

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ШУЛЯТНІКОВА ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 616.345-006.5/006.6]-091.8-008.9-092.18

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОМОРФОЛОГІЯ І МОРФОГЕНЕЗ ПЕЧІНКОВОЇ
ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПРИ ЦИРОЗІ ПЕЧІНКИ ТА СЕПСИС-
АСОЦІЙОВАНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ БЕЗ ГНІЙНОГО УРАЖЕННЯ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ**

14.03.02 – патологічна анатомія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Т.В. Шулятнікова

Запоріжжя – 2026

АНОТАЦІЯ

Шулятнікова Т.В. Патоморфологія і морфогенез печінкової енцефалопатії при цирозі печінки та сепсис-асоційованої енцефалопатії без гнійного ураження головного мозку. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 «Патологічна анатомія» (22 «Охорона здоров'я»). – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2026.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2026.

З метою розробки концепції морфогенезу і патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії (ПЕ) при цирозі печінки (ЦП) та сепсис-асоційованої енцефалопатії (САЕ) без гнійного ураження головного мозку (ГМ) за допомогою клініко-анатомічного, патогістологічного (ПГ), гістохімічного (ГХ), імуногістохімічного (ІГХ), морфометричного (МФМ) дослідження кори і білої речовини великих півкуль (ВППГМ), гіпокампу, таламусу, смугастого тіла та мозочку померлих хворих на ПЕ при ЦП та на САЕ при абдомінальному сепсисі, а також за допомогою ПГ, ІГХ, МФМ, електронномікроскопічного (ЕМ) дослідження тих же відділів ГМ щурів з експериментальними гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю та абдомінальним сепсисом визначено основні морфологічні зміни гліонейроваскулярного комплексу (ГНВК) ГМ і клініко-лабораторні параметри хворих з ПЕ різного ступеню тяжкості та хворих з САЕ в порівнянні з померлими хворими від гострої серцево-судинної недостатності на тлі ішемічної хвороби серця, а також зміни ГНВК ГМ щурів відповідних моделей.

За результатами дослідження, визначено, що ініціюючу роль в розвитку ПЕ при ЦП відіграє депонування аміаку в ГