняють утворення великих інтерстиційних та осередкових фібрoneкротів, атрофію, дистрофію м'язових волокон і фіброзування м'язів.

4. У разі хронічного травматичного остеомієліту, що поєднується з трофічними порушеннями тканин гомілки, встановили низку зв'язків між клінічними, біохімічними даними та морфологічними показниками стану тканин ураженої кінцівки. Так, з-поміж морфологічних показників ураження найтісніші зв'язки щодо біохімічних показників виявляли у кістках (форма патологічного осередку травматичного остеомієліту та наявність секвестрів) і м'яких тканинах (ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 16.10.2020

Після доопрацювання / Revised: 18.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 05.07.2021

## Відомості про авторів:

Григорівський В. В., д-р мед. наук, професор, лікар-патологоанатом вищої категорії, зав. відділу патоморфології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.  
ORCID ID: [0000-0002-6375-1595](https://orcid.org/0000-0002-6375-1595)

Магомедов С., д-р біол. наук, професор, керівник відділу біохімії та клінічних аналізів, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-1958-4037](https://orcid.org/0000-0003-1958-4037)

Грицай М. П., д-р мед. наук, професор, керівник відділу кістково-гнійної хірургії, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-1608-7879](https://orcid.org/0000-0003-1608-7879)

Цокало В. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення кістково-гнійної хірургії, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-9509-6337](https://orcid.org/0000-0002-9509-6337)

Кузуб Т. А., науковий співробітник відділу біохімії та клінічних аналізів, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-0897-8324](https://orcid.org/0000-0002-0897-8324)

Поліщук Л. В., молодший науковий співробітник відділу біохімії та клінічних аналізів, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-9416-4596](https://orcid.org/0000-0002-9416-4596)

Григорівська А. В., лікар-патологоанатом відділу патоморфології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-8962-2150](https://orcid.org/0000-0002-8962-2150)

## Information about authors:

Hryhorovskiy V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Pathologist of the Highest Category, Head of the Department of Pathomorphology, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Mahomedov S., DSc, Professor, Head of the Department of Biochemistry and Clinical Analyses, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Hrytsai M. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Bone Purulent Surgery, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Tsokalo V. P., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Bone Purulent Surgery, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kuzub T. A., Researcher of the Department of Biochemistry and Clinical Analyses, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv

Polishchuk L. V., Junior Researcher of the Department of Biochemistry and Clinical Analyses, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Hryhorovska A. V., Doctor-pathologist of the Department of Pathomorphology, SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

## Сведения об авторах:

Григорьевский В. В., д-р мед. наук, профессор, врач-патологоанатом высшей категории, зав. отделом патоморфологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Магомедов С., д-р биол. наук, профессор, зав. отделом биохимии и клинических анализов, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Грицай Н. П., д-р мед. наук, профессор, зав. отделом костно-гнойной хирургии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Цокало В. Н., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения костно-гнойной хирургии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Кузуб Т. А., научный сотрудник отдела биохимии и клинических анализов, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Полищук Л. В., младший научный сотрудник отдела биохимии и клинических анализов, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Григоровская А. В., врач отдела патоморфологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

### Список літератури

- [1] Sato, S. K., & Pimenta-Rodrigues, M. V. Morphological aspects of osteomyelitis: a mini-review. *Journal of Morphological Sciences*. 2012. Vol. 29, Iss. 1. P. 16-17.
- [2] Григоровский В. В. Аспекты патоморфологии и номенклатуры в современной классификации неспецифических остеомиелитов. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2013. № 1. С. 77-87.
- [3] Beck-Broichsitter B. E., Smeets R., Heiland M. Current concepts in pathogenesis of acute and chronic osteomyelitis. *Current opinion in infectious diseases*. 2015. Vol. 28, Iss. 3. P. 240-245. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000155>
- [4] Fracture-related infection: a consensus on definition from an international expert group / W. J. Metsemakers, M. Morgenstern, M. A. McNally et al. *Injury*. 2018. Vol. 49, Iss. 3. P. 505-510. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.08.040>
- [5] Diagnosing fracture-related infection: current concepts and recommendations / G. Govaert, R. Kuehl, B. L. Atkins et al. *Journal of orthopaedic trauma*. 2020. Vol. 34, Iss. 1. P. 8-17. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001614>
- [6] Гістопатологія тканин гомілки та клініко-морфологічні залежності у хворих на травматичний остеомиєліт із тропічними розладами / В. В. Григоровський, М. П. Грицай, В. М. Цокало та ін. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2020. № 1. С. 54-65.
- [7] Метаболізм соединительной ткани у больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей / А. М. Магомедов, Л. В. Полищук, Т. А. Кузуб та ін. *Травма*. 2016. Т. 17, № 1. С. 111-115.
- [8] Evaluating the Use of Serum Inflammatory Markers for Preoperative Diagnosis of Infection in Patients with Nonunions / S. Wang, P. Yin, C. Quan et al. *Biomed Research International*. 2017. ID 9146317. <https://doi.org/10.1155/2017/9146317>
- [9] Значення кількісного визначення прокальцитоніну для діагностики септичних ускладнень у хворих з аутоімунними ревматическими захворюваннями / С. В. Лапін, А. Л. Маслянский, Н. М. Лазарева та др. *Клінічеська лабораторна діагностика*. 2013. № 1. С. 28-33.
- [10] Прокальцитоніновий тест в ревматології / Д. В. Буханова, Б. С. Белов, Г. М. Тарасова, А. Г. Дилбарян. *Клініцист*. 2017. Т. 11, № 2. С. 16-23. <https://doi.org/10.17650/1818-8338-2017-11-2-16-23>
- [11] Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis / L. Simon, F. Gauvin, D. K. Amre et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2004. Vol. 39, Iss. 2. P. 206-217 <https://doi.org/10.1086/421997>
- [12] Пучкова М. С. Дзєбєова Т. А., Каминська Л. А. Функціональна роль прокальцитоніну при різних захворюваннях. *Вестник науки и образования*. 2015. Т. 3, № 5. С. 163-168.
- [13] Прокальцитонін як біохімічний маркер при діагностиці запальних процесів (огляд літератури) / С. Магомедов, О. М. Кравченко, Г. Б. Колов, А. В. Шевчук. *Вісник ортопедії, травматології та протезування*. 2018. № 1. С. 63-67.
- [14] Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis / B. Uzzan, R. Cohen, P. Nicolas et al. *Critical Care Medicine*. 2006. Vol. 34, Iss. 7. P. 1996-2003. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000226413.54364.36>
- [15] Procalcitonin-guided diagnosis and antibiotic stewardship revisited / R. Sager, A. Kutz, B. Mueller, P. Schuetz. *BMC Medicine*. 2017. Vol. 15, Iss. 1. P. 15. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0795-7>
- [16] Adult-onset Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis with High Intensity of Muscles Detected by Magnetic Resonance Imaging, Successfully Controlled with Tocilizumab / H. Sato, Y. Wada, E. Hasegawa et al. *Internal medicine*. 2017. Vol. 56, Iss. 17. P. 2353-2360. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.8473-16>
- [17] Gallagher K., Armon K., Bale P. Bone inflammation and fever: an atypical presentation of chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO)? *Rheumatology*. 2018. Vol. 57, Suppl. 8. key273.034. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/key273.034>
- [18] An Atypical Case of Bartonella henselae Osteomyelitis and Hepatic Disease / D. M. Mathews, K. M. Vance, P. M. McMahon et al. *Case Reports in Pediatrics*. 2018, Art. ID 2750275. <https://doi.org/10.1155/2018/2750275>
- [19] Sinhabahu V. P., Jamison S. Unusual presentation of osteomyelitis: A clinical dilemma. *Sri Lanka Journal of Child Health*. 2020. Vol. 49, Iss. 4. P. 399-400. <http://dx.doi.org/10.4038/slch.v49i4.9276>
- [20] Procalcitonin as a diagnostic aid in osteomyelitis and septic arthritis / Y. Butbul-Aviel, A. Koren, R. Halevy, W. Sakran. *Pediatric Emergency Care*. 2005. Vol. 21, Iss. 12. P. 828-832. <https://doi.org/10.1097/01.pec.0000190226.12610.24>
- [21] Procalcitonin for Discrimination Between Septic and Non-Septic Arthritis / T. Hügler, P. Schuetz, B. Mueller et al. *Clinical and Experimental Rheumatology*. 2008. Vol. 26, Iss. 3. P. 453-456.
- [22] Serum Procalcitonin is a sensitive and specific marker in the diagnosis of septic arthritis and acute osteomyelitis / K. Maharajan, D. K. Patro, J. Menon et al. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2013. Vol. 8. P. 1-7. <https://doi.org/10.1186/1749-799X-8-19>
- [23] The use of procalcitonin in the diagnosis of bone and joint infection: a systemic review and meta-analysis / C. J. Shen, M. S. Wu, K. H. Lin et al. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2013. Vol. 32, Iss. 6. P. 807-814. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1812-6>
- [24] Procalcitonin as a Diagnostic Aid in Patients With Acute Bacterial Septic Arthritis / S. Paosong, P. Narongroeknawin, R. Pakchotanont et al. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2015. Vol. 18, Iss. 3. P. 352-359. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12496>
- [25] Serum Procalcitonin Levels as a Diagnostic Marker for Septic Arthritis: A Meta-Analysis / J. Zhao, Sh. Zhang, L. Zhang et al. *American Journal of Emergency Medicine*. 2017. Vol. 35, Iss. 8. P. 1166-1171. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2017.06.014>

### References

- [1] Sato, S. K., & Pimenta-Rodrigues, M. V. (2012). Morphological aspects of osteomyelitis: a mini-review. *Journal of Morphological Sciences*, 29(1), 16-17.
- [2] Grigorovskii, V. V. (2013). Aspekty patomorfologii i nomenklatury v sovremennoi klassifikatsii nespecificheskikh osteomielitov [Aspects of pathomorphology and nomenclature in the contemporary classification of nonspecific osteomyelitides]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, (3), 77-87. [in Russian].
- [3] Beck-Broichsitter, B. E., Smeets, R., & Heiland, M. (2015). Current concepts in pathogenesis of acute and chronic osteomyelitis. *Current opinion in infectious diseases*, 28(3), 240-245. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000155>
- [4] Metsemakers, W. J., Morgenstern, M., McNally, M. A., Moriarty, T. F., McFadyen, I., Scarborough, M., Athanasou, N. A., Ochsnr, P. E., Kuehl, R., Raschke, M., Borens, O., Xie, Z., Velkes, S., Hungerer, S., Kates, S. L., Zalavras, C., Giannoudis, P. V., Richards, R. G., & Verhofstad, M. (2018). Fracture-related infection: A consensus on definition from an international expert group. *Injury*, 49(3), 505-510. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.08.040>
- [5] Govaert, G., Kuehl, R., Atkins, B. L., Trampuz, A., Morgenstern, M., Obrensky, W. T., Verhofstad, M., McNally, M. A., Metsemakers, W. J., & Fracture-Related Infection (FRI) Consensus Group (2020). Diagnosing Fracture-Related Infection: Current Concepts and Recommendations. *Journal of orthopaedic trauma*, 34(1), 8-17. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001614>
- [6] Hryhorovskiy, V. V., Hrytsai, M. P., Tsokalo, V. M., Kolov, H. B., & Hryhorovska, A. V. (2020). Histopatologiya tkanyn homilky ta kliniko-morfologichni zalezhnosti u hvoryh na travmatychny osteomielit iz trofichnymy rozladamy [Crural tissues histopathology and clinical-morphological correlations in patients with traumatic osteomyelitis, combined with trophic disorders]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, (1), 54-65. [in Ukrainian].
- [7] Mahomedov, S., Polishchuk, L. V., Kuzub, T. A., Kolov, H. B., & Hordii, A. S. (2016). Metabolizm soedinitel'noi tkani u bol'nykh s gnoynymi oslozhneniyami posle osteosinteza otlomkov dlinnykh kostei [The metabolism of connective tissue in patients with suppurative complications after osteosynthesis of long bone fragments]. *Travma*, 17(1), 111-115. [in Russian].
- [8] Wang, S., Yin, P., Quan, C., Khan, K., Wang, G., Wang, L., Cui, L., Zhang, L., Zhang, L., & Tang, P. (2017). Evaluating the Use of Serum Inflammatory Markers for Preoperative Diagnosis of Infection in Patients with Nonunions. *BioMed research international*, 2017, 9146317. <https://doi.org/10.1155/2017/9146317>
- [9] Lapin, S. V., Maslyanskiy, A. L., Lazareva, N. M., Vasilyeva, Ye. Yu., & Totolyan, A. A. (2013). Znacheniye kolichestvennogo opredeleniya prokal'tsitonina dlya diagnostiki septicheskih oslozhneniy u bol'nykh s autoimunnymi revmaticheskimi zabolevaniyami [The value of quantitative analysis of procalcitonine in diagnostics of septic complications in patients with autoimmune rheumatic diseases]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 58(1), 28-33. [in Russian].
- [10] Bukhanova, D. V., Belov, B. S., Tarasova, G. M., Dilbaryan, A. G. (2017). Prokal'tsitoninovy test v revmatologii [Procalcitonin testing in rheumatology]. *Klinitsist*, 11(2), 16-23. [in Russian]. <https://doi.org/10.17650/1818-8338-2017-11-2-16-23>
- [11] Simon, L., Gauvin, F., Amre, D. K., Saint-Louis, P., Lacroix, J. (2004). Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacte-

- rial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 39(2), 206-217. <https://doi.org/10.1086/421997>
- [12] Puchkova, M. S., Dzebojeva, T. A., Kaminskaya, L. A. (2015). Funktsional'naya rol' prokal'tsitonina pri razlichnykh zabolevaniyakh [The functional role of procalcitonin by some diseases]. *Vestnik nauki i obrazovaniya*, 3(5), 163-168. [in Russian].
- [13] Mahomedov, S., Kravchenko, O. M., Kolov, G. B., & Shevchuk, A. V. (2018). Prokal'tsytonin yak biokhimichniy marker pry diahnostytsi zapal'nykh protsesiv (ohliad literatury) [Procalcitonin as a biochemical marker in the diagnosis of inflammatory processes (literature review)]. *Visnyk ortopedii, travmatologii ta protezuvannia*, (1), 63-67. [in Ukrainian].
- [14] Uzzan, B., Cohen, R., Nicolas, P., Cucherat, M., & Perret, G. Y. (2006). Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Critical care medicine*, 34(7), 1996-2003. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000226413.54364.36>
- [15] Sager, R., Kutz, A., Mueller, B., & Schuetz, P. (2017). Procalcitonin-guided diagnosis and antibiotic stewardship revisited. *BMC Medicine*, 15(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0795-7>
- [16] Sato, H., Wada, Y., Hasegawa, E., Nozawa, Y., Nakatsue, T., Ito, T., Kuroda, T., Saeki, T., Umezue, H., Suzuki, Y., Nakano, M., & Narita, I. (2017). Adult-onset Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis with High Intensity of Muscles Detected by Magnetic Resonance Imaging, Successfully Controlled with Tocilizumab. *Internal medicine*, 56(17), 2353-2360. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.8473-16>
- [17] Gallagher, K., Armon, K., & Bale, P. (2018). Bone inflammation and fever: an atypical presentation of chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO)? *Rheumatology*, 57(Suppl 8), key273.034. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/key273.034>
- [18] Mathews, D. M., Vance, K. M., McMahon, P. M., Boston, C., & Bolton, M. T. (2018). An Atypical Case of *Bartonella henselae* Osteomyelitis and Hepatic Disease. *Case reports in pediatrics*, 2018, 2750275. <https://doi.org/10.1155/2018/2750275>
- [19] Sinhabahu, V. P., Jamison, S. (2020). Unusual presentation of osteomyelitis: A clinical dilemma. *Sri Lanka Journal of Child Health*, 49(4), 399-400. <http://dx.doi.org/10.4038/sljch.v49i4.9276>
- [20] Butbul-Aviel, Y., Koren, A., Halevy, R., & Sakran, W. (2005). Procalcitonin as a diagnostic aid in osteomyelitis and septic arthritis. *Pediatric emergency care*, 21(12), 828-832. <https://doi.org/10.1097/01.pec.0000190226.12610.24>
- [21] Hügle, T., Schuetz, P., Mueller, B., Laifer, G., Tyndall, A., Regenass, S., & Daikeler, T. (2008). Serum procalcitonin for discrimination between septic and non-septic arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*, 26(3), 453-456.
- [22] Maharajan, K., Patro, D. K., Menon, J., Hariharan, A. P., Parija, S. C., Poduval, M., & Thimmaiah, S. (2013). Serum Procalcitonin is a sensitive and specific marker in the diagnosis of septic arthritis and acute osteomyelitis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 8, 19. <https://doi.org/10.1186/1749-799X-8-19>
- [23] Shen, C. J., Wu, M. S., Lin, K. H., Lin, W. L., Chen, H. C., Wu, J. Y., Lee, M. C., & Lee, C. C. (2013). The use of procalcitonin in the diagnosis of bone and joint infection: a systemic review and meta-analysis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 32(6), 807-814. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1812-6>
- [24] Paosong, S., Narongroeknawin, P., Pakchotanon, R., Asavatanabodee, P., & Chaiamnuay, S. (2015). Serum procalcitonin as a diagnostic aid in patients with acute bacterial septic arthritis. *International journal of rheumatic diseases*, 18(3), 352-359. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12496>
- [25] Zhao, J., Zhang, S., Zhang, L., Dong, X., Li, J., Wang, Y., & Yao, Y. (2017). Serum procalcitonin levels as a diagnostic marker for septic arthritis: A meta-analysis. *The American journal of emergency medicine*, 35(8), 1166-1171. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2017.06.014>

## Роль мієлопероксидази як діагностичного та прогностичного фактора при серцево-судинній патології (гострому коронарному синдромі)

М. П. Копиця<sup>ID A,C,E,F</sup>, Ю. В. Родіонова<sup>ID \*A,B,D,E</sup>, Н. В. Титаренко<sup>ID C,B,E</sup>,  
І. М. Кутя<sup>ID B,E</sup>, Я. В. Гільова<sup>ID B,E</sup>

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

Мієлопероксидаза – один із ключових ферментів, що бере участь в окислювальному стресі та запаленні. Його підвищені рівні визначають у широкому діапазоні при гострих і хронічних формах серцево-судинних захворювань. Запалення призводить до вивільнення ензиму з лейкоцитів із формуванням таких продуктів, як гіпохлоритна кислота, негативно впливаючи на білки-мішені. Суперечливі наукові дані щодо прогностичної ролі цього біомаркера під час захворювання органів кровообігу породжують науковий інтерес, актуалізують дослідження в цьому напрямі.

**Мета роботи** – аналіз відомостей фахової літератури щодо мієлопероксидази та можливості її клінічного використання для діагностики та стратифікації ризику пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями.

**Матеріали та методи.** Пошук та узагальнення відомостей провідних фахових джерел, що індексуються наукометричними базами PubMed, Scopus, Web of Science.

**Результати.** Результати досліджень свідчать, що мієлопероксидаза активно залучена в патофізіологію серцево-судинних захворювань через участь у запаленні, окислювальному стресі, надмірному утворенні проатерогенних ліпопротеїнів, зміні активності оксиду азоту, ендотеліальної дисфункції, а також через вплив на нестабільність атеросклеротичних бляшок. У пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями, включаючи ішемічну хворобу серця, концентрація цього протеїну збільшена та часто пов'язана з поганим прогнозом, зокрема з підвищеним ризиком смертності. Метаболіти мієлопероксидази часто є чинниками, що зумовлюють пошкодження клітин в умовах ішемії. Розглянули також взаємозв'язок ензиму з розвитком рестенозу, ефективністю ревазуляризації після черешкірного коронарного втручання.

**Висновки.** Відомості, що наводимо, здебільшого визначають мієлопероксидазу як вагомий маркер прогнозування віддалених результатів спостереження та розвитку серйозних несприятливих серцево-судинних подій, смертності в пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями. Незважаючи на успіхи в вивченні комплексних ефектів мієлопероксидази, привертає увагу суперечливість результатів, що зумовлює необхідність наступних досліджень для з'ясування повного клінічного потенціалу мієлопероксидази у пацієнтів із серцево-судинною патологією.

### Ключові слова:

мієлопероксидаза, гострий коронарний синдром, інфаркт міокарда, рестеноз, серцево-судинна патологія, прогноз, стратифікація ризику.

Патологія. 2021.  
Т. 18, № 2(52).  
С. 229-242

\*E-mail:  
julia.rodionova26@  
gmail.com

## The role of myeloperoxidase as a diagnostic and prognostic factor in cardiovascular pathology (acute coronary syndrome)

M. P. Kopytsia, Yu. V. Rodionova, N. V. Tytarenko, I. M. Kutia, Ya. V. Hilova

Myeloperoxidase is one of the key enzymes involved in oxidative stress and inflammation. Its elevated levels are determined in a wide range of both acute and chronic forms of cardiovascular diseases. The inflammation results in the release of the enzyme from the white blood cells to form products such as hypochlorous acid, which in turn can have a negative effect on the target proteins. Inconsistent evidence on the predictive role of this biomarker in diseases of the circulatory system generates scientific interest and provokes further research in this direction.

**The aim** of this review is to analyze the scientific literature data on myeloperoxidase as a possible clinical use for the diagnosis and risk stratification of patients with cardiovascular diseases.

**Materials and methods.** Searching and generalization of data from leading specialized sources, which are indexed by scientific databases PubMed, SCOPUS, Web of Science.

**Results.** The results of the studies indicate that myeloperoxidase is actively involved in the pathophysiology of cardiovascular diseases through participation in oxidative stress and inflammation, excessive production of proatherogenic lipoproteins, changes in nitric oxide activity, endothelial dysfunction, and due to the effect on the instability of atherosclerotic plaques. In patients with cardiovascular diseases, including ischemic heart disease, the concentration of the indicated protein is increased and is often associated with a poor prognosis, including an increased risk of mortality. Myeloperoxidase metabolites are often the factors that contribute to cell damage under conditions of ischemia. The review also considers the relationship of the enzyme with the development of restenosis and the effectiveness of revascularization after percutaneous coronary intervention.

**Conclusions.** The presented data mainly define myeloperoxidase as a significant marker for predicting long-term follow-up results and the development of serious adverse cardiovascular events, mortality in patients with cardiovascular disease. At the same time, despite the great achievements in disclosing the complex effects of myeloperoxidase, inconsistency in the available results is noteworthy. This controversy necessitates further research to elucidate and reveal the full clinical potential of myeloperoxidase in patients with cardiovascular pathology.

### Key words:

myeloperoxidase, acute coronary syndrome, myocardial infarction, restenosis, cardiovascular pathology, prognosis, risk stratification.

Pathologia  
2021; 18 (2), 229-242

**Ключевые слова:** миелопероксидаза, острый коронарный синдром, инфаркт миокарда, рестеноз, сердечно-сосудистая патология, прогноз, стратификация риска.

**Патология. 2021.**  
Т. 18, № 2(52).  
С. 229-242

## Роль миелопероксидазы как диагностического и прогностического фактора при сердечно-сосудистой патологии (остром коронарном синдроме)

Н. П. Копица, Ю. В. Родионова, Н. В. Титаренко, И. Н. Кутя, Я. В. Гилёва

Миелопероксидаза – один из ключевых ферментов, который участвует в окислительном стрессе и воспалении. Его повышенные уровни определяют в широком диапазоне при острых и хронических формах сердечно-сосудистых заболеваний. Воспаление приводит к высвобождению энзима из лейкоцитов с формированием таких продуктов, как хлорноватистая кислота, которая может оказать негативное влияние на белки-мишени. Противоречивые научные данные о прогностической роли данного биомаркера при заболеваниях органов кровообращения порождают научный интерес и актуализируют исследования в этом направлении.

**Цель работы** – анализ научной литературы о миелопероксидазе и возможности её клинического использования для диагностики и стратификации риска пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

**Материалы и методы.** Поиск и обобщение данных ведущих специализированных источников, которые индексируются наукометрическими базами PubMed, Scopus, Web of Science.

**Результаты.** Результаты исследований свидетельствуют, что миелопероксидаза активно вовлечена в патофизиологию сердечно-сосудистых заболеваний через участие в окислительном стрессе и воспалении, избыточном образовании проатерогенных липопротеинов, изменении активности оксида азота, эндотелиальной дисфункции и из-за влияния на нестабильность атеросклеротических бляшек. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая ишемическую болезнь сердца, увеличена концентрация этого протеина и часто связана с плохим прогнозом, в том числе с повышенным риском смертности. Метаболиты миелопероксидазы часто являются факторами, способствующими повреждению клеток в условиях ишемии. В обзоре рассмотрена взаимосвязь энзима с развитием рестеноза, эффективностью реваскуляризации после чрескожного коронарного вмешательства.

**Выводы.** Приведённые данные в основном определяют миелопероксидазу как весомый маркер прогнозирования отдалённых результатов наблюдения и развития серьёзных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, смертности у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Несмотря на успехи в раскрытии комплексных эффектов миелопероксидазы, привлекает внимание противоречивость результатов, что обуславливает необходимость дальнейших исследований для выяснения и раскрытия полного клинического потенциала миелопероксидазы у пациентов с сердечно-сосудистой патологией.

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) залишаються основною причиною смертності та інвалідності у світі, на їхню частку припадає 30 % смертності, а такі фактори ризику, як куріння, гіпертонія, діабет, абдомінальне ожиріння та дисліпідемія зумовлюють їхні клінічні результати/наслідки. Це загальний термін, який використовують для ідентифікації низки пов'язаних патологій, як-от ішемічна хвороба серця (ІХС), цереброваскулярні захворювання, захворювання периферичних артерій, ревматичних, уроджених вад серця, венозної тромбоемболії [1].

З'ясування механізмів, що лежать в основі різних серцево-судинних захворювань, можуть дати нове уявлення про прогресування захворювання, а також виявити потенційні цілі для терапевтичного втручання.

Миелопероксидаза (МПО) – член суперсімейства пероксидази гема. Зберігається передусім в азурофільних гранулах лейкоцитів. Вона секретується при активації лейкоцитів і відіграє важливу роль у вродженому імунітеті [2]. МПО виявляють у нейтрофілах, менше – в моноцитах і макрофагах. Крім цих типів запальних клітин, експресію МПО також спостерігають у нейронах [3,4] і ендотеліальних клітинах [5].

Під час запалення МПО вивільняється з лейкоцитів і каталізує утворення кількох реактивних частинок, включаючи гіпохлоритну кислоту (НОСІ) і гіпотіоціанову кислоту, які можуть посттрансляційно модифікувати білки-мишені [6,7]. Оскільки ця функція важлива для її антимікробної активності та вродженого імунітету, нерегульоване вивільнення МПО також може призводити до пошкодження тканин, що спостерігають під час різних захворювань [8]. Похідні від МПО відіграють ключову

роль в антимікробній активності нейтрофілів і захисті людини від різних патогенів передусім шляхом участі у фагоцитозі. Система МПО/НОСІ виконує важливу роль у знищенні мікробів нейтрофілами. Крім того, продемонстровано, що МПО є місцевим медіатором пошкодження тканин, що виникає в результаті запалення під час різних захворювань [8–10]. На відміну від її шкідливого впливу на ділянки запалення, нещодавні дослідження показали: дефіцит МПО призводить до посилення запальної реакції та впливає на функції нейтрофілів, включаючи продукцію цитокінів [11]. Зважаючи на названі ефекти, зростає інтерес до ролі цього добре вивченого ферменту в нормі та при патології. Підвищений рівень МПО у кровотоку широко пов'язаний з умовами підвищеного окисного стресу й запалення [12].

МПО вважають біомаркером стратифікації ризику при різних серцево-судинних захворюваннях, включаючи гострий коронарний синдром (ГКС) [13–15], атеросклероз, серцеву недостатність (СН) [16, 17], гіпертонію [18], інсульт [19] та хронічну хворобу нирок (ХХН) [20].

У кількох дослідженнях повідомляли про тісний зв'язок між МПО та широким спектром ССЗ; підвищений рівень МПО, що циркулює, пов'язаний із поганим прогнозом і підвищеним ризиком смертності від ССЗ (рис. 1) [9,21].

**МПО при ГКС як діагностичний маркер.** При ГКС окислювальний стрес і запалення відіграють важливу роль у дестабілізації атеросклеротичних коронарних бляшок [22], а отже визначення терапевтичних цілей, що роблять внесок у цей патофізіологічний процес, може мати прямі клінічні наслідки.

Низка досліджень спрямована на оцінювання рівня МПО у плазмі як потенційного біомаркера для диференціювання болю у грудях при ГКС від інших причин больового синдрому [15,23,24], а також як прогностичний фактор гострих коронарних подій [13].

МПО – запальний маркер, рівень якого підвищений при гострих коронарних синдромах, особливо під час гострого інфаркту міокарда (ГІМ). Дослідження М. М. Omran et al. спрямоване на оцінювання діагностичної важливості МПО в пацієнтів із ГІМ. Автори встановили, що для діагностики ГІМ у пацієнтів із ГКС МПО ефективніший, ніж інші маркери – 82,5 % протягом 0–6 годин після початку болю в грудях. Прогностична оцінка, що залежить від комбінації вихідних рівнів трьох маркерів (МПО, СК-МВ і TnI), правильно визначена в 91 % пацієнтів із ГІМ із високою специфічністю – 76 %. Використання вихідних рівнів трьох біомаркерів може дати інформацію, що необхідна для найкращої доступної ранньої діагностики ГІМ [24].

Для диференціювання ГКС вивчали діагностичну ефективність рівня МПО у плазмі окремо або в поєднанні з серцевим тропоніном I (сTnI) протягом 6 годин після госпіталізації. МПО та сTnI істотно нижчі в пацієнтів без ГКС. Вищу концентрацію МПО виявили в пацієнтів із ГКС і негативним тропоніном, котрий через 6 год ставав позитивним, а це свідчить, що поєднання МПО і сTnI чутливіше, ніж оцінювання тільки сTnI для виявлення ГКС [25].

Julia Searle et al. із клініки Шаріте (м. Берлін, ФРН), оцінюючи цінність визначення МПО в 432 пацієнтів із негативним серцевим тропоніном I (сTnI) з припущенням про наявність ГКС, які надходили до відділення невідкладної допомоги, встановили, що рівень МПО мав чутливість (Sens) 82,1 %, специфічність (Spec) 37,2 % для несприятливих серцево-судинних подій (МАСЕ) порівняно з Sens 60,7 % і Spec 61,4 % для високочутливого сTnI. МПО показав високу значущість у прогнозуванні МАСЕ. МПО має незалежну прогностичну цінність загалом і передусім у пацієнтів, які отримали негативний результат аналізу серцевого тропоніну I. МПО – перспективний біомаркер для первинного оцінювання пацієнтів, які скаржаться на біль у грудях, потребує продовження вивчення [26].

Високий рівень МПО дає можливість диференціювати біль у грудях при гострому інфаркті міокарда і біль під час стенокардії [22]. З'ясували, що підвищений рівень МПО також пов'язаний із наступними ускладненнями, як-от серцева недостатність, аритмії, ниркова недостатність.

В іншому дослідженні, яке здійснили Р. Calmarza et al., показано: рівень МПО, який оцінювали під час надходження і через 6 год, дав змогу розрізнити ГКС, викликаний стенокардією, та іншими причинами [15].

Мета роботи А. Trentini et al. – оцінювання специфічної активності ферменту в пацієнтів зі стабільною ІХС і ГІМ. У дослідження залучені здорові суб'єкти ( $n = 60$ ), пацієнти з гострим інфарктом міокарда (ГІМ,  $n = 25$ ), пацієнти зі стабільною ІХС (SCAD,  $n = 25$ ) і супутнім хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ). Аналіз показав, що в пацієнтів із ГІМ, і зі стабільною ІХС були вищі рівні МПО, ніж у контрольній групі ( $p < 0,0001$  і  $p < 0,01$  відповідно). Питома



активність МПО вища в пацієнтів зі стабільною ІХС порівняно з контрольною групою та ГІМ ( $p < 0,0001$ ) [27].

У дослідженнях серцево-судинної патології основну увагу приділяють не тільки визначенню простого рівня холестерину ЛПВЩ, а вивченню функцій ХС-ЛПВЩ як біомаркера серцево-судинних захворювань. МПО – головний ефекторний фермент вродженої імунної системи, все частіше негативно впливає на функцію ХС-ЛПВЩ за допомогою різних хімічних модифікацій білків, пов'язаних із ХС-ЛПВЩ.

В огляді U. Tietge показано, що модифікація ХС-ЛПВЩ ензимом (МПО) при ГІМ викликає дисфункцію ЛПВЩ. Характеристики дисфункції ХС-ЛПВЩ можна використовувати для стратифікації пацієнтів з ІМ і, мабуть, вони пов'язані з наслідками. МПО буде мішенню для поліпшення дисфункції ХС-ЛПВЩ при ІМ і буде клінічно корисною для пацієнтів [28].

Рівень маркерів системного запалення – С-реактивного білка, мієлопероксидази, розчинного ліганда CD40 і фактора росту плаценти, виміряних у периферичній венозній крові, суттєво підвищений у хворих із ГКС порівняно з пацієнтами з хронічною стабільною стенокардією. Рівні маркерів, виміряних у великому колі кровообігу, безпосередньо показували такі в місцевому коронарному кровообігу. Отже, названі маркери можуть бути корисним інструментом для прогнозування вразливості бляшок у майбутньому [29].

Тан Y. et al. [30] намагалися вивчити зв'язок між МПО та ерозією бляшок у пацієнтів з інфарктом міокарда з підйомом сегмента ST (STEMI). У дослідження залучили 252 пацієнтів зі STEMI, у 92 і 80 із цих хворих виявили розрив та ерозію бляшки відповідно. Рівень МПО у плазмі істотно вищий у пацієнтів з ерозією бляшки порівняно з розривом бляшки: 96,3 (44,2–173,3) нг/мл проти 41,7 (29,2–66,3) нг/мл,  $p < 0,001$ . Логістичний регресійний аналіз показав, що МПО у плазмі незалежно пов'язана з ерозією бляшки (відношення шансів 3,25; 95 % довірчий інтервал, 1,37–7,76;  $p = 0,008$ ). Площа ROC-кривої становила 0,75 для МПО для диференціювання ерозії бляшки від розриву бляшки. Рівень МПО у плазмі вірогідно корелював з ерозією бляшок у пацієнтів зі STEMI [30].

Порівнюючи діагностичну точність при ГІМ високочутливого серцевого тропоніну T (hs-cTnT), МПО та



асоційованого з вагітністю білка плазми А (РАРР-А) у пацієнтів під час звернення у відділення невідкладної допомоги, виявили: у хворих із ГІМ рівень усіх трьох маркерів мав кращу діагностичну ефективність, ніж МПО і РАРР-А для пацієнтів із ГІМ [31].

Динаміка підвищення МПО при ГІМпСТ у пацієнтів, яким здійснили черезшкірне втручання (ПЧКВ), показала двофазну криву з найвищими рівнями, котрі визначили через 4 і 24 години після ПЧКВ із помітним зниженням через 8 і 12 годин, досягла найнижчого рівня через 168 годин. Рівень 24-годинної МПО корелював із рівнем тропоніну І та СН. У цьому дослідженні МПО вважали незалежним предиктором внутрішньолікарняної смертності [32].

Оцінюючи роль МПО й високочутливого тропоніна Т у ранній діагностиці гострого коронарного синдрому в 120 осіб, М. D. Mehta et al. встановили, що рівень МПО істотно вищий у пацієнтів із ГКС порівняно з контрольною групою. При пороговому значенні  $>11,87$  Од/мл для МПО його чутливість становила 87 % (95 % ДІ 73,7–95,1), специфічність – 97,3 % (95 % ДІ 90,6–99,7), позитивна прогностична цінність – 94,6 %, негативна прогностична цінність значення – 92,6 %. Відповідні значення в разі hs-сТnТ становили 95,6 % (95 % ДІ 85,2–99,5), 61,3 % (95 % ДІ 49,5–72,6), 59,7 %, 95,8 % для рівнів  $>14$  пг/мл. Площі під кривими ROC (AUC) МПО і hscTnT через 0–6 годин становили 0,971 (95 % ДІ 0,92–0,99,  $p < 0,001$ ) і 0,797 (95 % ДІ 0,71–0,86,  $p < 0,001$ ) відповідно. Модель, що об'єднує два маркери, дала чутливість, специфічність, позитивну прогностичну цінність і негативну прогностичну цінність 95,7 %, 97,3 %, 98,2 % і 93,7 % відповідно. Встановили, що МПО і hs-сТnТ – цінні інструменти для стратифікації ризику ГКС, які можна використовувати разом із більшою точністю під час ранньої діагностики ГКС [33].

Концентрація МПО у плазмі може навіть збільшуватися швидше, ніж тропонін, і тому вказує на пацієнтів із високим ризиком раніше [34]. Опубліковані відомості, що мієлопероксидаза не має достатньо точності для ухвалення рішень у пацієнтів із припущенням про ГКС [35].

Недавнє дослідження показало кореляцію між МПО, розміром інфаркту та мікросудинною обструкцією в 40 пацієнтів із ГІМ. Порівняно з пацієнтами з низьким рівнем МПО пацієнти з високим рівнем МПО ( $>640$  нг/мл) мали більший розмір інфаркту та мікросудинну обструкцію в гострій фазі і через 6 місяців після гострої події. МПО в інфаркт-залежній артерії позитивно корелювала з МПО в неінфаркт-залежній артерії та сироватці, а також із серцевим тропоніном і піковим рівнем креатинінази. Систолічне ремоделювання лівого шлуночка вираженіше з високим рівнем МПО [36].

Baldus S. et al. [37] показали вищий рівень МПО у плазмі через  $9 \pm 4$  год після реперфузії в пацієнтів із ГІМ, ніж у контрольній групі здорових людей. Спостерігали інтенсивне залучення МПО-позитивних нейтрофілів в артерії, не пов'язані з інфарктом. Виявили зворотну кореляцію між ендотелій-залежною мікросудинною функцією (ацетилхолін-залежне збільшення кровотоку в передпліччі в пацієнтів з ІХС) і рівнем МПО у плазмі. Це дослідження показало: споживання NO –

важливий механізм, за допомогою якого МПО бере участь в ішемії та пошкодженні міокарда, пов'язаного з реперфузією.

Інше дослідження типу «випадок – контроль» включало 680 пацієнтів зі стабільною ІХС або ГКС і 194 осіб контролю без ангіографічно підтвердженої ІХС. Показано, що рівень МПО суттєво вищий за наявності цих патологій, ніж контрольні дані (74,5 [52,5–135,3] мкг/л порівняно з 61,2 [44,6–80,9] мкг/л;  $p < 0,001$ ). В обстежених спостерігали поступове збільшення рівня МПО, найменший – зі стабільною ІХС, вищий – при ГКС без підйому сегмента ST, найбільші значення – ГКС із підйомом сегмента ST. Підвищений рівень МПО визначав наявність ГКС із площею під кривою (AUC ROC) 0,731 ( $p < 0,001$ ) [38].

У дослідження В. U. Goldmann et al. [39] залучили 38 пацієнтів із ГІМ, які надійшли до відділення протягом 2 год з часу появи симптомів, і 50 пацієнтів зі стабільною ІХС. Виявили, що в пацієнтів із ГІМ рівень МПО суттєво вищий, ніж у пацієнтів зі стабільним перебігом ІХС [39]. У пацієнтів з ІМ рівень МПО у плазмі залишався підвищеним до 4 годин після появи симптомів, а потім знижувався. Автори зробили висновок: підвищений рівень МПО та швидкий пік МПО після виникнення симптомів передбачає активацію нейтрофілів, що виникає на ранніх етапах після початку ішемії та попереднього етапу пошкодження міокарда в пацієнтів із гострим ІМ.

У пацієнтів із болем у грудях, але без змін сегмента ST і серцевого тропоніну А. G. Rebeiz et al. [40] показали, що коронарний стеноз ( $\geq 70$  % звуження просвіту), виразка бляшок, наявність тромбу й необхідність черезшкірного коронарного втручання (ЧКВ) виникали частіше зі збільшенням рівня МПО.

Оскільки високий рівень МПО – прогностичний фактор розвитку серцево-судинних захворювань у здорових осіб, виникає питання про те, чи буде дефіцит МПО у людей самим по собі захищати судинну мережу, якщо припустити, що дефіцит МПО повинен бути дуже корисний для здоров'я. На жаль, досліджень, які вірогідно підтверджують цю ідею, поки не здійснили. Але D. Kutter et al. спостерігали за 92 пацієнтами з дефіцитом МПО і відповідною контрольною групою [41] й виявили: кількість пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями, включаючи інфаркт міокарда та атеросклеротичні бляшки в коронарній артерії, була суттєво нижчою серед осіб із дефіцитом МПО.

Нейтрофіли відіграють важливу роль у патогенезі летального пошкодження міокарда при ішемії/реперфузії [42,43], і МПО часто використовують як важливий маркер активації нейтрофілів у цих умовах. Продукти МПО спрямовані на широкий спектр клітинних компонентів, що спричиняють пошкодження клітин в умовах циклу ішемії/реперфузії. Підвищений рівень МПО виявляли вже через 2 години після початку болю у грудях у пацієнтів із гострим ІМ, а отже можна припустити, що активація нейтрофілів є ранньою подією в них [39].

**МПО як маркер прогнозу при гострих коронарних подіях.** У кількох дослідженнях вивчали зв'язок МПО з серцево-судинними наслідками.

Чимало робіт показали, що в пацієнтів, у яких вперше з'явився біль у грудях або на тлі ГКС, рівень

МПО істотно вищий порівняно з контрольною групою і навіть давав прогностичну інформацію про несприятливі серцево-судинні події.

У дослідженні W. Khalil et al. обстежено 215 пацієнтів зі STEMI. За результатами регресійного аналізу, МПО >412 нг/мл – незалежний предиктор і тяжкості захворювання, і лікарняної смертності [44].

Важливо, що МПО дає змогу прогнозувати несприятливий результат і майбутній ризик прогресування ІХС не тільки у пацієнтів із гострою або стабільною ІХС, але й у практично здорових суб'єктів після виключення ІХС [45].

Нещодавня публікація Далласького дослідження серця, в якому брали участь 2924 дорослі особи, котрі не мали серцево-судинних захворювань, показала: співвідношення МПО/ЛПВЩ-ХС пов'язане зі збільшенням на 74 % скоригованого ризику серцево-судинних захворювань (перший нефатальний ІМ, нефатальний інсульт, коронарна ревазуляризація або смерть від серцево-судинних захворювань) і на 91 % зі збільшенням скоригованого ризику загальних серцево-судинних захворювань (епізодичні серцево-судинні події плюс периферична ревазуляризація, госпіталізація з приводу ХСН або фібриляції передсердь) у середньому за 9,4 року, розраховане для найбільшого і найнижчого квартилей відношення МПО/ЛПВЩ-ХС [46].

За даними Koch S. et al. [47], смертність серед пацієнтів із підвищеним рівнем МПО в плазмі крові на наступний день після коронарної ангіографії значно збільшилася ( $p < 0,01$ ). Пацієнти зі значенням МПО понад 306,3 пмоль/л мали вірогідно вищу частоту 6-місячних серйозних серцевих подій (MACE),  $p < 0,0001$ , ніж пацієнти з нижчими значеннями МПО в плазмі. Багатофакторний регресійний аналіз пропорційних ризиків Кокса показав, що МПО – незалежний маркер MACE після припущення про наявність гострої коронарної ішемії ( $p = 0,048$ ). У пацієнтів із припущенням про ІМ рівень МПО понад 306,3 пмоль/л, вимірний через 24 години після появи симптомів, – незалежний предиктор 6-місячної смертності та MACE [47].

У дослідженні CLARITY-TIMI 28, що вивчало в періоді 30 днів 3491 пацієнта з ІМпST, які звернулися протягом 12 годин після появи симптомів, встановили: 3 біомаркери є значущими та додатковими предикторами серцево-судинної смерті або СН (ST2 (ВШ: 2,87; 1,61–5,12), тропонін Т і МПО (2,49; 1,04–5,96)). Коли додати до шкали ризику TIMI, оцінювання мультимаркерного ризику істотно поліпшило статистичну значущість: площа під кривою = 0,75 [95 % ДІ, 0,69–0,81] до 0,82 [0,78–0,87],  $p = 0,001$ . Показано, що у пацієнтів з ІМпST багатомаркерна стратегія, яка об'єднує біомаркери міокардіального стресу, некрозу міоцитів і запалення, з включенням МПО надає додаткову інформацію для прогнозування смерті від серцево-судинних захворювань або серцевої недостатності [48].

У великому дослідженні, що включало 1090 пацієнтів із ГКС без підйому сегмента ST (ГКСбпST) і вивчало наслідки, а саме смертність від усіх причин і нефатальний ІМ протягом середнього періоду спостереження 4 роки, R. M. Oemrawsingh et al. показали: використання комбінацій біомаркерів (TnT, IL-10,

мієлопероксидази, PIGF (плацентарний фактор росту)) дає додаткову прогностичну цінність до стратифікації ризику в однорідній популяції ГКСбпST. Композитна кінцева точка досягнута у 15,3 % пацієнтів. Рівні TnT, IL-10, мієлопероксидази >350 мкг/л і PIGF під час надходження – значущі предиктори для оцінювання смертності від усіх причин або нефатального ІМ в багатовимірному розрахунку. Високочутливий С-реактивний білок (СРБ), пов'язаний із вагітністю білок плазми А і sCD40L мали зв'язок тільки з кінцевою точкою в одновимірному аналізі. Мультимаркерна модель, що складається з TnT, IL-10, мієлопероксидази і PIGF, передбачала 4-річну частоту подій, яка варіювала від 6,0 % (всі маркери в нормі) до 35,8 % (три або більше біомаркери відхилялися від норми). У пацієнтів із ГКСбпST біомаркери, які характеризують різні аспекти, що лежать в основі атеросклеротичного процесу і пошкодження міокарда в результаті початкового серцевого нападу, можуть допомогти в прогнозуванні віддалених несприятливих серцевих результатів [49].

Дослідження, де оцінювали підвищений рівень МПО як предиктора віддалених несприятливих серцевих подій у 127 пацієнтів з ІМпST, яким виконали черезшкірне коронарне втручання, показало: МПО – значущий прогностичний маркер у них. Через 14 місяців спостереження у 20 % хворих виникли серйозні несприятливі серцево-судинні події (MACE – позапланова процедура ревазуляризації коронарних судин, інсульт, повторний інфаркт або смерть від усіх причин). Підвищений рівень МПО, виявлений на 3–4 день ІМпST, – предиктор смерті, повторного інфаркту, необхідності коронарної ревазуляризації та загалом усіх несприятливих подій. У багатофакторному аналізі рівні МПО і СРБ, оцінені на 3–4 день госпіталізації, показали, що вони є значущими предикторами MACE. МПО краще передбачає MACE, ніж рівень NT-proBNP [50].

Дворічне спостереження за 73 хворими з діагнозом гострого ІМпST показало, що високий рівень мієлопероксидази у плазмі визначають у пацієнтів із гіршим прогнозом після гострого ІМпST. Частота нефатального повторного інфаркту міокарда та підтвердженої серцевої смерті вища у групі з високим умістом мієлопероксидази. Високий рівень МПО у плазмі – незалежний предиктор MACE (відношення шансів = 3,843; довірчий інтервал <95 %, 1,625–6,563;  $p = 0,003$ ). Оцінювання рівня мієлопероксидази у плазмі може бути корисним для визначення пацієнтів із високим ризиком смерті і MACE, яким може допомогти агресивне лікування та ретельніше спостереження [51].

Треба врахувати, що не всі дослідження показали схожі результати, в деяких роботах не виявлено кореляції між рівнем МПО і клінічними результатами після ГКС [52].

У публікації S. C. Liu et al., які вивчали прогнозування короткострокових і віддалених результатів у пацієнтів із ГКС через оцінювання різниці початкових і наступних рівнів МПО, показано: цей показник не може вірогідно передбачити короткострокові або віддалені результати в цих пацієнтів. Але автори підкреслили,

що рівень МПО у плазмі суттєво вищий у пацієнтів зі STEMI, ніж у пацієнтів із ГКС без підйому сегмента ST [53].

У дослідженні E. Kimak et al. 67 пацієнтів зі стабільною стенокардією поділили на групи залежно від рівня МПО: перша – <200 нг/мл, друга – 200–300 нг/мл, третя – >300 нг/мл. Результати показали, що помірна дисліпідемія та дисліпопротеїнемія, посилення запалення та низькоградієнтне запалення викликають підвищення концентрації МПО, що знижує рівень апоА і ХС-ЛПВЩ і порушує функцію ЛПВЩ. Підвищення рівня МПО та співвідношень МПО/ХС-ЛПВЩ, МПО/апоА може диференціювати пацієнтів зі стабільною ІХС із підвищеним ризиком ГКС та інсульту [54].

Цікаві результати проспективного обсерваційного дослідження з вивчення можливості мієлопероксидази для діагностики та прогнозу ГКС у пацієнтів із хронічною хворобою нирок. Автори з'ясували кардіальний маркер для прогнозування 30-денних і 6-місячних несприятливих серцевих подій (НСП), що визначені як смерть, пов'язана з серцевою недостатністю, інфаркт міокарда та фібриляція шлуночків. НСП через 30 днів і 6 місяців становили 15,1 % і 21,7 % відповідно. Рівень МПО істотно не відрізнявся в пацієнтів із НСП порівняно з хворими без них і через 30 днів, і 6 місяців. Площа під кривою (AUC) для мієлопероксидази становила 0,50 ( $p > 0,05$ ). Це дослідження включало 724 пацієнтів: 60,6 % чоловіків, здебільшого китайців, середній вік – 67 років. Особливість спостережень – наявність вираженої коморбідної ниркової патології: 88,3 % осіб мали ХХН 4 і 5 стадії, 33,5 % перебували на діалізі. Ймовірно, можна прийняти пояснення авторів про низьку діагностичну та прогностичну ефективність МПО тим, що підвищені рівні ферменту могли бути викликані іншими причинами в пацієнтів із ХХН. На слабку специфічність маркера могло вплинути також застосування одиничного (одномоментного) тестування під час госпіталізації, а не кількох послідовних (серійних) вимірювань. Pek J. H. et al. вважають актуальними дослідження зі встановлення зв'язку мінливості МПО з пошкодженням міокарда [55].

**Роль МПО під час оцінювання віддаленого прогнозу.** Baldus S. et al. [13] оцінювали 6-місячний рівень смертності або ІМ у 547 пацієнтів із ГКС. Пацієнти з рівнем МПО >350 мкг/л мали підвищений ризик 6-місячної смерті або нефатального ІМ (18,1 % проти 8,8 %,  $p = 0,002$ ). Утім різниця була вірогідною протягом перших 72 годин (14,0 % проти 5,1 %,  $p = 0,001$ ), і частота подій кривих у пацієнтів із високим і низьким рівнем МПО в сироватці після цього не розходилися. Ба більше, різниця в 6 місяців зумовлена передусім збільшенням частоти нефатального ІМ у пацієнтів із високим рівнем МПО. Після поправок МПО залишалась незалежно пов'язаною з підвищеним ризиком 6-місячної смерті або ІМ. Дослідження показало, що МПО – маркер і медіатор судинного запалення, а також підкреслило роль активації нейтрофілів у патофізіології ГКС.

Brennan M. L. et al. [14] оцінювали зв'язок між МПО і серцево-судинними подіями у 604 пацієнтів із болем у грудях. Початковий рівень МПО в плазмі передбачав ризик ІМ навіть у тропонін-негативних пацієнтів.

Підвищений рівень МПО передбачав ризик серйозних несприятливих серцево-судинних подій (МАСЕ): сукупності ІМ, смерті або реваскуляризації – через 30 днів і 6 місяців після звернення у всіх пацієнтів і пацієнтів без некрозу міокарда (відсутність підвищення тропоніну).

Cavusoglu E. et al. [56] показали підвищений ризик ІМ через 2 роки у пацієнтів із ГКС з рівнем МПО >20,34 нг/мл (середнє значення) порівняно з пацієнтами з рівнем МПО  $\leq 20,34$  нг/мл (виживаність без ІМ – 74 % проти 88 %,  $p = 0,0249$ ).

У 1524 пацієнтів із ГКС, які отримували тирофібан (антитромбоцитарний препарат для внутрішньовенного введення) в період спостереження до 180 днів, D. A. Morgow et al. [57], показали: підвищений початковий рівень МПО (>884 рМ) пов'язаний із більшим ризиком нефатального ІМ або повторної госпіталізації з приводу ГКС через 30 днів (9,3 % проти 4,6 %,  $p < 0,001$ ). МПО залишалася пов'язаною з ризиком повторних ішемічних подій після поправки на вік, підйом сегмента ST, діабет, ІХС в анамнезі, ХСН, серцевий тропонін I, високочутливий СРБ і розчинний ліганд CD40. У 356 пацієнтів, які перебували на діалізі, на кожні 1000 пмоль/л вищого рівня МПО ризик 3-річної смертності збільшився на 14 % із поправкою на вік, расу, діабет, час здійснення діалізу, оцінку супутньої патології Чарлсона, історію попередніх серцево-судинних захворювань, рівень гемоглобіну та сироваткові концентрації альбуміну, СРБ, інтерлейкіну-6 і фактора некрозу пухлини альфа [58].

Інше дослідження, що включало пацієнтів зі стабільною ІХС і ГКС, показало незалежний зв'язок між початковим рівнем МПО та ризиком госпітальних серйозних несприятливих серцево-судинних подій (смерть, рецидив стенокардії, серцева недостатність або серцева аритмія) [59].

Wong N. D. et al. [60] оцінили зв'язок між МПО й частотою виникнення серцево-судинних подій (ІМ, коронарна реваскуляризація, інсульт або смерть від серцево-судинних захворювань) у 1302 безсимптомних дорослих без відомих серцево-судинних захворювань за період спостереження тривалістю 3,8 року. Особи з рівнем МПО вище, ніж медіана (257 рМ) – частіше жінки, які мали більший індекс маси тіла, вищий рівень холестерину ЛПНЩ, більші значення систолічного та діастолічного артеріального тиску та нижчий рівень холестерину ЛПВЩ. МПО корелювала з коронарним кальцієм. Події ССЗ частіше спостерігали в обстежених із рівнем МПО, що вище за середній (4,6 % проти 2,3 %,  $p = 0,02$ ). Зв'язок залишався значущим після поправки на вік, стать, коронарний кальцій та інші відомі фактори ризику.

У дослідженні T. J. Mocatta et al. [61], що включало 512 пацієнтів із гострим ІМ і 156 здорових осіб контрольної групи, рівень МПО вище за медіану пов'язаний із більшим ризиком 5-річної смертності (21 % проти 10 %,  $p = 0,001$ ). Після поправок на інші чинники МПО залишалася незалежно пов'язаною з ризиком 5-річної смертності.

Tang W. H. et al. [62] оцінили зв'язок між МПО і розвитком серйозних несприятливих серцево-судинних подій (СНССС) – МАСЕ (смерть, ІМ або інсульт) протягом 3-річного періоду спостереження у пацієнтів

зі встановленою ІХС. Дослідження показало, що пацієнти з рівнем МПО >322 пмоль/л мали підвищений ризик виникнення МАСЕ навіть після поправки на традиційні фактори серцевого ризику, кліренс креатиніну, натрійуретичний пептид В-типу й високочутливий СРБ. Щодо окремих кінцевих точок, то підвищений рівень МПО пов'язаний із підвищеним ризиком 3-річної смерті та ІМ, але не з інсультом. У новішому дослідженні W. H. Tang et al. [63], що включало 3635 пацієнтів, які мали коронарну ангіографію, показано: рівень МПО >322 пмоль/л пов'язаний із 43 % і 32 % збільшенням нескоригованого та скоригованого ризику МАСЕ відповідно, який визначається як смерть, нефатальний ІМ або інсульт.

Nicholls S. J. et al. [64] досліджували взаємозв'язок між концентраціями МПО в 490 пацієнтів із гострим болем у грудях і СНССС – МАСЕ (нефатальний ІМ, коронарна ревазуляризація або смерть) протягом 6 місяців спостереження. Вищий вихідний рівень МПО пов'язаний із 2,4-разовим підвищенням ризику МАСЕ через 6 місяців, що розрахований для 4 і 1 квартилей. Серед усіх послідовних вимірювань МПО (через 4, 8 і 16 годин) найсильніший зв'язок виявили для вимірювань через 16 годин. МПО передбачала події навіть у пацієнтів, в яких рівні серцевого тропоніну відповідали нормі. Серійний моніторинг МПО передбачив ризик МАСЕ краще, ніж тільки базові вимірювання МПО. Дослідження показало: комбіновані серійні вимірювання МПО й серцевого тропоніну І поліпшили прогноз МАСЕ протягом 6 місяців та класифікацію ризику у 26,1 % пацієнтів.

У дослідженні LURIC брали участь 3036 осіб (2391 хворий з ангіографічно підтвердженою ІХС), тривалість спостереження – майже 7,75 року. Після коригування на фактори ризику серцево-судинних захворювань рівень МПО пов'язаний із вірогідним підвищенням ризику загальної смертності на 34 % і підвищенням ризику серцевої смертності на 42 %, що розраховані для найвищого квартиля порівняно з найменшим квартилем МПО. Концентрація МПО позитивно пов'язана з віком, діабетом, курінням, маркерами запалення (інтерлейкін-6, фібриноген, СРБ, сироватковий амілоїд А) і маркерами судинного ушкодження (молекула судинної клітинної адгезії [VCAM]-1 і молекула міжклітинної адгезії [ICAM]-1), негативний зв'язок встановлений із холестеринем ЛПВЩ і аполіпопротеїном А-I. Автори оцінили 5 поліморфізмів МПО й виявили, що вони пов'язані з рівнем МПО, але не зі смертністю. Аналіз Менделівської рандомізації не виявив причинно-наслідкового зв'язку між МПО та загальною або серцево-судинною смертністю [65].

Метааналіз A. R. Kolodziej, що включав 13 досліджень із 9090 учасниками (середній період спостереження – 11 років 4 місяці) показав: високий рівень МПО вірогідно передбачав смертність (відношення шансів (OR) 2,03; 95 % довірчий інтервал (CI): 1,40–2,94;  $p < 0,001$ ), але не був значущим передвісником серйозних несприятливих серцевих подій і повторного інфаркту міокарда (ІМ) (ЗВШ 1,28; ДІ: 0,92–1,77,  $p = 0,14$  і ЗШ 1,23; ДІ: 0,96–1,58,  $p = 0,101$  відповідно). Гіпертонія, цукровий діабет і вік не вплинули на прогностичну цінність МПО для клінічних результатів,

а жіноча стать і статус куріння мали сильний вплив на прогностичну цінність МПО в аспекті смертності та рецидивів ІМ (коефіцієнт метарегресії – 8,616: 95 % ДІ від -14,59 до -2,633,  $p = 0,0048$  і 4,88: 95 % ДІ від 0,756 до 9,0133,  $p = 0,0204$  відповідно). Результати метааналізу показали: високий рівень МПО пов'язаний із ризиком смертності, МПО можна включити в моделі стратифікації ризику, які визначають терапію пацієнтів із ГКС високого ризику [66].

Для пацієнтів з ІХС підвищені рівні МПО у плазмі прямо корелювали з тяжкістю ІХС і ризиком МАСЕ протягом 6 місяців спостереження. Площа під кривою (AUC) і чутливість рівня МПО для прогнозування МАСЕ були вищі, ніж гомоцистеїну і вч-СРБ ( $p < 0,05$ ). МПО може ефективно прогнозувати МАСЕ й має важливе клінічне значення для оцінювання стану та поліпшення прогнозу пацієнтів з ІХС [67].

Кілька ліній доказів механічно пов'язують мієлопероксидазу, запалення та гострі, хронічні прояви атеросклерозу. Показано, що МПО й оксиданти, похідні від МПО, сприяють утворенню пінистих клітин, ендотеліальної дисфункції та апоптозу, активації латентних матриксних металопротеїназ та експресії тканинного фактора, який може спричиняти розвиток уразливих бляшок. Отже, виявлення, кількісне оцінювання та візуалізація маси й активності МПО стали корисними для стратифікації серцевого ризику, оцінювання захворювання, ідентифікації пацієнтів із ризиком розриву бляшки. В огляді N. Teng et al. показано можливу роль МПО в розриві бляшки при ІХС [68].

У кількох дослідженнях не вдалося встановити зв'язок між МПО і серцево-судинними наслідками. У 457 пацієнтів із ГКС F. S. Apple et al. [69] оцінили зв'язок між 7 біомаркерами, включаючи МПО, і небажаними явищами (ІМ, необхідність ревазуляризації або смерть) протягом 4-місячного періоду. МПО (>125,6 мкг/л проти  $\leq 125,6$  мкг/л) пов'язана з ризиком смертності або тяжких небажаних явищ.

Stefanescu A. et al. [70] не змогли показати незалежний зв'язок між МПО та смертністю у 382 пацієнтів з ангіографічно підтвердженою ІХС за середній період спостереження 3,5 року. Зв'язок був вірогідним у нескоригованому аналізі, але ця кореляція ослаблена після поправки на чинники ризику серцево-судинних захворювань.

Eggers L. M. et al. [71] не показали клінічну можливість застосування вимірювань МПО в пацієнтів із болем у грудях в аспекті діагностики ІМ або прогнозу майбутньої смертності.

Scirica B. M. et al. [72] оцінили зв'язок серцевого тропоніну I, N-кінцевого мозкового натрійуретичного пептиду, СРБ і МПО з несприятливими серцевими подіями у 4352 пацієнтів без підйому сегмента ST протягом середнього періоду спостереження 343 дні. У повністю скоригованих моделях МПО пов'язана з ризиком ХСН, але не з ризиком серцево-судинної смерті або ІМ. Додавання МПО в багатовимірні моделі поряд із клінічними характеристиками та іншими біомаркерами не дало значущої додаткової прогностичної інформації під час оцінювання разом із серцевим тропоніном I і N-кінцевим мозковим натрійуретичним пептидом.

Rudolph V. et al. [73] оцінили діагностичну та прогностичну цінність серійних вимірювань МПО у 1818 пацієнтів із гострим боєм у грудях. Чутливість і специфічність МПО для діагностики гострого ІМ становили 73,5 % і 45,5 % відповідно, що поступалося тропоніну I (чутливість 90,7 %, специфічність 90,2 %). Хоча рівень МПО пов'язаний із підвищеним ризиком несприятливих серцевих подій через 30 днів і 6 місяців, цей зв'язок послабшав після поправки коваріант. Рівень МПО істотно не збільшував важливість діагностичної інформації в пацієнтів із боєм у грудях при додаванні до чутливого тропоніну I.

Вплив МПО на смертність оцінено в дослідженні ERICO, результати якого опубліковані A. V. Quidim et al. Обстежили 342 осіб, виявили, що вищі рівні активності МПО – в чоловіків, курців, діабетиків і тих, хто отримував аспірин. Але рівень активності МПО був значущим фактором щодо смертності або виживання в період до 7 років. Отже, дослідження ERICO не показало взаємозв'язок між підвищеним рівнем активності МПО в пацієнтів із ГКС і смертністю в період до 7 років спостереження [74].

У роботі J. Wang et al. зазначено: наявні результати не пропонують доказів прямого причинного зв'язку ензиму з ризиком несприятливих клінічних результатів, а тому роль МПО у виявленні пацієнтів із ризиком ІМ обмежена. Як і раніше, необхідні дослідження, що спеціально вивчають реальну роль МПО, а рутинне вимірювання цього біомаркера не рекомендоване у жодних клінічних умовах [75].

Отже, опубліковані нині результати не дають однозначної відповіді на питання про визначеність МПО як прогностичного маркера. Втім наявні тверді передумови для використання МПО як предиктора або учасника мультимаркерних прогностичних моделей, надалі необхідні дослідження МПО як фактора, що визначає кардіоваскулярні події.

**МПО та рестеноз.** Розуміння точних взаємозв'язків між МПО та рестенозом всередині стента – актуальне питання, що потребує вивчення. Дослідження, що вивчало зміни сироваткових рівнів МПО, IL-17A і HB-EGF (гепарин-зв'язувального епідермального фактора росту) до і після ЧКВ, а також зв'язок рівнів МПО, IL-17A і HB-EGF з річною частотою рестенозу в пацієнтів з ІХС, яким виконували ЧКВ для імплантації стента з лікарським покриттям у стаціонарі, показало: МПО і IL-17A поряд із HB-EGF можна використовувати для прогнозування рестенозу, але їхнє прогностичне значення виявилось невірогідним, має бути вивчене в майбутніх дослідженнях [76].

Через складність процесу рестенозу його передопераційне прогнозування дуже складне [77–79]. Перед ЧКВ потрібне балонне розширення ураженої судинної стінки, яке може збільшити її ушкодження та викликати агрегацію тромбоцитів. Після імплантації стента скупчення активованих тромбоцитів на поверхні стента може викликати утворення дрібних тромбів. Наступні реакції організму можуть призвести до вивільнення великої кількості тканинних факторів, які спричиняють ремоделювання судин і неоптимальну гіперплазію, врешті викликаючи рестеноз [80]. Частота рестенозу через 3–6 місяців вища на 20 % [81,82].

Відносно висока (близько 25 %) частота рестенозу пов'язана зі старінням (середній вік – 65,5 ± 9,5 року). Зі збільшенням віку пацієнтів частота рестенозу поступово підвищується [77].

Фактори ризику рестенозу включають клінічні фактори, як-от чоловіча стать, похилий вік, артеріальна гіпертензія, процедура ЧКВ, інфекційні фактори, генетичні й біохімічні фактори [77,78,81]; триваліше спостереження та вищі клініко-анамнестичні та соціоекономічні параметри пацієнтів можуть пояснити, принаймні частково, вищу 10-річну частоту рестенозу.

Tyuerli V. et al. [83] показали, що процедури стентування пов'язані з секрецією МПО. У дослідженні рівень МПО не просто збільшився після ЧКВ, але був єдиним маркером, який залишався високим через 6 місяців після ЧКВ. Слід зазначити, що рівень МПО через 6 місяців у контрольній групі поступово знижувався до вихідного рівня, а рівень МПО в групі рестенозу залишався вищим за вихідний. Ці результати дають змогу припустити, що високий рівень МПО через 6 місяців після ЧКВ може передбачити рестеноз. Автори вважають, що механізми, які лежать в основі, можуть бути пов'язані з деградацією похідного ендотелійрелаксувального фактора NO під дією МПО, який знижував біоактивність NO, послаблював розширення кровоносних судин і протизапальні властивості, призводячи до спазму коронарних судин.

МПО може також індукувати експресію ендотеліального Р-селектину та тканинних факторів, що спричиняють агрегацію тромбоцитів і тромбоутворення [10,84,85].

Отже, як біомаркер окисного стресу МПО можна виміряти для оцінювання ефективності ревазуляризації після ЧКВ, передбачаючи розвиток рестенозу. Це підтверджено в дослідженні L. Pleva et al. [86]. Claessen B. E. et al. [87] показали, що високі рівні МПО через 30 днів пов'язані з рестенозом.

Еозинофіли – основні учасники запалення та можуть брати участь у секреції МПО і IL-17A [88]. Але необхідні додаткові дослідження для побудови прогностичних моделей, які могли б включати кілька параметрів, крім МПО, IL-17A і HB-EGF.

## Висновки

1. Зібрані відомості підтверджують важливу роль мієлопероксидази в утворенні атеросклеротичних бляшок і дестабілізації фіброзної капсули, які підвищують ризик розвитку атеросклеротичного серцево-судинного захворювання, особливо ІХС. Цей протеїн має вагомий діагностичний і прогностичний потенціал під час гострих і хронічних серцево-судинних захворювань.

2. Перспектива розв'язання суперечливих питань щодо застосування мієлопероксидази у разі гострого коронарного синдрому полягає у здійсненні досліджень, що мають чітко продуманий дизайн і більшу вибірку пацієнтів, зокрема через вивчення мієлопероксидази як компонента складних діагностичних формул (співвідношень), де вона може бути використана разом з іншими патогенетичними компонентами як перспективний біомаркер для стратифікації серцевого ризику та передбачення розвитку серйозних несприятливих подій при гострих формах ІХС.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 29.04.2021

Після доопрацювання / Revised: 07.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 16.06.2021

### Відомості про авторів:

Копиця 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)

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)

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)

Кутя І. М., молодший науковий співробітник відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-5762-1826](https://orcid.org/0000-0001-5762-1826)

Гільова Я. 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: [0000-0002-4545-3009](https://orcid.org/0000-0002-4545-3009)

### Information about authors:

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.

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.

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.

Kutia I. M., MD, 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.

Hilova Ya. 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.

Гильова Я. В., канд. мед. наук, науковий співробітник відділу профілактики та лікування невідкладних станів, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

### Сведения об авторах:

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.

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.

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.

Кутя И. Н., канд. мед. наук, младший научный сотрудник отдела профилактики и лечения неотложных состояний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Гильова Я. 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

- [1] Stewart J., Manmathan G., Wilkinson P. Primary prevention of cardiovascular disease: A review of contemporary guidance and literature. *JRSM cardiovascular disease*. 2017. Vol. 6. P. 2048004016687211. <https://doi.org/10.1177/2048004016687211>
- [2] Odobasic D., Kitching A. R., Holdsworth S. R. Neutrophil-mediated regulation of innate and adaptive immunity: the role of myeloperoxidase. *Journal of immunology research*. 2016. Article ID 2349817. <https://doi.org/10.1155/2016/2349817>
- [3] Myeloperoxidase-immunoreactive cells are significantly increased in brain areas affected by neurodegeneration in Parkinson's and Alzheimer's disease / S. Gellhaar, D. Sunnemark, H. Eriksson et al. *Cell and tissue research*. 2017. Vol. 369, Iss. 3. P. 445-454. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2626-8>
- [4] Human myeloperoxidase (hMPO) is expressed in neurons in the substantia nigra in Parkinson's disease and in the hMPO- $\alpha$ -synuclein-A53T mouse model, correlating with increased nitration and aggregation of  $\alpha$ -synuclein and exacerbation of motor impairment / R. A. Maki, M. Holzer, K. Motamedchaboki et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019. Vol. 141. P. 115-140. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.033>
- [5] Endothelial-transcytosed myeloperoxidase activates endothelial nitric oxide synthase via a phospholipase C-dependent calcium signaling pathway / T. Thai, F. Zhong, L. Dang et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2021. Vol. 166. P. 255-264. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.448>
- [6] Low-density lipoprotein modified by myeloperoxidase oxidants induces endothelial dysfunction / A. I. Abdo, B. S. Rayner, D. M. van Reyk, C. L. Hawkins. *Redox biology*. 2017. Vol. 13. P. 623-632. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.08.004>
- [7] Cellular targets of the myeloperoxidase-derived oxidant hypothiocyanous acid (HOSCN) and its role in the inhibition of glycolysis in macrophages / D. T. Love, T. J. Barrett, M. Y. White et al. *Free radical biology & medicine*. 2016. Vol. 94. P. 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.016>
- [8] Aratani Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2018. Vol. 640. P. 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>
- [9] Ndrepepa G. Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2019. Vol. 493. P. 36-51. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.022>
- [10] Khan A. A., Alsahli M. A., Rahmani A. H. Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical sciences*. 2018. Vol. 6, Iss. 2. P. 33. <https://doi.org/10.3390/medsci6020033>
- [11] Strzepa A., Pritchard K. A., & Dittel B. N. Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cellular immunology*. 2017. Vol. 317. P. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2017.05.002>
- [12] Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease / N. Anatoliotakis, S. Deftereos, G. Bouras et al. *Current topics in medicinal chemistry*. 2013. Vol. 13, Iss. 2. P. 115-138. <https://doi.org/10.2174/1568026611313020004>
- [13] Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes / S. Baldus, C. Heeschen, T. Meinertz et al. *Circulation*. 2003. Vol. 108, Iss. 12. P. 1440-1445. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000090690.67322.51>
- [14] Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain / M. L. Brennan, M. S. Penn, F. van Lente et al. *The New England journal of medicine*. 2003. Vol. 349, Iss. 17. P. 1595-1604. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035003>
- [15] Utility of myeloperoxidase in the differential diagnosis of acute coronary syndrome / P. Calmarza, C. Lapresta, M. Martinez et al. *Archivos de cardiologia de Mexico*. 2018. Vol. 88, Iss. 5. P. 391-396. <https://doi.org/10.1016/j.acmx.2017.11.003>
- [16] Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure / W. H. Tang, W. Tong, R. W. Troughton et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 49, Iss. 24. P. 2364-2370. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.053>
- [17] Avaliani T., Talakvadze T., Tabagari S. Prognostic value of plasma myeloperoxidase level's and echocardiographic determinants in chronic heart failure patients. *Georgian medical news*. 2019. Vol. 288. P. 55-60.
- [18] Low Molecular Weight Heparin Improves Endothelial Function in Pregnant Women at High Risk of Preeclampsia / K. McLaughlin, D. Baczyk, A. Potts et al. *Hypertension*. 2017. Vol. 69, Iss. 1. P. 180-188. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08298>
- [19] Association of Osteopontin, Neopterin, and Myeloperoxidase With Stroke Risk in Patients With Prior Stroke or Transient Ischemic Attacks: Results of an Analysis of 13 Biomarkers From the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels Trial / P. Ganz, P. Amarenco, L. B. Goldstein et al. *Stroke*. 2017. Vol. 48, Iss. 12. P. 3223-3231. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.017965>

- [20] Myeloperoxidase and the Risk of CKD Progression, Cardiovascular Disease, and Death in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study / S. Correa, J. K. Pena-Esparragoza, K. M. Scovner et al. *American journal of kidney diseases*. 2020. Vol. 76, Iss. 1. P. 32-41. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.09.006>
- [21] Myeloperoxidase As a Multifaceted Target for Cardiovascular Protection / C. Ramachandra, K. Ja, J. Chua et al. *Antioxidants & redox signaling*. 2020. Vol. 32, Iss. 15. P. 1135-1149. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7971>
- [22] Govindarajan S., Raghavan V. M., Rao, A. C. Plasma Myeloperoxidase and Total Sialic Acid as Prognostic Indicators in Acute Coronary Syndrome. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2016. Vol. 10, Iss. 8. P. BC09-BC13. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/20715.8347>
- [23] Elevated serum myeloperoxidase activities are significantly associated with the prevalence of ACS and High LDL-C levels in CHD patients / C. Liu, G. Xie, W. Huang et al. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 2012. Vol. 19, Iss. 5. P. 435-443. <https://doi.org/10.5551/jat.9704>
- [24] Role of myeloperoxidase in early diagnosis of acute myocardial infarction in patients admitted with chest pain / M. M. Omran, F. M. Zahran, M. Kadyr et al. *Journal of immunoassay & immunochemistry*. 2018. Vol. 39, Iss. 3. P. 337-347. <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1492423>
- [25] Diagnostic efficacy of myeloperoxidase for the detection of acute coronary syndromes / M. Sawicki, G. Sypniewska, M. Kozinski et al. *European journal of clinical investigation*. 2011. Vol. 41, Iss. 6. P. 667-671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02457.x>
- [26] The role of myeloperoxidase (MPO) for prognostic evaluation in sensitive cardiac troponin I negative chest pain patients in the emergency department / J. Searle, J. Shih, R. Muller et al. *European heart journal. Acute cardiovascular care*. 2013. Vol. 2, Iss. 3. P. 203-210. <https://doi.org/10.1177/2048872613484688>
- [27] Development, optimization and validation of an absolute specific assay for active myeloperoxidase (MPO) and its application in a clinical context: role of MPO specific activity in coronary artery disease / A. Trentini, V. Rosta, S. Spadaro et al. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2020. Vol. 58, Iss. 10. P. 1749-1758. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0817>
- [28] Tietge U. The impact of myeloperoxidase on HDL function in myocardial infarction. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2018. Vol. 25, Iss. 2. P. 137-142. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000394>
- [29] Systemic and coronary levels of CRP, MPO, sCD40L and PIGF in patients with coronary artery disease / S. W. Fong, L. L. Few, W. C. See Too et al. *BMC research notes*. 2015. Vol. P. 679. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1677-8>
- [30] High Plasma Myeloperoxidase Is Associated with Plaque Erosion in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction / Y. Tan, S. Yang, R. Chen et al. *Journal of cardiovascular translational research*. 2020. Vol. 13, Iss. 6. P. 908-915. <https://doi.org/10.1007/s12265-020-10002-x>
- [31] Khan D. A., Sharif M. S., Khan F. A. Diagnostic performance of high-sensitivity troponin T, myeloperoxidase, and pregnancy-associated plasma protein A assays for triage of patients with acute myocardial infarction. *The Korean journal of laboratory medicine*. 2011. Vol. 31, Iss. 3. P. 172-178. <https://doi.org/10.3343/kjlm.2011.31.3.172>
- [32] Time-dependent changes of myeloperoxidase in relation to in-hospital mortality in patients with the first anterior ST-segment elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention / S. Stankovic, M. Asanin, D. Trifunovic et al. *Clinical biochemistry*. 2012. Vol. 45, Iss. 7-8. P. 547-551. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.02.015>
- [33] A Synergistic Role of Myeloperoxidase and High Sensitivity Troponin T in the Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome / M. D. Mehta, S. A. Marwah, S. Ghosh et al. *Indian journal of clinical biochemistry: IJCB*. 2016. Vol. 31, Iss. 1. P. 75-80. <https://doi.org/10.1007/s12291-015-0490-4>
- [34] Up-and-coming markers: myeloperoxidase, a novel biomarker test for heart failure and acute coronary syndrome application? / C. Sinning, R. Schnabel, W. F. Peacock, S. Blankenberg. *Congestive heart failure*. 2008. Vol. 14, Iss. 4, Suppl. 1. P. 46-48. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7133.2008.tb00012.x>
- [35] Myeloperoxidase in the diagnosis of acute coronary syndromes: the importance of spectrum / W. F. Peacock, J. Nagurny, R. Birkhahn et al. *American heart journal*. 2011. Vol. 162, Iss. 5. P. 893-899. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2011.08.017>
- [36] Relation between high levels of myeloperoxidase in the culprit artery and microvascular obstruction, infarct size and reverse remodeling in ST-elevation myocardial infarction / K. Stamboul, M. Zeller, L. Rochette et al. *PLoS one*. 2017. Vol. 12, Iss. 7. P. e0179929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179929>
- [37] Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion / S. Baldus, T. Heitzer, J. P. Eiserich et al. *Free radical biology & medicine*. 2004. Vol. 37, Iss. 6. P. 902-911. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.003>
- [38] Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes / G. Ndrepepa, S. Braun, J. Mehilli et al. *European journal of clinical investigation*. 2008. Vol. 38, Iss. 2. P. 90-96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2007.01908.x>
- [39] Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction / B. U. Goldmann, V. Rudolph, T. K. Rudolph et al. *Free radical biology & medicine*. 2009. Vol. 47, Iss. 1. P. 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.004>
- [40] Plasma myeloperoxidase concentration predicts the presence and severity of coronary disease in patients with chest pain and negative troponin-T / A. G. Rebeiz, H. M. Tamim, R. M. Sleiman et al. *Coronary artery disease*. 2011. Vol. 22, Iss. 8. P. 553-558. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32834c5e98>
- [41] Consequences of total and subtotal myeloperoxidase deficiency: risk or benefit? / D. Kutter, P. Devaquet, G. Vanderstocken et al. *Acta haematologica*. 2000. Vol. 104, Iss. 1. P. 10-15. <https://doi.org/10.1159/000041062>
- [42] Jordan J. E., Zhao Z. Q., Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular research*. 1999. Vol. 43, Iss. 4. P. 860-878. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(99\)00187-x](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(99)00187-x)
- [43] Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovascular research*. 2004. Vol. 61, Iss. 3. P. 481-497. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.10.011>
- [44] Khalil W., Abdelhamed M., Eldamhory A. Validity of QRS Configuration and Myeloperoxidase Level as Determinants of CAD Severity and Prognosis in Patients with STEMI. *World Journal of Cardiovascular Diseases*. 2021. Vol. 11. P. 82-97. <https://doi.org/10.4236/wjcd.2021.111010>
- [45] Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study / M. C. Meuwese, E. S. Stroes, S. L. Hazen et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 50, Iss. 2. P. 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.03.033>
- [46] Association of the serum myeloperoxidase/high-density lipoprotein particle ratio and incident cardiovascular events in a multi-ethnic population: Observations from the Dallas Heart Study / H. W. Khine, J. F. Teiber, R. W. Haley et al. *Atherosclerosis*. 2017. Vol. 263. P. 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.007>
- [47] Koch C., Henrich M., Heidt M. C. Sequential analysis of myeloperoxidase for prediction of adverse events after suspected acute coronary ischemia. *Clinical cardiology*. 2014. Vol. 37, Iss. 12. P. 744-749. <https://doi.org/10.1002/clc.22336>
- [48] Multimarker Risk Stratification in Patients With Acute Myocardial Infarction / M. L. O'Donoghue, D. A. Morrow, C. P. Cannon et al. *Journal of the American Heart Association*. 2016. Vol. 5, Iss. 5. P. e002586. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002586>
- [49] Multimarker risk model containing troponin-T, interleukin 10, myeloperoxidase and placental growth factor predicts long-term cardiovascular risk after non-ST-segment elevation acute coronary syndrome / R. M. Oemrawsingh, T. Lenderink, K. M. Akkerhuis et al. *Heart (British Cardiac Society)*. 2011. Vol. 97, Iss. 13. P. 1061-1066. <https://doi.org/10.1136/hrt.2010.197392>
- [50] Kacprzak M., Zielinska M. Prognostic value of myeloperoxidase concentration in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *International journal of cardiology*. 2016. Vol. 223. P. 452-457. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.07.258>
- [51] Potential role of plasma myeloperoxidase level in predicting long-term outcome of acute myocardial infarction / M. G. Kaya, R. Yalcin, K. Okyay et al. *Texas Heart Institute journal*. 2012. Vol. 39, Iss. 4. P. 500-506.
- [52] Myeloperoxidase, asymmetric dimethyl-arginine and the renin-angiotensin-aldosterone-system in cardiovascular risk patients: Cross-sectional findings from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study / S. Zelzer, D. Enko, S. Pilz et al. *Clinical biochemistry*. 2017. Vol. 50, Iss. 13-14. P. 739-745. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.03.013>
- [53] Prognostic value of myeloperoxidase concentration in patients with acute coronary syndrome / S. C. Liu, T. C. Yi, H. Y. Weng et al. *Chinese Journal of Cardiology*. 2018. Vol. 46, Iss. 4. P. 284-291. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.04.007>
- [54] Myeloperoxidase level and inflammatory markers and lipid and lipoprotein parameters in stable coronary artery disease / E. Kimak, B. Zięba, D. Duma, J. Solski. *Lipids in health and disease*. 2018. Vol. 17, Iss. 1. P. 71. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0718-4>
- [55] Copeptin, myeloperoxidase and pro-adrenomedullin for acute coronary syndrome in patients with chronic kidney disease / J. H. Pek, S. M. C. Fook-Chong, J. C. J. Choo et al. *Proceedings of Singapore Healthcare*. 2019. Vol. 28, Iss. 3. P. 173-183. <https://doi.org/10.1177/2010105819843927>

- [56] Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome / E. Cavusoglu, C. Ruwende, C. Eng et al. *The American journal of cardiology*. 2007. Vol. 99, Iss. 10. P. 1364-1368. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.12.060>
- [57] Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18 / D. A. Morrow, M. S. Sabatine, M. L. Brennan et al. *European heart journal*. 2008. Vol. 29, Iss. 9. P. 1096-1102. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehn071>
- [58] Kalantar-Zadeh K., Brennan M. L., Hazen S. L. (2006). Serum myeloperoxidase and mortality in maintenance hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*. 2006. Vol. 48, Iss. 1. P. 59-68. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.03.047>
- [59] Prognostic value of myeloperoxidase in coronary artery disease: comparison of unstable and stable angina patients / R. M. Roman, P. V. Camargo, F. K. Borges et al. *Coronary artery disease*. 2010. Vol. 21, Iss. 3. P. 129-136. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e328333f50d>
- [60] Myeloperoxidase, subclinical atherosclerosis, and cardiovascular disease events / N. D. Wong, H. Gransar, J. Narula et al. *JACC. Cardiovascular imaging*. 2009. Vol. 2, Iss. 9. P. 1093-1099. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2009.05.012>
- [61] Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction / T. J. Moccata, A. P. Pilbrow, V. A. Cameron et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 49, Iss. 20. P. 1993-2000. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.040>
- [62] Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease / W. H. Tang, Y. Wu, S. J. Nicholls, S. L. Hazen. *Clinical chemistry*. 2011. Vol. 57, Iss. 1. P. 33-39. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.152827>
- [63] Usefulness of cardiac biomarker score for risk stratification in stable patients undergoing elective cardiac evaluation across glycemic status / W. H. Tang, N. Iqbal, Y. Wu, S. L. Hazen. *The American journal of cardiology*. 2013. Vol. 111, Iss. 4. P. 465-470. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.10.027>
- [64] Risk prediction with serial myeloperoxidase monitoring in patients with acute chest pain / S. J. Nicholls, W. H. Tang, D. Brennan et al. *Clinical chemistry*. 2011. Vol. 57, Iss. 12. P. 1762-1770. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.166827>
- [65] Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography—the LURIC study / H. Scharnagl, M. E. Kleber, B. Genser et al. *International journal of cardiology*. 2014. Vol. 174, Iss. 1. P. 96-105. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.03.168>
- [66] Prognostic Role of Elevated Myeloperoxidase in Patients with Acute Coronary Syndrome: A Systemic Review and Meta-Analysis / A. R. Kolodziej, M. Abo-Aly, E. Elsalwaly et al. *Mediators of inflammation*. 2019. 2872607. <https://doi.org/10.1155/2019/2872607>
- [67] Cheng M., Cheng M., Wei Q. (2020). Association of myeloperoxidase, homocysteine and high-sensitivity C-reactive protein with the severity of coronary artery disease and their diagnostic and prognostic value. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020. Vol. 20, Iss. 2. P. 1532-1540. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8817>
- [68] The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture / N. Teng, G. J. Maghzal, J. Talib et al. *Redox report*. 2017. Vol. 22, Iss. 2. P. 51-73. <https://doi.org/10.1080/13510002.2016.1256119>
- [69] Multiple biomarker use for detection of adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome / F. S. Apple, L. A. Pearce, A. Chung et al. *Clinical chemistry*. 2007. Vol. 53, Iss. 5. P. 874-881. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.080192>
- [70] Prognostic value of plasma myeloperoxidase concentration in patients with stable coronary artery disease / A. Stefanescu, S. Braun, G. Ndrepepa et al. *American heart journal*. 2008. Vol. 155, Iss. 2. P. 356-360. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.10.017>
- [71] Myeloperoxidase is not useful for the early assessment of patients with chest pain / L. M. Eggers, M. Dellborg, N. Johnston et al. *Clinical biochemistry*. 2010. Vol. 43, Iss. 3. P. 240-245. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.09.026>
- [72] Assessment of multiple cardiac biomarkers in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: observations from the MERLIN-TIMI 36 trial / B. M. Scirica, M. S. Sabatine, P. Jarolim et al. *European heart journal*. 2011. Vol. 32, Iss. 6. P. 697-705. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq468>
- [73] Diagnostic and prognostic performance of myeloperoxidase plasma levels compared with sensitive troponins in patients admitted with acute onset chest pain / V. Rudolph, T. Keller, A. Schulz et al. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2012. Vol. 5, Iss. 5. P. 561-568. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.962290>
- [74] Myeloperoxidase activity and acute coronary syndrome survival: long-term evaluation in the ERICO study / A. V. Quidim, T. C. Bruno, P. C. Lacerda Leocádio et al. *Biomarkers in medicine*. 2018. Vol. 12, Iss. 11. P. 1219-1229. <https://doi.org/10.2217/bmm-2018-0110>
- [75] Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction / J. Wang, G. J. Tan, L. N. Han et al. *Journal of geriatric cardiology : JGC*. 2017. Vol. 14, Iss. 2. P. 135-150. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2017.02.008>
- [76] Associations of myeloperoxidase, interleukin-17A and heparin-binding EGF-like growth factor levels with in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention: a single-centre case-control study in China / H. Jiang, H. Zhang, Y. Yang, X. Yang. *BMJ open*. 2020. Vol. 10, Iss. 11. P. e039405. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-039405>
- [77] The risk of stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with bare-metal and drug-eluting stents / N. Kukreja, Y. Onuma, H. M. Garcia-Garcia et al. *JACC. Cardiovascular interventions*. 2009. Vol. 2, Iss. 6. P. 534-541. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.04.003>
- [78] Leukocyte counts and concentrations of soluble adhesion molecules as predictors of coronary atherosclerosis / J. Ikata, T. Wakatsuki, Y. Oishi et al. *Coronary artery disease*. 2000. Vol. 11, Iss. 6. P. 445-449. <https://doi.org/10.1097/00019501-200009000-00001>
- [79] Effectiveness of statin-eluting stent on early inflammatory response and neointimal thickness in a porcine coronary model / K. Miyachi, T. Kasai, T. Yokayama et al. *Circulation journal*. 2008. Vol. 72, Iss. 5. P. 832-838. <https://doi.org/10.1253/circj.72.832>
- [80] In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia / R. Kornowski, M. K. Hong, F. O. Tio et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 1998. Vol. 31, Iss. 1. P. 224-230. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(97\)00450-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(97)00450-6)
- [81] Restenosis, Stent Thrombosis, and Bleeding Complications: Navigating Between Scylla and Charybdis / J. Torrado, L. Buckley, A. Durán et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018. Vol. 71, Iss. 15. P. 1676-1695. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.023>
- [82] Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice / P. Libby, Y. Okamoto, V. Z. Rocha, E. Folco. *Circulation journal*. 2010. Vol. 74, Iss. 2. P. 213-220. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-09-0706>
- [83] Neutrophil-derived myeloperoxidase promotes atherogenesis and neointima formation in mice / V. Tiyerili, B. Camara, M. U. Becher et al. *International journal of cardiology*. 2016. Vol. 204. P. 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.11.128>
- [84] Association of monocyte myeloperoxidase with incident cardiovascular disease: The Atherosclerosis Risk in Communities Study / A. O. Oyenuga, D. Couper, K. Matsushita et al. *PLoS one*. 2018. Vol. 13, Iss. 10. P. e0205310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205310>
- [85] Role of Myeloperoxidase Oxidants in the Modulation of Cellular Lysosomal Enzyme Function: A Contributing Factor to Macrophage Dysfunction in Atherosclerosis? / F. O. Ismael, T. J. Barrett, D. Sheipouri et al. *PLoS one*. 2016. Vol. 11, Iss. 12. P. e0168844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168844>
- [86] Increased levels of MMP-3, MMP-9 and MPO represent predictors of in-stent restenosis, while increased levels of ADMA, LCAT, ApoE and ApoD predict bare metal stent patency / L. Pleva, P. Kusnierova, P. Plevova et al. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2015. Vol. 159, Iss. 4. P. 586-594. <https://doi.org/10.5507/bp.2015.037>
- [87] Relationship between biomarkers and subsequent clinical and angiographic restenosis after paclitaxel-eluting stents for treatment of STEMI: a HORIZONS-AMI substudy / B. E. Claessen, G. W. Stone, R. Mehran et al. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2012. Vol. 34, Iss. 2. P. 165-179. <https://doi.org/10.1007/s11239-012-0706-x>
- [88] Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review / G. A. Ramirez, M. R. Yacoub, M. Ripa et al. *BioMed research international*. 2018. 9095275. <https://doi.org/10.1155/2018/9095275>

## References

- [1] Stewart, J., Manmathan, G., & Wilkinson, P. (2017). Primary prevention of cardiovascular disease: A review of contemporary guidance and literature. *JRSM cardiovascular disease*, 6, 2048004016687211. <https://doi.org/10.1177/2048004016687211>
- [2] Odobasic, D., Kitching, A. R., & Holdsworth, S. R. (2016). Neutrophil-Mediated Regulation of Innate and Adaptive Immunity: The Role of Myeloperoxidase. *Journal of immunology research*, 2016, 2349817. <https://doi.org/10.1155/2016/2349817>
- [3] Gellhaar, S., Sunnemark, D., Eriksson, H., Olson, L., & Galter, D. (2017). Myeloperoxidase-immunoreactive cells are significantly increased in brain areas affected by neurodegeneration in Parkinson's and Alzheimer's disease. *Cell and tissue research*, 369(3), 445-454. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2626-8>
- [4] Maki, R. A., Holzer, M., Motamedchaboki, K., Malle, E., Masliha, E., Marsche, G., & Reynolds, W. F. (2019). Human myeloperoxidase (hMPO) is expressed in neurons in the substantia nigra in Parkinson's disease and in the hMPO- $\alpha$ -synuclein-A53T mouse model, correlating with increased nitration and aggregation of  $\alpha$ -synuclein and exacerbation of motor impairment. *Free radical biology & medicine*, 141, 115-140. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.033>



- [5] Thai, T., Zhong, F., Dang, L., Chan, E., Ku, J., Malle, E., Geczy, C. L., Kearney, J. F., Jr, & Thomas, S. R. (2021). Endothelial-transcytosed myeloperoxidase activates endothelial nitric oxide synthase via a phospholipase C-dependent calcium signaling pathway. *Free radical biology & medicine*, 166, 255-264. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.448>
- [6] Abdo, A. I., Rayner, B. S., van Reyk, D. M., & Hawkins, C. L. (2017). Low-density lipoprotein modified by myeloperoxidase oxidants induces endothelial dysfunction. *Redox biology*, 13, 623-632. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.08.004>
- [7] Love, D. T., Barrett, T. J., White, M. Y., Cordwell, S. J., Davies, M. J., & Haskins, C. L. (2016). Cellular targets of the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid (HOCl) and its role in the inhibition of glycolysis in macrophages. *Free radical biology & medicine*, 94, 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.016>
- [8] Aratani Y. (2018). Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of biochemistry and biophysics*, 640, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>
- [9] Ndrepepa G. (2019). Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 493, 36-51. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.022>
- [10] Khan, A. A., Alsalhi, M. A., & Rahmani, A. H. (2018). Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. *Medical sciences*, 6(2), 33. <https://doi.org/10.3390/medsci6020033>
- [11] Strzepa, A., Pritchard, K. A., & Dittel, B. N. (2017). Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cellular immunology*, 317, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2017.05.002>
- [12] Anatoliotakis, N., Deftereos, S., Bouras, G., Giannopoulos, G., Tsounis, D., Angelidis, C., Kaoukias, A., & Stefanadis, C. (2013). Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease. *Current topics in medicinal chemistry*, 13(2), 115-138. <https://doi.org/10.2174/1568026611313020004>
- [13] Baldus, S., Heeschen, C., Meinertz, T., Zeiher, A. M., Eiserich, J. P., Münzel, T., Simoons-Sch, M. L., Hamm, C. W., & CAPTURE Investigators (2003). Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*, 108(12), 1440-1445. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000090690.67322.51>
- [14] Brennan, M. L., Penn, M. S., Van Lente, F., Nambi, V., Shishebor, M. H., Aviles, R. J., Goormastic, M., Pepoy, M. L., McErlane, E. S., Topol, E. J., Nissen, S. E., & Hazen, S. L. (2003). Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *The New England journal of medicine*, 349(17), 1595-1604. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035003>
- [15] Calmarza, P., Lapresta, C., Martínez, M., Lahoz, R., & Povar, J. (2018). Utility of myeloperoxidase in the differential diagnosis of acute coronary syndrome. *Archivos de cardiología de México*, 88(5), 391-396. <https://doi.org/10.1016/j.acmx.2017.11.003>
- [16] Tang, W. H., Tong, W. H., Troughton, R. W., Martin, M. G., Shrestha, K., Borowski, A., Jasper, S., Hazen, S. L., & Klein, A. L. (2007). Prognostic value and echocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(24), 2364-2370. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.053>
- [17] Avalliani, T., Talakvadze, T., & Tabagari, S. (2019). Prognostic value of plasma myeloperoxidase level's and echocardiographic determinants in chronic heart failure patients. *Georgian medical news*, (288), 55-60.
- [18] McLaughlin, K., Baczyk, D., Potts, A., Hladunewich, M., Parker, J. D., & Kingdom, J. C. (2017). Low Molecular Weight Heparin Improves Endothelial Function in Pregnant Women at High Risk of Preeclampsia. *Hypertension*, 69(1), 180-188. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08298>
- [19] Ganz, P., Amarenco, P., Goldstein, L. B., Silleisen, H., Bao, W., Preston, G. M., Welch, K., & SPARCL Steering Committee (2017). Association of Osteopontin, Neopterin, and Myeloperoxidase With Stroke Risk in Patients With Prior Stroke or Transient Ischemic Attacks: Results of an Analysis of 13 Biomarkers From the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels Trial. *Stroke*, 48(12), 3223-3231. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.017965>
- [20] Correa, S., Pena-Esparragoza, J. K., Scovner, K. M., Waikar, S. S., & Mc Causland, F. R. (2020). Myeloperoxidase and the Risk of CKD Progression, Cardiovascular Disease, and Death in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *American journal of kidney diseases*, 76(1), 32-41. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.09.006>
- [21] Ramachandra, C., Ja, K., Chua, J., Cong, S., Shim, W., & Hausenloy, D. J. (2020). Myeloperoxidase As a Multifaceted Target for Cardiovascular Protection. *Antioxidants & redox signaling*, 32(15), 1135-1149. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7971>
- [22] Govindarajan, S., Raghavan, V. M., & Rao, A. C. (2016). Plasma Myeloperoxidase and Total Sialic Acid as Prognostic Indicators in Acute Coronary Syndrome. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 10(8), BC09-BC13. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/20715.8347>
- [23] Liu, C., Xie, G., Huang, W., Yang, Y., Li, P., & Tu, Z. (2012). Elevated serum myeloperoxidase activities are significantly associated with the prevalence of ACS and High LDL-C levels in CHD patients. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 19(5), 435-443. <https://doi.org/10.5551/jat.9704>
- [24] Omran, M. M., Zahran, F. M., Kadry, M., Belal, A., & Emran, T. M. (2018). Role of myeloperoxidase in early diagnosis of acute myocardial infarction in patients admitted with chest pain. *Journal of immunoassay & immunochemistry*, 39(3), 337-347. <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1492423>
- [25] Sawicki, M., Sypniewska, G., Kozinski, M., Gruszka, M., Krintus, M., Obonska, K., Pilaczynska-Cemel, M., & Kubica, J. (2011). Diagnostic efficacy of myeloperoxidase for the detection of acute coronary syndromes. *European journal of clinical investigation*, 41(6), 667-671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02457.x>
- [26] Searle, J., Shih, J., Muller, R., Vollert, J. O., Müller, C., Danne, O., Datwyler, S., & Möckel, M. (2013). The role of myeloperoxidase (MPO) for prognostic evaluation in sensitive cardiac troponin I negative chest pain patients in the emergency department. *European heart journal. Acute cardiovascular care*, 2(3), 203-210. <https://doi.org/10.1177/2048872613484688>
- [27] Trentini, A., Rosta, V., Spadaro, S., Bellini, T., Rizzo, P., Vieceli Dalla Sega, F., Passaro, A., Zuliani, G., Gentili, V., Campo, G., & Cervellati, C. (2020). Development, optimization and validation of an absolute specific assay for active myeloperoxidase (MPO) and its application in a clinical context: role of MPO specific activity in coronary artery disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 58(10), 1749-1758. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0817>
- [28] Tietge U. (2018). The impact of myeloperoxidase on HDL function in myocardial infarction. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, 25(2), 137-142. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000394>
- [29] Fong, S. W., Few, L. L., See Too, W. C., Khoo, B. Y., Nik Ibrahim, N. N., Yahaya, S. A., Yusof, Z., Mohd Ali, R., Abdul Rahman, A. R., & Yvonne-Tee, G. B. (2015). Systemic and coronary levels of CRP, MPO, sCD40L and PIGF in patients with coronary artery disease. *BMC research notes*, 8, 679. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1677-8>
- [30] Tan, Y., Yang, S., Chen, R., Sheng, Z., Zhou, P., Liu, C., Zhao, H., Song, L., Li, J., Zhou, J., Chen, Y., & Yan, H. (2020). High Plasma Myeloperoxidase Is Associated with Plaque Erosion in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Journal of cardiovascular translational research*, 13(6), 908-915. <https://doi.org/10.1007/s12265-020-10002-x>
- [31] Khan, D. A., Sharif, M. S., & Khan, F. A. (2011). Diagnostic performance of high-sensitivity troponin T, myeloperoxidase, and pregnancy-associated plasma protein A assays for triage of patients with acute myocardial infarction. *The Korean journal of laboratory medicine*, 31(3), 172-178. <https://doi.org/10.3343/kjlm.2011.31.3.172>
- [32] Stankovic, S., Asanin, M., Trifunovic, D., Majkic-Singh, N., Ignjatovic, S., Mrdovic, I., Matic, D., Savic, L., Marinkovic, J., Ostojic, M., & Vasiljevic, Z. (2012). Time-dependent changes of myeloperoxidase in relation to in-hospital mortality in patients with the first anterior ST-segment elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention. *Clinical biochemistry*, 45(7-8), 547-551. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.02.015>
- [33] Mehta, M. D., Marwah, S. A., Ghosh, S., Shah, H., Trivedi, A., & Haridas, N. (2016). A Synergistic Role of Myeloperoxidase and High Sensitivity Troponin T in the Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 31(1), 75-80. <https://doi.org/10.1007/s12291-015-0490-4>
- [34] Sinning, C., Schnabel, R., Peacock, W. F., & Blankenberg, S. (2008). Up-and-coming markers: myeloperoxidase, a novel biomarker test for heart failure and acute coronary syndrome application?. *Congestive heart failure (Greenwich, Conn.)*, 14(4 Suppl 1), 46-48. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7133.2008.tb0012.x>
- [35] Peacock, W. F., Nagurney, J., Birkhahn, R., Singer, A., Shapiro, N., Hollander, J., Glynn, T., Nowak, R., Safdar, B., Miller, C., Peberdy, M., Counselman, F., Chandra, A., Kosowsky, J., Neuenschwander, J., Schrock, J., Planthof, S., Lewandrowski, E., Wong, V., Kupfer, K., ... Diercks, D. (2011). Myeloperoxidase in the diagnosis of acute coronary syndromes: the importance of spectrum. *American heart journal*, 162(5), 893-899. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2011.08.017>
- [36] Stamboul, K., Zeller, M., Rochette, L., Cottin, Y., Cochet, A., Lecquerq, T., Porot, G., Guenancia, C., Fichot, M., Maillot, N., Vergely, C., & Lorgis, L. (2017). Relation between high levels of myeloperoxidase in the culprit artery and microvascular obstruction, infarct size and reverse remodeling in ST-elevation myocardial infarction. *PLoS one*, 12(7), e0179929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179929>
- [37] Baldus, S., Heitzer, T., Eiserich, J. P., Lau, D., Mollnau, H., Ortak, M., Petri, S., Goldmann, B., Duchstein, H. J., Berger, J., Helmchen, U., Freeman, B. A., Meinertz, T., & Münzel, T. (2004). Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion. *Free radical biology & medicine*, 37(6), 902-911. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.003>

- [38] Ndrepepa, G., Braun, S., Mehilli, J., von Beckerath, N., Schömig, A., & Kastrati, A. (2008). Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *European journal of clinical investigation*, 38(2), 90-96. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2007.01908.x>
- [39] Goldmann, B. U., Rudolph, V., Rudolph, T. K., Holle, A. K., Hillebrandt, M., Meinertz, T., & Baldus, S. (2009). Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction. *Free radical biology & medicine*, 47(1), 79-83. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.004>
- [40] Rebeiz, A. G., Tamim, H. M., Sleiman, R. M., Abchee, A. G., Ibrahim, Z., Khoury, M. Y., Youhanna, S., Skouri, H. N., & Alam, S. E. (2011). Plasma myeloperoxidase concentration predicts the presence and severity of coronary disease in patients with chest pain and negative troponin-T. *Coronary artery disease*, 22(8), 553-558. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e32834c5e98>
- [41] Kutter, D., Devaquet, P., Vanderstocken, G., Paulus, J. M., Marchal, V., & Gothot, A. (2000). Consequences of total and subtotal myeloperoxidase deficiency: risk or benefit?. *Acta haematologica*, 104(1), 10-15. <https://doi.org/10.1159/000041062>
- [42] Jordan, J. E., Zhao, Z. Q., & Vinten-Johansen, J. (1999). The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular research*, 43(4), 860-878. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(99\)00187-x](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(99)00187-x)
- [43] Vinten-Johansen J. (2004). Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovascular research*, 61(3), 481-497. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.10.011>
- [44] Khalil, W., Abdelhamed, M., & Eldamany, A. (2021). Validity of QRS Configuration and Myeloperoxidase Level as Determinants of CAD Severity and Prognosis in Patients with STEMI. *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 11, 82-97. <https://doi.org/10.4236/wjcd.2021.111010>
- [45] Meuwese, M. C., Stroes, E. S., Hazen, S. L., van Miert, J. N., Kuivenhoven, J. A., Schaub, R. G., Wareham, N. J., Luben, R., Kastelein, J. J., Khaw, K. T., & Boekholdt, S. M. (2007). Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(2), 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.03.033>
- [46] Khine, H. W., Teiber, J. F., Haley, R. W., Khera, A., Ayers, C. R., & Rohatgi, A. (2017). Association of the serum myeloperoxidase/high-density lipoprotein particle ratio and incident cardiovascular events in a multi-ethnic population: Observations from the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis*, 263, 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.007>
- [47] Koch, C., Henrich, M., & Heidt, M. C. (2014). Sequential analysis of myeloperoxidase for prediction of adverse events after suspected acute coronary ischemia. *Clinical cardiology*, 37(12), 744-749. <https://doi.org/10.1002/clc.22336>
- [48] O'Donoghue, M. L., Morrow, D. A., Cannon, C. P., Jarolim, P., Desai, N. R., Sherwood, M. W., Murphy, S. A., Gerszten, R. E., & Sabatine, M. S. (2016). Multimarker Risk Stratification in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American Heart Association*, 5(5), e002586. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002586>
- [49] Oemrawsingh, R. M., Lenderink, T., Akkerhuis, K. M., Heeschen, C., Baldus, S., Fichtlscherer, S., Hamm, C. W., Simoons, M. L., Boersma, E., & CAPTURE investigators (2011). Multimarker risk model containing troponin-T, interleukin 10, myeloperoxidase and placental growth factor predicts long-term cardiovascular risk after non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Heart (British Cardiac Society)*, 97(13), 1061-1066. <https://doi.org/10.1136/hrt.2010.197392>
- [50] Kacprzak, M., & Zielinska, M. (2016). Prognostic value of myeloperoxidase concentration in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *International journal of cardiology*, 223, 452-457. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.07.258>
- [51] Kaya, M. G., Yalcin, R., Okyay, K., Poyraz, F., Bayraktar, N., Pasaoglu, H., Boyaci, B., & Cengel, A. (2012). Potential role of plasma myeloperoxidase level in predicting long-term outcome of acute myocardial infarction. *Texas Heart Institute journal*, 39(4), 500-506.
- [52] Zelzer, S., Enko, D., Pilz, S., Tomaschitz, A., März, W., & Meinitzer, A. (2017). Myeloperoxidase, asymmetric dimethyl-arginine and the renin-angiotensin-aldosterone-system in cardiovascular risk patients: Cross-sectional findings from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clinical biochemistry*, 50(13-14), 739-745. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.03.013>
- [53] Liu, S. C., Yi, T. C., Weng, H. Y., Zhang, L., Li, Y. X., Mohetaboer, M., Zhang, Y., Jiang, J., Li, J. P., & Huo, Y. (2018). Prognostic value of myeloperoxidase concentration in patients with acute coronary syndrome. *Chinese Journal of Cardiology*, 46(4), 284-291. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3758.2018.04.007>
- [54] Kimak, E., Zięba, B., Duma, D., & Solski, J. (2018). Myeloperoxidase level and inflammatory markers and lipid and lipoprotein parameters in stable coronary artery disease. *Lipids in health and disease*, 17(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0718-4>
- [55] Pek, J. H., Fook-Chong, S. M. C., Choo, J. C. J., Tan, C. H. C., Lin, Z., Chan, C. M., Yeo, C. P., & Lim S. H. (2019). Copeptin, myeloperoxidase and pro-adrenomedullin for acute coronary syndrome in patients with chronic kidney disease. *Proceedings of Singapore Healthcare*, 28(3), 173-183. <https://doi.org/10.1177/2010105819843927>
- [56] Cavusoglu, E., Ruwende, C., Eng, C., Chopra, V., Yanamadala, S., Clark, L. T., Pinsky, D. J., & Marmur, J. D. (2007). Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome. *The American journal of cardiology*, 99(10), 1364-1368. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.12.060>
- [57] Morrow, D. A., Sabatine, M. S., Brennan, M. L., de Lemos, J. A., Murphy, S. A., Ruff, C. T., Rifai, N., Cannon, C. P., & Hazen, S. L. (2008). Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *European heart journal*, 29(9), 1096-1102. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehn071>
- [58] Kalantar-Zadeh, K., Brennan, M. L., & Hazen, S. L. (2006). Serum myeloperoxidase and mortality in maintenance hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases*, 48(1), 59-68. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.03.047>
- [59] Roman, R. M., Camargo, P. V., Borges, F. K., Rossini, A. P., & Polanczyk, C. A. (2010). Prognostic value of myeloperoxidase in coronary artery disease: comparison of unstable and stable angina patients. *Coronary artery disease*, 21(3), 129-136. <https://doi.org/10.1097/MCA.0b013e328333f50d>
- [60] Wong, N. D., Gransar, H., Narula, J., Shaw, L., Moon, J. H., Miranda-Peats, R., Rozanski, A., Hayes, S. W., Thomson, L. E., Friedman, J. D., & Berman, D. S. (2009). Myeloperoxidase, subclinical atherosclerosis, and cardiovascular disease events. *JACC. Cardiovascular imaging*, 2(9), 1093-1099. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2009.05.012>
- [61] Mocatta, T. J., Pilbrow, A. P., Cameron, V. A., Senthilmohan, R., Frampton, C. M., Richards, A. M., & Winterbourn, C. C. (2007). Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(20), 1993-2000. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.040>
- [62] Tang, W. H., Wu, Y., Nicholls, S. J., & Hazen, S. L. (2011). Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease. *Clinical chemistry*, 57(1), 33-39. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.152827>
- [63] Tang, W. H., Iqbal, N., Wu, Y., & Hazen, S. L. (2013). Usefulness of cardiac biomarker score for risk stratification in stable patients undergoing elective cardiac evaluation across glycemic status. *The American journal of cardiology*, 111(4), 465-470. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.10.027>
- [64] Nicholls, S. J., Tang, W. H., Brennan, D., Brennan, M. L., Mann, S., Nissen, S. E., & Hazen, S. L. (2011). Risk prediction with serial myeloperoxidase monitoring in patients with acute chest pain. *Clinical chemistry*, 57(12), 1762-1770. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2011.166827>
- [65] Schamagl, H., Kleber, M. E., Genser, B., Kickmaier, S., Renner, W., Weihrach, G., Grammer, T., Rossmann, C., Winkelmann, B. R., Boehm, B. O., Sattler, W., März, W., & Malle, E. (2014). Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography—the LURIC study. *International journal of cardiology*, 174(1), 96-105. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.03.168>
- [66] Kolodziej, A. R., Abo-Aly, M., Elsalwaly, E., Campbell, C., Ziada, K. M., & Abdel-Latif, A. (2019). Prognostic Role of Elevated Myeloperoxidase in Patients with Acute Coronary Syndrome: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Mediators of inflammation*, 2019, 2872607. <https://doi.org/10.1155/2019/2872607>
- [67] Cheng, M., Cheng, M., & Wei, Q. (2020). Association of myeloperoxidase, homocysteine and high-sensitivity C-reactive protein with the severity of coronary artery disease and their diagnostic and prognostic value. *Experimental and therapeutic medicine*, 20(2), 1532-1540. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8817>
- [68] Teng, N., Maghazal, G. J., Talib, J., Rashid, I., Lau, A. K., & Stocker, R. (2017). The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture. *Redox report*, 22(2), 51-73. <https://doi.org/10.1080/13510002.2016.1256119>
- [69] Apple, F. S., Pearce, L. A., Chung, A., Ler, R., & Murakami, M. M. (2007). Multiple biomarker use for detection of adverse events in patients presenting with symptoms suggestive of acute coronary syndrome. *Clinical chemistry*, 53(5), 874-881. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.080192>
- [70] Stefanescu, A., Braun, S., Ndrepepa, G., Koppa, T., Pavaci, H., Mehilli, J., Schömig, A., & Kastrati, A. (2008). Prognostic value of plasma myeloperoxidase concentration in patients with stable coronary artery disease. *American heart journal*, 155(2), 356-360. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.10.017>

- [71] Eggers, K. M., Dellborg, M., Johnston, N., Oldgren, J., Swahn, E., Venge, P., & Lindahl, B. (2010). Myeloperoxidase is not useful for the early assessment of patients with chest pain. *Clinical biochemistry*, 43(3), 240-245. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.09.026>
- [72] Scirica, B. M., Sabatine, M. S., Jarolim, P., Murphy, S. A., de Lemos, J. L., Braunwald, E., & Morrow, D. A. (2011). Assessment of multiple cardiac biomarkers in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: observations from the MERLIN-TIMI 36 trial. *European heart journal*, 32(6), 697-705. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq468>
- [73] Rudolph, V., Keller, T., Schulz, A., Ojeda, F., Rudolph, T. K., Tzikas, S., Bickel, C., Meinertz, T., Münzel, T., Blankenberg, S., & Baldus, S. (2012). Diagnostic and prognostic performance of myeloperoxidase plasma levels compared with sensitive troponins in patients admitted with acute onset chest pain. *Circulation. Cardiovascular genetics*, 5(5), 561-568. <https://doi.org/10.1161/CIRC-GENETICS.111.962290>
- [74] Quidim, A. V., Bruno, T. C., Lacerda Leocádio, P. C., Dos Reis Menta, P. L., Alvarez-Leite, J. I., Santos, I. S., Lotufo, P. A., Benseñor, I. M., & Goulart, A. C. (2018). Myeloperoxidase activity and acute coronary syndrome survival: long-term evaluation in the ERICO study. *Biomarkers in medicine*, 12(11), 1219-1229. <https://doi.org/10.2217/bmm-2018-0110>
- [75] Wang, J., Tan, G. J., Han, L. N., Bai, Y. Y., He, M., & Liu, H. B. (2017). Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction. *Journal of geriatric cardiology : JGC*, 14(2), 135-150. <https://doi.org/10.11909/j.issn.1671-5411.2017.02.008>
- [76] Jiang, H., Zhang, H., Yang, Y., & Yang, X. (2020). Associations of myeloperoxidase, interleukin-17A and heparin-binding EGF-like growth factor levels with in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention: a single-centre case-control study in China. *BMJ open*, 10(11), e039405. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-039405>
- [77] Kukreja, N., Onuma, Y., Garcia-Garcia, H. M., Daemen, J., van Domburg, R., Serruys, P. W., & Interventional Cardiologists of the Thoraxcenter (2000 to 2005) (2009). The risk of stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with bare-metal and drug-eluting stents. *JACC. Cardiovascular interventions*, 2(6), 534-541. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.04.003>
- [78] Ikata, J., Wakatsuki, T., Oishi, Y., Oki, T., & Ito, S. (2000). Leukocyte counts and concentrations of soluble adhesion molecules as predictors of coronary atherosclerosis. *Coronary artery disease*, 11(6), 445-449. <https://doi.org/10.1097/00019501-200009000-00001>
- [79] Miyauchi, K., Kasai, T., Yokayama, T., Aihara, K., Kurata, T., Kajimoto, K., Okazaki, S., Ishiyama, H., & Daida, H. (2008). Effectiveness of statin-eluting stent on early inflammatory response and neointimal thickness in a porcine coronary model. *Circulation journal*, 72(5), 832-838. <https://doi.org/10.1253/circj.72.832>
- [80] Kornowski, R., Hong, M. K., Tio, F. O., Bramwell, O., Wu, H., & Leon, M. B. (1998). In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *Journal of the American College of Cardiology*, 31(1), 224-230. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(97\)00450-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(97)00450-6)
- [81] Torrado, J., Buckley, L., Durán, A., Trujillo, P., Toldo, S., Valle Raleigh, J., Abbate, A., Biondi-Zoccai, G., & Guzmán, L. A. (2018). Restenosis, Stent Thrombosis, and Bleeding Complications: Navigating Between Scylla and Charybdis. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(15), 1676-1695. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.023>
- [82] Libby, P., Okamoto, Y., Rocha, V. Z., & Folco, E. (2010). Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circulation journal*, 74(2), 213-220. <https://doi.org/10.1253/circj.09-0706>
- [83] Tiyerili, V., Camara, B., Becher, M. U., Schrickel, J. W., Lütjohann, D., Mollenhauer, M., Baldus, S., Nickenig, G., & Andrié, R. P. (2016). Neutrophil-derived myeloperoxidase promotes atherogenesis and neointima formation in mice. *International journal of cardiology*, 204, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.11.128>
- [84] Oyenu, A. O., Couper, D., Matsushita, K., Boerwinkle, E., & Folsom, A. R. (2018). Association of monocyte myeloperoxidase with incident cardiovascular disease: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *PLoS one*, 13(10), e0205310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205310>
- [85] Ismael, F. O., Barrett, T. J., Sheipouri, D., Brown, B. E., Davies, M. J., & Hawkins, C. L. (2016). Role of Myeloperoxidase Oxidants in the Modulation of Cellular Lysosomal Enzyme Function: A Contributing Factor to Macrophage Dysfunction in Atherosclerosis?. *PLoS one*, 11(12), e0168844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168844>
- [86] Pleva, L., Kusnierova, P., Plevova, P., Zapletalova, J., Karpisek, M., Faldynova, L., Kovarova, P., & Kukla, P. (2015). Increased levels of MMP-3, MMP-9 and MPO represent predictors of in-stent restenosis, while increased levels of ADMA, LCAT, ApoE and ApoD predict bare metal stent patency. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 159(4), 586-594. <https://doi.org/10.5507/bp.2015.037>
- [87] Claessen, B. E., Stone, G. W., Mehran, R., Witzenbichler, B., Brodie, B. R., Wöhrle, J., Witkowski, A., Guagliumi, G., Zmudka, K., Henriques, J. P., Tijssen, J. G., Sanidas, E. A., Chantziara, V., Hakim, D., Leon, S., Xu, K., & Dangas, G. D. (2012). Relationship between biomarkers and subsequent clinical and angiographic restenosis after paclitaxel-eluting stents for treatment of STEMI: a HORIZONS-AMI substudy. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 34(2), 165-179. <https://doi.org/10.1007/s11239-012-0706-x>
- [88] Ramirez, G. A., Yacoub, M. R., Ripa, M., Mannina, D., Cariddi, A., Saporiti, N., Ciceri, F., Castagna, A., Colombo, G., & Dagna, L. (2018). Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review. *BioMed research international*, 2018, 9095275. <https://doi.org/10.1155/2018/9095275>

## Помилки під час надання екстреної медичної допомоги пацієнтам з ЕКГ-ознаками гострого коронарного синдрому на тлі декомпенсації цукрового діабету з гіперкаліємією

О. М. Торонченко  \*<sup>1,B-F</sup>, Л. О. М'якінькова  <sup>1,A-F</sup>, Д. Д. Баклицький  <sup>2,B,F</sup>

<sup>1</sup>Полтавський державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>КП «Полтавський обласний клінічний медичний кардіоваскулярний центр Полтавської обласної ради», Україна

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

У статті описано рідкісний клінічний випадок розвитку гіперкаліємії на тлі декомпенсації цукрового діабету 1 типу з ознаками гострої серцево-судинної недостатності, порушенням ритму та графіки комплексів QRST, первинно діагностований як гострий коронарний синдром (ГКС) з елевацією сегмента ST. За результатами коронароангіографії виключили патологію коронарних артерій. Гіперкаліємію як причину ЕКГ-змін припустили на стаціонарному етапі лікування. Стабілізацію стану пацієнта, відновлення ритму серця та провідності спостерігали на тлі інфузійної підтримки та інсулінотерапії.

Патогенез порушення ритму та графіки комплексів QRST мали вторинний ґенез щодо порушень водно-електролітного обміну, тому відновлення синусового ритму відбулося без застосування антиаритмічних препаратів. Використання антиаритмічних препаратів, рекомендованих під час лікування хворих на ГКС із порушенням ритму, може поглиблювати електролітні зрушення та призводити до виникнення фатальних аритмій в умовах дефіциту інсуліну та гіперкаліємії.

Наведений приклад підтверджує першочергову необхідність діагностики життєво небезпечних електролітних зрушень, зокрема гіперкаліємії під маскою ГКС, а також поряд з ЕКГ-ознаками ГКС особливу увагу необхідно приділяти оцінюванню анамнезу та клінічних даних для правильного визначення тактики надання невідкладної допомоги та лікування.

### Ключові слова:

цукровий діабет, гострий коронарний синдром, інсулін, кетоацидоз, порушення ритму, аміодарон, гіперкаліємія.

### Патологія. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 243-250

### \*E-mail:

[otoronchenko@gmail.com](mailto:otoronchenko@gmail.com)

## Medical errors in providing emergency care to patients with ECG symptoms of acute coronary syndrome on the background of decompensation of diabetes mellitus with hyperkalemia

O. M. Toronchenko, L. O. Miakinkova, D. D. Baklytskyi

The article describes a rare clinical case of hyperkalemia backgrounded by type 1 diabetes mellitus with signs of acute cardiovascular insufficiency, arrhythmia and QRST disturbances which was primarily diagnosed as acute coronary syndrome with ST elevation. Coronary angiography excluded pathology of the coronary arteries. Hyperkalemia, as the cause of ECG changes, was suspected in the hospital treatment. Stabilization of the patient's condition, renewal of heart rhythm and conduction was obtained against the background of infusion support and insulin therapy. The pathogenesis of arrhythmia and QRST complex had a secondary genesis in relation to fluid and electrolyte metabolism disorders, so the restoration of sinus rhythm occurred without usage of antiarrhythmics. The usage of antiarrhythmic drugs according to the guideline of management of patients with ACS can deepen electrolyte shifts and lead to fatal arrhythmias in conditions of insulin deficiency and hyperkalemia.

This example illustrates the urgent need to diagnose life-threatening electrolyte changes, namely hyperkalemia, under the guise of acute coronary syndrome, as well as signs of ACS, along with ECG, to pay special attention to the assessment of medical history and clinical data for the correct choice of emergency care and further treatment tactics.

### Key words:

diabetes mellitus, acute coronary syndrome, insulin, ketoacidosis, arrhythmia, amiodarone, hyperkalemia.

### Pathologia

2021; 18 (2), 243-250

## Ошибки при оказании экстренной медицинской помощи пациентам с ЭКГ-признаками острого коронарного синдрома на фоне декомпенсации сахарного диабета с гиперкалиемией

О. Н. Торонченко, Л. А. Мякинкова, Д. Д. Баклицкий

В статье описан редкий клинический случай развития гиперкалиемии на фоне декомпенсации сахарного диабета 1 типа с признаками острой сердечно-сосудистой недостаточности, нарушениями ритма и графики комплексов QRST, первично диагностированный как острый коронарный синдром (ОКС) с элевацией сегмента ST. В ходе коронароангиографии исключили патологию коронарных сосудов. Гиперкалиемию как причину ЭКГ-изменений предположили на стационарном этапе лечения. Стабилизация состояния пациента, восстановление ритма сердца и проводимости произошли на фоне инфузионной поддержки и инсулинотерапии. Патогенез нарушений ритма и графики QRST имел вторичный генез по отношению к нарушениям водно-электролитного обмена, поэтому восстановление синусового

### Ключевые слова:

острый коронарный синдром, инсулин, кетоацидоз, нарушения ритма, амиодарон, гиперкалиемия.

### Патология. 2021.

Т. 18, № 2(52).  
С. 243-250

ритма произошло без применения антиаритмических препаратов. Применение антиаритмических препаратов согласно протоколов лечения больных с ОКС может усугубить электролитные нарушения и способствовать возникновению фатальных аритмий в условиях дефицита инсулина и на фоне гиперкалиемии.

Приведённый пример подтверждает первоочередную необходимость диагностики жизненно опасных электролитных нарушений, а именно гиперкалиемии под маской ОКС, а также наряду с ЭКГ-признаками ОКС особое внимание следует уделять оценке анамнеза и клинических данных для правильного выбора тактики оказания неотложной помощи и лечения.

У сучасній клінічній практиці можливий розвиток клінічних станів та ЕКГ-феноменів, що під час первинної діагностики визначають як симптоми гострого коронарного синдрому (ГКС). Таких пацієнтів госпіталізують у відділення невідкладної кардіології – інтервенційної радіології. Розуміння некоронарогенних причин, що імітують прояви ГКС, дає змогу уникнути стратегічних помилок у призначенні медикаментозної терапії та розвитку життєво небезпечних ускладнень.

Наводимо рідкісний клінічний випадок, первинно діагностований як ГКС з елевацією сегмента ST, що супроводжувався порушеннями ритму, артеріальною гіпотензією, ознаками гострої серцево-судинної недостатності в пацієнта з кетоацидозом і гіперкаліємією на фоні декомпенсації цукрового діабету (ЦД) 1 типу. У роботі показані труднощі діагностики життєво небезпечних електролітних зрушень, а саме гіперкаліємії на тлі кетоацидозу, який може імітувати клінічну симптоматику ГКС. Особливу увагу слід приділити питанню щодо надання невідкладної допомоги в разі появи життєво небезпечних порушень ритму на тлі гіперкаліємії, можливості розвитку побічних ефектів під час застосування сучасних антиаритмічних препаратів III класу [1].

### Клінічний випадок

Пацієнт Т., 35 років, направлений бригадою швидкої медичної допомоги у КП «Полтавський обласний клінічний медичний кардіоваскулярний центр ПОР» із діагнозом ГКС з елевацією сегмента ST 01.01.2020 р. о 15:50. Під час огляду в приймальному відділенні хворий скаржився на виражену задишку, відчуття браку повітря у спокої, серцебиття, підвищене потовиділення, слабкість; із 31.12.2019 р. – нудоту, неодноразові блювання. Анамнестично пацієнт хворіє на ЦД 1 типу понад 10 років, отримує замісну терапію інсулінами швидкої та середньої тривалості дії під наглядом ендокринолога. З'ясовано, що стан погіршився близько 00:00 годин 01.01.2020 р. після тривалого вживання алкоголю (напередодні протягом 1–2 діб вживав алкоголь, самостійно скасував інсулін, оскільки не вживав їжу та вважав приймання непотрібним). У зв'язку з погіршенням стану близько 15 години 01.01.2020 р. викликав бригаду швидкої медичної допомоги, яка констатувала такі симптоми: артеріальну гіпотензію (артеріальний тиск нижче ніж 90/60 мм рт. ст.), тахікардію, аритмію, ознаки периферичної вазоконстрикції (блідість, пітливість, холодні на дотик кінцівки). На ЕКГ, зареєстрованій на догоспітальному етапі о 15:10: фібриляція передсердь, частота скорочень серця (ЧСС) 78–100 за 1 хв, елевація сегмента ST  $V_1 - 5$  мм,  $V_2 - V_3 - 6-7$  мм,  $V_4 - V_5 - 4-6$  мм, ознаки повної блокади правої ніжки пучка Гіса (ПБПНПГ) (рис. 1).

На підставі цих ознак припустили розвиток ГКС з елевацією сегмента ST, ускладненого пароксизмом фібриляції передсердь, ПБПНПГ, кардіогенним шоком.

Згідно з протоколами надання невідкладної допомоги при ГКС, на догоспітальному етапі хворий отримувал дофаміну гідрохлорид 40 мг в/в крапельно 10,5 мл за годину, натрію хлорид – 200 мл внутрішньовенно крапельно, еноксапарин натрію 0,8 мг підшкірно, ацетилсаліцилову кислоту – 250 мг per os, клопидогрель – 300 мг per os. Інфузію дофаміну гідрохлориду отримав під час транспортування в інтервенційне відділення КП «ПОКМЦ ПОР» (м. Полтава).

Під час первинного огляду на стаціонарному етапі загальний стан визначили як тяжкий, у свідомості, доступний для продуктивного контакту. Шкіра бліда, холодна, потовиділення підвищене; видимі слизові оболонки бліді; набряків немає. Частота дихання – 18 за хвилину,  $SpO_2 - 99\%$ , задишка змішаного характеру. Над легеньми – ясний перкуторний звук, аускультативно везикулярне дихання. Пульс на променевих артеріях не визначається. Перкуторно межі серця не змінені. Аускультативно ритм серця неправильний, 78–100 за 1 хвилину, тони ослаблені, артеріальний тиск – 90/60 мм рт. ст. на тлі інфузії допаміну, однаковий на обох руках. Не виявили патології шлунково-кишкового тракту та сечостатевої системи. Неврологічний статус – без патологічних відхилень. Результат експрес-аналізу глюкози крові глюкометром – 40 ммоль/л. На ЕКГ, яка виконана в приймальному відділенні о 15:50, визначена фібриляція передсердь із частотою серцевих скорочень 45–102 ударів за хвилину, ПБПНПГ, наростання елевації сегмента ST у відведеннях  $V_1 - V_3$ , елевація ST  $> 2$  мм  $V_{3R} - V_{5R}$ . На час надходження не було технічних можливостей виконати ехокардіоскопію з визначенням ступеня зниження серцевого індексу як критерію кардіогенного шоку. Призначили аналіз на тропонін, міокардіальну фракцію креатинфосфокинази (МВ-КФК), біохімічний та електролітний аналізи плазми крові.

Попередній діагноз: ГКС (01.01.2020 р.) з елевацією сегмента ST, ПБПНПГ; гостра лівошлункочкова недостатність: кардіогенний шок, Killip IV (01.01.2020 р.); пароксизм фібриляції передсердь, нормосистолічна форма; CHADS2-VASc – 1 бал; HAS-BLED – 1 бал; СН I; цукровий діабет 1 типу, стадія декомпенсації; кетоацидоз (?); гіперкаліємія (?); ексикоз (?).

Диференційний діагноз: гострий інфаркт міокарда правого шлуночка; серцево-судинний варіант кетоацидозу.

Робочий діагноз ГКС з елевацією сегмента ST базувався на відповідності таким критеріям: елевація сегмента ST у точці J більше ніж у двох суміжних відведеннях  $\geq 0,25$  мВ (чоловік віком до 40 років),

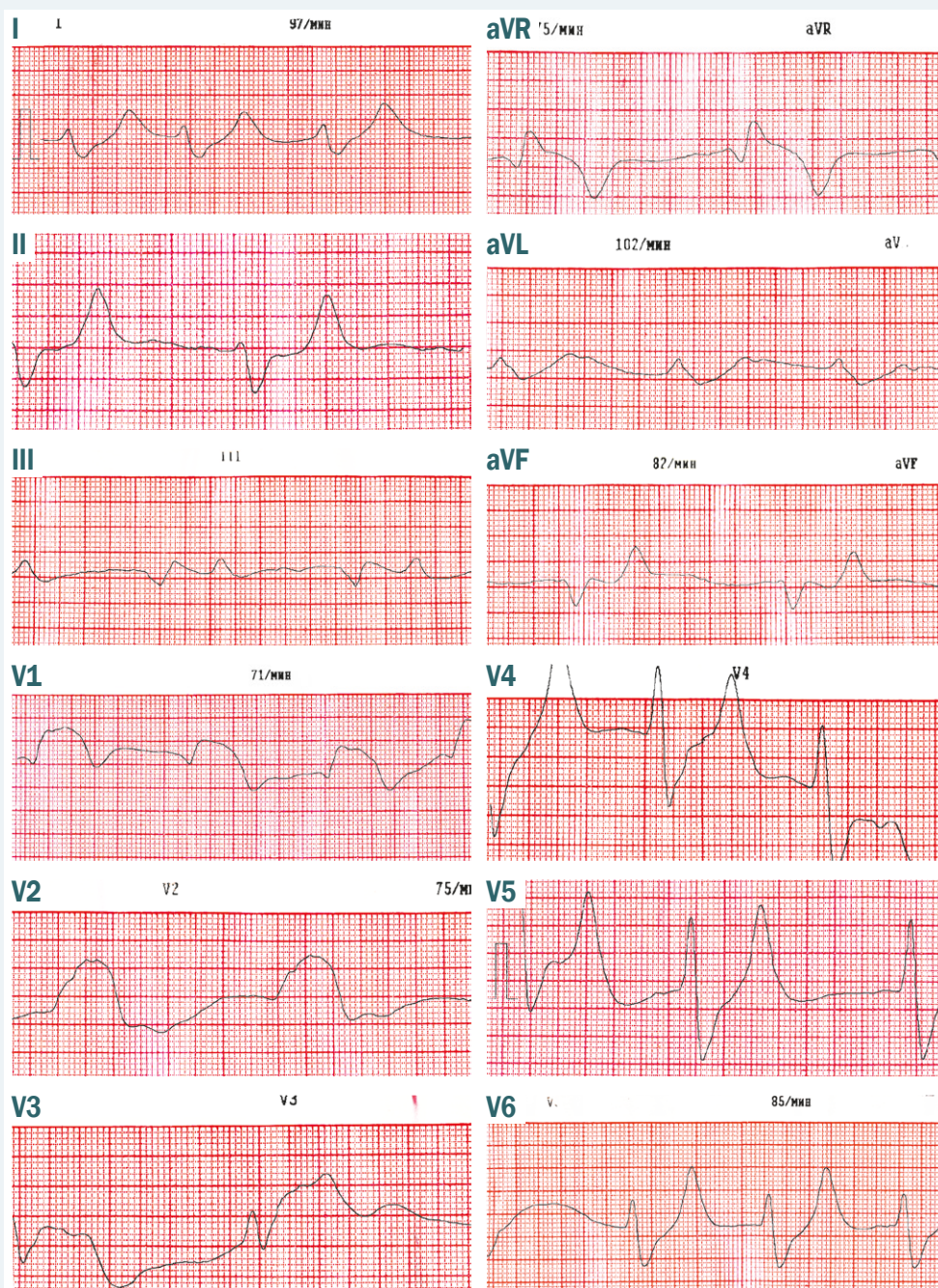


Рис. 1. ЕКГ пацієнта Т., 35 р., під час надходження у стаціонар, 01.01.2020, 15:50.

ЕКГ-ознак гострої ПБПНПГ, наявності маркерів міокардіального пошкодження та додаткових неспецифічних ознак [2,3], що потребувало продовження діагностичного пошуку інфаркту міокарда, зокрема правого шлуночка. Діагноз кардіогенного шоку зумовлював необхідність першочергової диференціальної діагностики з серцево-судинним варіантом кетоацидотичної прекоми, що характеризується проявами серцево-судинної недостатності: артеріальною гіпотензією, тахікардією, задишкою, порушеннями серцевого ритму, в тому числі фібриляцією передсердь. Аритмогенний варіант кардіогенного шоку виключили, враховуючи нормосистолічну форму фібриляції передсердь. Таке припущення підтвердилося також

доволі швидкою стабілізацією гемодинаміки під час інфузійної терапії, тому не було необхідності в електричній кардіоверсії.

Доцільною вважали діагностичну коронароангіографію в ургентному порядку. За результатами коронарографії, інтактні коронарні судини без вазоспазму (рис. 2).

Отже, надалі діагностичний пошук спрямований на підтвердження альтернативних причин тяжкості стану пацієнта: гіперглікемії, кетоацидозу, гіперкаліємії та інших можливих електролітних зрушень, проявів ексикозу – передусім для правильного вибору тактики надання невідкладної медичної допомоги та лікування.

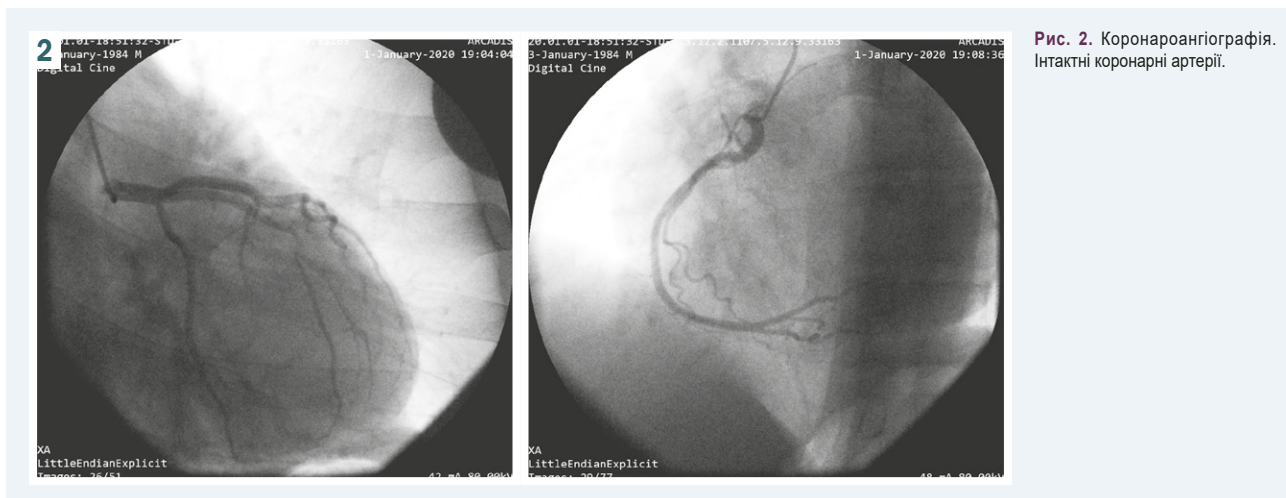


Рис. 2. Коронароангіографія. Інтактні коронарні артерії.

Рівень глікемії (на час надходження – понад 40 ммоль/л), визначений у результаті експрес-тесту, дав підстави припустити причини порушення гемодинаміки та інфарктоподібної ЕКГ: гіперглікемію, кетоацидоз, дефіцит інсуліну, який регулює роботу  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФ-ази, та, як наслідок, електролітний дисбаланс. Тяжка гіперкаліємія потребує невідкладного лікування, але визначення рівня калію в реальних практичних умовах потребує певного часу. Тому під час госпіталізації пацієнту призначили терапію, спрямовану на підтримку гемодинаміки, зважаючи на неможливість встановити діагноз без додаткових методів обстеження, корекцію вуглеводного, в умовах отримання електролітів крові – електролітного балансу.

Як невідкладну медичну допомогу призначали такі препарати: фармасулін Н 10 ОД в/в струминно та інфузійно в розчині глюкози 6 ОД на годину, надолі – 10 ОД в/в крапельно на фізіологічному розчині на годину протягом 3 годин, дофаміну гідрохлорид 40 мг в/в крапельно 10,5 мл за годину, реосорбілакт 400 мл в/в краплинно, ізотонічний розчин натрію хлориду 400 мл в/в краплинно, метоклопрамід 2 мл в/в струминно. Внаслідок лікування вже в катетерній лабораторії отримали стабілізацію гемодинаміки та о 16:40 відключили дофаміну гідрохлорид. Вазопресорна підтримка тривала майже 1 годину 10 хвилин, враховуючи інфузію на догоспітальному етапі. Артеріальний тиск – 120/90 мм рт. ст., частота серцевих скорочень – 70 за хвилину, ритм правильний. Антиаритмічні засоби не призначали [3], оскільки припустили, що зміни на ЕКГ могли бути зумовлені гіперкаліємією, а не ускладненим перебігом ГКС, що і виявили під час обстеження. Відновлення синусового ритму та регресію змін на ЕКГ спостерігали через 1 годину 20 хвилин від часу госпіталізації. На ЕКГ, що виконана після коронарографії, о 17:10 встановили: ритм синусовий, частота серцевих скорочень – 80 ударів за хвилину, відхилення електричної осі серця вліво, високі загострені Т, сегмент ST на ізолінії. Постахікардіальний синдром не спостерігали.

За даними лабораторного обстеження (01.01.2020 р.), загальний аналіз крові: еритроцити –  $4,2 \times 10^{12}/\text{л}$ , Hb – 128 г/л, швидкість осідання еритроцитів – 3 мм/год, лейкоцити –  $20,87 \times 10^9/\text{л}$ ,

паличкоядерні – 24 %, сегментоядерні – 64 %; загальний аналіз сечі: глюкоза+, білок – 0,73 г/л, кетонів тіла – 15 ммоль/л. Вміст глюкози у венозній крові (о 16.20) – 40,0 ммоль/л. Біохімічний аналіз крові: сечовина – 13,9 ммоль/л, креатинін – 310 мкмоль/л, холестерин 3,86 ммоль/л, тригліцериди – 1,9 ммоль/л, ліпопротеїди високої щільності – 1,98 ммоль/л, ліпопротеїди низької щільності – 1,0 ммоль/л, тропонін – 0,944 нг/мл, МВ КФК – 150,9 нг/мл, глюкоза – 44,1 ммоль/л, калій – 7,2 ммоль/л, натрій – 116 ммоль/л, кальцій – 1,98 ммоль/л, аланінамінотрансфераза – 42 Од/л, аспартатамінотрансфераза – 40 Од/л.

Результати лабораторного обстеження, що отримані через кілька годин після госпіталізації пацієнта, підтвердили причини ЕКГ-змін – наслідок гіперкаліємії на тлі дефіциту інсуліну та гіповолемії. Цікавим є факт підвищення МВ КФК до 150,9 нг/мл, що можна пояснити вживанням пацієнтом алкоголю впродовж останньої доби перед госпіталізацією (анамнестично) [4]. Алкогольна інтоксикація могла поглиблювати розвиток ацидозу, кетоацидозу, а отже гіперкаліємії, мала пряму кардіотоксичну дію. Все це – тригери розвитку порушення ритму в пацієнта з високою імовірністю фатальних наслідків.

Протягом 2 діб спостереження в палаті інтенсивної терапії відділення кардіології – стан із позитивною клінічною динамікою, з реверсією ознак ішемії за даними ЕКГ. Гемодинамічно пацієнт стабільний. Дані ехокардіоскопії від 02.01.2020 р.: порожнини серця не збільшені, скоротлива здатність лівого шлуночка збережена (ФВ – 58 %), імовірність легеневої гіпертензії – низька.

Отримував лікування: фармасулін Н за схемою згідно з добовою динамікою рівня глюкози крові, реосорбілакт 400 мл на добу, аспірин-кардіо 100 мг/добу, клопідогрель 75 мг/добу, еноксапарин натрію 0,4 мл підшкірно двічі на добу, натрію хлорид 0,9 % 400 мл, бісопролол 1,25 мг/добу, еналаприл 2,5 мг/добу, розувастатин 40 мг/добу, пантопразол 40 мг/добу.

Остаточний діагноз: пароксизм фібриляції передсердь, нормосистолічна форма (01.01.2020 р.) на тлі кетоацидозу, гіперкаліємії; відновлення синусового ритму (01.01.2020); КАГ (01.01.2020 р.): інтактні коро-

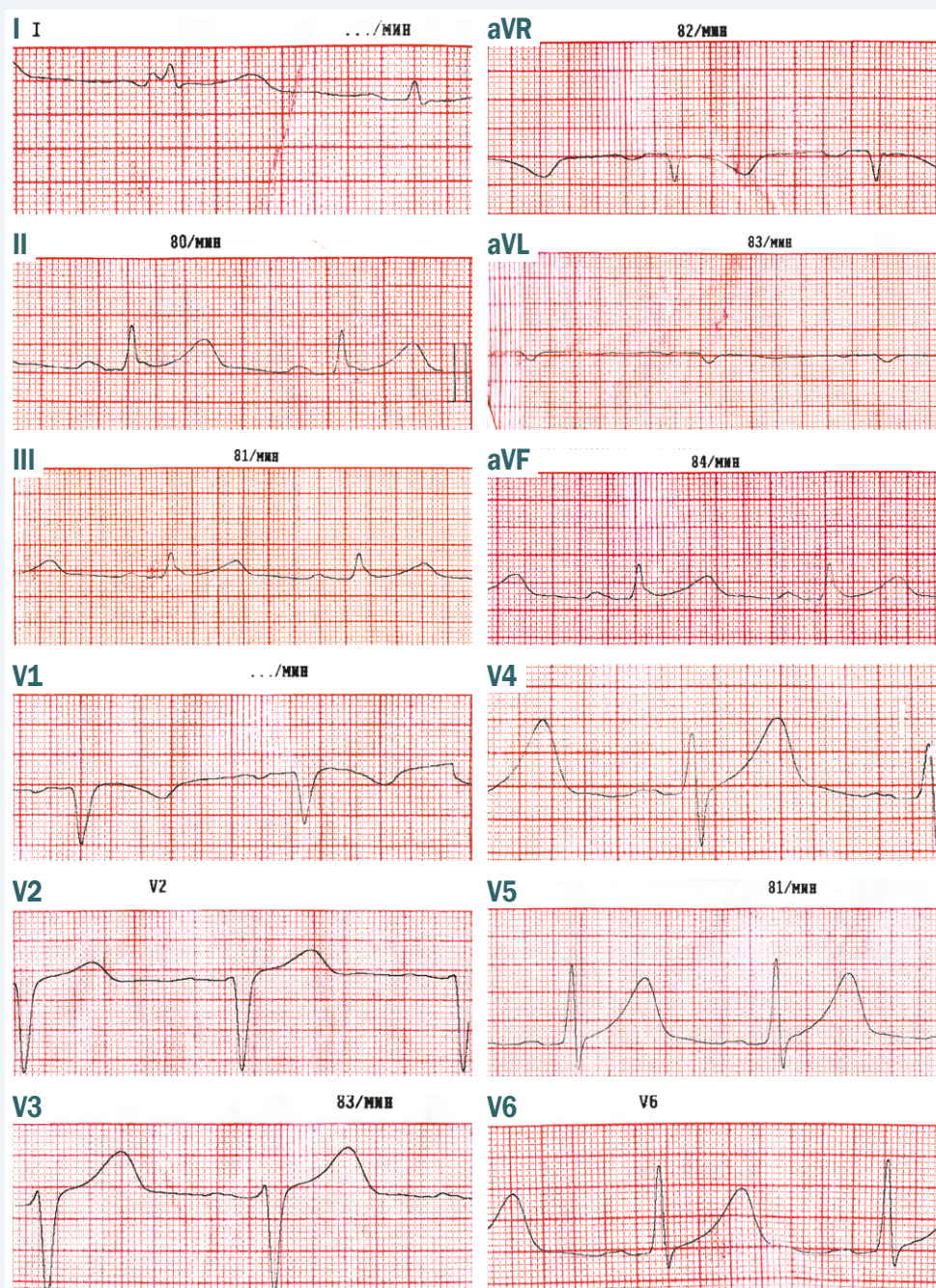


Рис. 3. ЕКГ пацієнта Т., 35 р., 03.01.2020 р., о 10:15. Ритм синусовий. Регресія патологічних змін.

нарні артерії; СН 0 зі збереженою систолічною функцією лівого шлуночка (ФВ 58 %, Ехо КС 02.01.2020 р.); цукровий діабет 1 типу, тяжка форма, у стадії декомпенсації; кетоацидоз (01.01.2020 р.); гіперкаліємія (01.01.2020 р.); ексикоз (01.01.2020 р.); артеріальна гіпотензія (01.01.2020 р.).

Оскільки діагноз ГКС не підтверджено, скасували призначення еноксапарину та клопідогрелю. На третю добу хворий переведений в ендокринологічне відділення. Під час перебування у стаціонарі після відновлення синусового ритму аритмії не реєстрували (рис. 3). Враховуючи виникнення порушення ритму на тлі зворотних станів кетоацидозу та гіперкаліємії, хворий не потребував призначення антиаритмічної

терапії. Втім такі хворі потребують нагляду сімейного лікаря для контролю серцевого ритму, що наведено в рекомендаціях [5].

### Обговорення

Своєчасне визначення рівня іонів калію у крові відіграло одну з ключових ролей в алгоритмі ведення хворого. Калій сироватки крові регулюється фізіологічно, нормальні значення становлять 3,5–5,5 ммоль/л. Згідно з настановами Європейської ради реанімації та Ниркової асоціації Великої Британії [6], гіперкаліємію класифікують за рівнем сироваткового калію ( $K^+$ ): легкого (5,5–5,9 ммоль/л), середнього (6,0–6,4 ммоль/л)



ступенів, тяжка ( $>6,5$  ммоль/л). Рівень К понад 5 ммоль/л асоціюється з підвищеною смертністю, а рівень калію у плазмі більше ніж 5,5 ммоль/л потребує термінового втручання [6,7]. Тяжка гіперкаліємія зумовлює необхідність невідкладного лікування, проте визначення рівня калію в реальних практичних умовах потребує часу.

Підвищення позаклітинної концентрації калію впливає на збудливість міокарда через зміну рівня потенціалу спокою кардіоміоцитів. Відповідно до збільшення рівня гіперкаліємії прогресують зміни на ЕКГ. Відомо, що найбільш рання ЕКГ-ознака гіперкаліємії – поява вузьких гострокінцевих хвиль Т [7–10]. Максимальні Т-хвилі зазвичай реєструють, коли калієві концентрації становлять понад 5,5 ммоль/л, найкраще візуалізуються у II, III та з  $V_2$  до  $V_4$  відведення. При збільшенні рівня калію понад 6,5 ммоль/л реєструють розширений QRS комплекс, подовжується PR-інтервал. Електрофізіологічно це позначається як затримка внутрішньошлуночкового та внутрішньопередсердного проведення. Тому комплекс QRS може набувати вигляду блокади лівої чи правої ніжки пучка Гіса, що спостерігали в клінічному випадку, що наведений. На відміну від патології в ніжках пучка Гіса, в разі гіперкаліємії затримка проведення зберігається протягом усього комплексу QRS, а не тільки на початкових чи кінцевих ділянках, як відбувається при блокаді лівої чи правої ніжки пучка Гіса відповідно. Коли рівні калію сягають 8–9 ммоль/л, активність синусового вузла здатна стимулювати шлуночки без ознак передсердної активності, що називають сино-вентрикулярною провідністю. Збудження при цьому проводиться міжвузловими шляхами, не поширюється на передсердя та не відбивається як Р хвиля на ЕКГ, що також спостерігали на кардіограмі в обстеженого хворого. ЕКГ-ознаки функції синусового вузла, коли немає передсердної активності, можуть бути подібні до шлуночкової тахікардії, враховуючи відсутність Р і розширення комплексу QRS. У разі підвищення рівня гіперкаліємії надалі синусову стимуляцію більше не спостерігають, пасивні атривентрикулярні пейсмейкери здійснюють електростимуляцію міокарда (прискорений атривентрикулярний ритм), комплекс QRS продовжує розширюватися та зливається з хвилею Т, утворюючи класичну синусоїдальну криву, можливі фібриляція шлуночків та асистолія [10].

За результатами обстеження хворого, визначили комбінацію причин – кетоацидоз, порушення внутрішньоклітинного транспорту калію на фоні метаболічного ацидозу (кетоацидоз, алкогольна інтоксикація) та ексикозу. Гіперосмолярність і дефіцит інсуліну насамперед відповідають за трансцелюлярне спрямування калію з клітин у позаклітинну рідину; змінити це можна шляхом уведення рідини та інсуліну [6,7,11–13].

Один з основних механізмів регуляції надлишку  $K^+$  – продукція інсуліну, що необхідний для роботи  $Na^+/K^+$  АТФ-ази та формування трансмембранного потенціалу спокою, дії кардіоміоцитів. Застосування антиаритмічних препаратів, передусім III класу, в умовах дефіциту інсуліну та на тлі гіперкаліємії може поглиблювати електролітні зрушення та призводити до виникнення фатальних аритмій. Так, до основних

електрофізіологічних ефектів аміодарону належить збільшення тривалості третьої фази потенціалу дії (реполяризації) та ефективного рефрактерного періоду шляхом блокади калієвих каналів. На ЕКГ це можна визначити за подовженням інтервалу QT. Аміодарон також блокує натрієві канали, що призводить до подовження фази 0 потенціалу дії та, відповідно, уповільнення провідності, розширення QRS, а також збільшення в часі фази 4 потенціалу дії, тобто ослаблення функції автоматизму. Крім того, аміодарон блокує кальцієві канали L-типу, що зумовлює його вплив на синусовий та AV-вузли. У результаті зменшується автоматизм синусового вузла й уповільнюється ритм. Отже, застосування аміодарону у хворих із гіперкаліємією погіршує трансмембранний реверс іонів, потенціює розширення QRS, подовжує реполяризацію, зменшує автоматизм синусового вузла тобто підвищує ризик розвитку фатальних аритмій та асистолії [9,10].

Мета лікування гострої гіперкаліємії – запобігання чи мінімізація електрофізіологічної дії на серце надмірних концентрацій калію та зниження ризику розвитку фатальних аритмій [6,7,9,11–13]. Пацієнти з тяжкою гіперкаліємією мають отримувати:

- кальцій (внутрішньовенно) – функціональний антагоніст калію;
- інсулін (внутрішньовенно, зазвичай разом із глюкозою) – для спрямування позаклітинного калію у клітини;
- $\beta_2$ -агоністи;
- терапію, яка сприяла б швидкому видаленню надлишку калію з організму (петльові чи тіазидні діуретики або шлуноково-кишкову катіонообмінну смолу, якщо швидкість клубочкової фільтрації становить 45 мл/хв/1,73 м<sup>2</sup>, гемодіаліз на тлі зниження клубочкової фільтрації менше ніж 15 мл/хв/1,73 м<sup>2</sup>).

Кальцій можна вводити у формі глюконату або хлориду кальцію. Але іони кальцію – один із факторів згортання крові, стимулюють утворення тромбобластину, перетворення протромбіну на тромбін, полімеризацію фібрину. В офіційній інструкції до препаратів [14,15] гіперкоагуляція, схильність до тромбоутворення та виражений атеросклероз із явищами артеріальної оклюзії наведені як протипоказання, тому препарати кальцію не можна призначати хворим із припущенням про розвиток ГКС, як у клінічному випадку, що наведений.

Інгаляційні  $\beta$ -агоністи діють впродовж 30 хвилин, сприяють перерозподілу сироваткового калію у внутрішньоклітинний простір, але не змінюють загальний рівень калію в організмі. У нашому клінічному випадку цю групу препаратів не можна було призначати як засіб невідкладної допомоги через такі побічні ефекти, як тахікардія, гіперглікемія та підвищення лактату в плазмі. За даними післяреєстраційного застосування салбутамолу та згідно з опублікованими відомостями, є рідкісні випадки виникнення ішемії міокарда, асоційованої з застосуванням салбутамолу [16]. Протипоказаний салбутамол також у разі алкогольної інтоксикації, коли є гіперкатехоламіємія. Короткочасне застосування перорального бікарбонату натрію можливе для прискорення виведення калію внаслідок його екскреції з сечею у пацієнтів із супутнім метаболічним ацидо-

зом (тільки під контролем лабораторних показників). Втрату калію нирками можна потенціювати введенням петльових діуретиків (наприклад, фуросеміду), але це протипоказано в умовах гіповолемії, як у нашому клінічному випадку. Екскрецію калію зі шлунково-кишкового тракту досягають за допомогою полістирену сульфонату натрію, який зв'язує калій у товстій кишці в обмін на натрій. Якщо лікування медикаментозними препаратами не ефективно, пацієнтів переводять на гемодіаліз або перитонеальний діаліз. У клінічному випадку, що наведений, правильна тактика, яка обрана черговим лікарем, – застосування інфузійної терапії та інсуліну, що сприяло відновленню синусового ритму, нормалізації рівня калію та глюкози в сироватці крові.

У США у 2015 р. до застосування для лікування гіперкаліємії схвалено катіонообмінну смолу полістирол сульфонат кальцію – патиромер (Veltassa, Калімейт, Kowa Company Ltd, Японія). Патиромер – сферичний неабсорбуючий органічний полімер, сформований як порошок для суспензії, який зв'язує калій у товстій кишці в обмін на кальцій; препарат не всмоктується [9,17]. Інший препарат – циклосилікат натрію цирконію (ZS-9; Lokelma), адсорбент, який не всмоктується, зв'язує іони калію. На тлі його застосування рідше розвиваються порушення з боку шлунково-кишкового тракту й електролітні порушення, але можуть виникати набряки [7].

## Висновки

1. Гіперкаліємія може ускладнювати перебіг декомпенсованого ЦД, що на ЕКГ реєструють як такі зміни: загострення зубця Т, відсутність зубця Р, розширення комплексу QRS, елевація сегмента ST при значному підвищенні  $K^+$ , синусоїдальна крива з переходом в асистолію. У клінічній практиці такі прояви гіперкаліємії можуть маскуватися під ГКС із порушенням ритму у вигляді фібриляції передсердь або шлуночкової тахікардії.

2. Своєчасна правильна діагностика декомпенсації цукрового діабету, гіповолемії та гіперкаліємії у клінічному випадку, що наведений, дала змогу обрати правильну тактику невідкладної допомоги та лікування.

3. Антиаритмічні препарати III класу не можна застосовувати в пацієнтів із гіперкаліємією, зважаючи на калій-блокувальні властивості та можливість розвитку фатальних аритмій.

4. Для ургентного зниження рівня  $K^+$  рекомендовано використання в/в інсуліну та глюкози,  $\beta_2$ -агоністів, препаратів кальцію, у деяких випадках доцільна діуретична терапія петльовими діуретиками. У клінічному випадку, який навели, засіб невідкладної допомоги – інфузія інсуліну та глюкози, що не мав протипоказань.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 19.02.2021

Після доопрацювання / Revised: 23.06.2021

Прийнято до друку / Accepted: 06.07.2021

## Відомості про авторів:

Торонченко О. М., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішньої медицини № 2 з професійними хворобами, Полтавський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4785-3863](https://orcid.org/0000-0003-4785-3863)

М'якинська Л. О., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини № 2 з професійними хворобами, Полтавський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3889-3735](https://orcid.org/0000-0002-3889-3735)

Баклицький Д. Д., лікар-кардіолог, зав. відділення інтервенційної кардіології з блоком реанімації, інтенсивної терапії та рентген-хірургічним блоком, КП «Полтавський обласний клінічний медичний кардіоваскулярний центр Полтавської обласної ради», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9576-9618](https://orcid.org/0000-0002-9576-9618)

## Information about authors:

Toronchenko O. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Internal Medicine 2 with Occupational Diseases, Poltava State Medical University, Ukraine.

Miakinkova L. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine 2 with Occupational Diseases, Poltava State Medical University, Ukraine.

Baklytskyi D. D., MD, Cardiologist, Head of the Department of Interventional Cardiology with CCRU and X-ray Surgical Unit, Municipal Enterprise "Poltava Regional Clinical Medical Cardiovascular Center of Poltava Regional Council", Ukraine.

## Сведения об авторах:

Торонченко О. Н., канд. мед. наук, асистент каф. внутренней медицины № 2 с профессиональными болезнями, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

Мякинкова Л. А., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины № 2 с профессиональными болезнями, Полтавский государственный медицинский университет, Украина.

Баклицкий Д. Д., врач-кардиолог, зав. отделением интервенционной кардиологии с блоком реанимации, интенсивной терапии и рентген-хирургическим блоком, КП «Полтавский областной клинический медицинский кардиоваскулярный центр Полтавского областного совета», Украина.

## Список литературы

- [1] М'якинська Л. О., Баклицький Д. Д. Випадок критичної гіперкаліємії під маскою гострого коронарного синдрому. *Український кардіологічний журнал*. 2020. Т. 27, дод. 2. С. 43.
- [2] Вережнікова Г. П., Куць В. О., Жарінов О. Й. ЕКГ-діагностика інфаркту міокарда в поєднанні з порушеннями внутрішньошлуночкової провідності. *Мистецтво лікування*. 2016. № 5-6. С. 23-30.
- [3] 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) / B. Ibanez, S. James, S. Agewall et al. *European heart journal*. 2018. Vol. 39, Iss. 2. P. 119-177. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx393>
- [4] Increased MB-creatinine kinase isoenzymes in an alcoholic population / R. J. Siegel, M. Kligerman, L. J. Haywood, W. E. Shell. *Journal of the National Medical Association*. 1985. Vol. 77, Iss. 6. P. 459-464.
- [5] Spontaneous sinus conversion of permanent atrial fibrillation during treatment of hyperkalemia / J. H. Yoon, D. H. Jung, S. K. Park et al. *Korean circulation journal*. 2012. Vol. 42, Iss. 1. P. 65-68. <https://doi.org/10.4070/kcj.2012.42.1.65>
- [6] Treatment of Acute Hyperkalemia in adults. Clinical Practice Guidelines / A. Alfonzo, A. Harrison, R. Baines et al. The Renal Association, July 2020. 161 p. URL : <https://ukkidney.org/sites/renal.org/files/RENAL%20ASSOCIATION%20HYPERKALAEMIA%20GUIDELINE%202020.pdf>
- [7] Дудар І. О. Гіперкаліємія в клінічній практиці. Індивідуалізація корекції гіперкаліємії: точка зору нефролога. *Здоров'я України*. 2018. № 1. С. 26-29.
- [8] Simon L. V., Hashmi M. F., Farrell M. W. Hyperkalemia. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
- [9] Hyperkalemia revisited / W. A. Parham, A. A. Mehdirad, K. M. Biermann, C. S. Fredman. *Texas Heart Institute journal*. 2006. Vol. 33, Iss. 1. P. 40-47.

- [10] Weiss, J. N., Qu, Z., & Shivkumar, K. (2017). Electrophysiology of Hypokalemia and Hyperkalemia. *Circulation. Arrhythmia and electrophysiology*, 10(3), e004667. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.116.004667>
- [11] Hollander-Rodriguez, J. C., Calvert Jr. J. F. Hyperkalemia. *American family physician*, 2006. Vol. 73, Iss. 2. P. 283-290.
- [12] Li T., Vijayan A. Insulin for the treatment of hyperkalemia: a double-edged sword?. *Clinical kidney journal*. 2014. Vol. 7, Iss. 3. P. 239-241. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfu049>
- [13] Current treatment and unmet needs of hyperkalaemia in the emergency department / Z. Rafique, T. Chouihed, A. Mebazaa, W. Frank Peacock. *European heart journal supplements*. 2019. Vol. 21, Suppl. A. P. A12-A19. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suy029>
- [14] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу кальцію хлорид – Дарніція (Calcium Chloride – Darnitsa) // Ліки Контроль. URL : [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[22848\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[22848])
- [15] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу кальцію глюконат-Дарніція (Calcium Gluconate – Darnitsa) // Ліки Контроль. URL : [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[4785\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[4785])
- [16] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Сальбутамол (Salbutamol) // Ліки Контроль. URL : [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[21726\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[21726])
- [17] Colbert G. B., Patel D., Lerma E. V. Patiromer for the treatment of hyperkalemia. *Expert review of clinical pharmacology*. 2020. Vol. 13, Iss. 6. P. 563-570. <https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1774363>

## References

- [1] Miakinkova, L. O., & Baklytskyi, D. D. (2020). Vypadok krytychnoi hiperkaliemii pid maskoiu hostroho koronarного syndromu [A case of critical hyperkalemia under the guise of acute coronary syndrome]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 27(Suppl 2), 43. [in Ukrainian].
- [2] Vieriezhnikova, H. P., Kuts, V. O., & Zharinov, O. Y. (2016). EKH-dihnostyka infarktu miokarda v poiednanni z porushenniamy vnutrish-noshlunochkovoї providnosti [ECG diagnosis of myocardial infarction in combination with disorders of intraventricular conduction]. *Mystetstvo likuvannya*, (5-6), 23-30. [in Ukrainian].
- [3] Ibanez, B., James, S., Agewall, S., Antunes, M. J., Bucciarelli-Ducci, C., Bueno, H., Caforio, A., Crea, F., Goudevenos, J. A., Halvorsen, S., Hindricks, G., Kastrati, A., Lenzen, M. J., Prescott, E., Roffi, M., Valgimigli, M., Varenhorst, C., Vranckx, P., Widimský, P., & ESC Scientific Document Group (2018). 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal*, 39(2), 119-177. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx393>
- [4] Siegel, R. J., Kligerman, M., Haywood, L. J., & Shell, W. E. (1985). Increased MB-creatinine kinase isoenzymes in an alcoholic population. *Journal of the National Medical Association*, 77(6), 459-464.
- [5] Yoon, J. H., Jung, D. H., Park, S. K., Park, J. S., Kim, J. Y., Min, P. K., Lee, B. K., Yoon, Y. W., Hong, B. K., Kwon, H. M., & Rim, S. J. (2012). Spontaneous sinus conversion of permanent atrial fibrillation during treatment of hyperkalemia. *Korean circulation journal*, 42(1), 65-68. <https://doi.org/10.4070/kcj.2012.42.1.65>
- [6] Alfonzo, A., Harrison, A., Baines, R., Chu, A., Mann, S., & MacRury, M. (July, 2020). *Treatment of Acute Hyperkalaemia in adults. Clinical Practice Guidelines*. The Renal Association. <https://ukkidney.org/sites/renal.org/files/RENAL%20ASSOCIATION%20HYPERKALAEMIA%20GUIDELINE%202020.pdf>
- [7] Dudar I. O. (2018). Hiperkaliemiia v klinichnii praktitsi. Individualizatsiia korektsii hiperkaliemii: tochka zoru nefroloha [Hyperkalemia in clinical practice. Individualization of hyperkalemia correction: the point of view of a nephrologist]. *Zdorovia Ukrainy*, (1), P. 26-29. [in Ukrainian].
- [8] Simon, L. V., Hashmi, M. F., & Farrell, M. W. (2021). Hyperkalemia. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- [9] Parham, W. A., Mehdirad, A. A., Biermann, K. M., & Fredman, C. S. (2006). Hyperkalemia revisited. *Texas Heart Institute journal*, 33(1), 40-47.
- [10] Weiss, J. N., Qu, Z., & Shivkumar, K. (2017). Electrophysiology of Hypokalemia and Hyperkalemia. *Circulation. Arrhythmia and electrophysiology*, 10(3), e004667. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.116.004667>
- [11] Hollander-Rodriguez, J. C., & Calvert, J. F., Jr (2006). Hyperkalemia. *American family physician*, 73(2), 283-290.
- [12] Li, T., & Vijayan, A. (2014). Insulin for the treatment of hyperkalemia: a double-edged sword?. *Clinical kidney journal*, 7(3), 239-241. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfu049>
- [13] Rafique, Z., Chouihed, T., Mebazaa, A., & Frank Peacock, W. (2019). Current treatment and unmet needs of hyperkalaemia in the emergency department. *European heart journal supplements : journal of*

*the European Society of Cardiology*, 21(Suppl A), A12-A19. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suy029>

- [14] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу кальсію хлорид – Дарніція (Calcium Chloride – Darnitsa) [Instructions for medical use of the drug Calcium Chloride – Darnitsa]. *Liky Kontrol*. [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[22848\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[22848])
- [15] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу кальсію гліуконат-Дарніція (Calcium Gluconate – Darnitsa) [Instructions for medical use of the drug Calcium Gluconate – Darnitsa]. *Liky Kontrol*. [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[4785\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[4785])
- [16] Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Сальбутамол (Salbutamol) [Instructions for medical use of the drug Salbutamol]. *Liky Kontrol*. [http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[21726\]](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[21726])
- [17] Colbert, G. B., Patel, D., & Lerma, E. V. (2020). Patiromer for the treatment of hyperkalemia. *Expert review of clinical pharmacology*, 13(6), 563-570. <https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1774363>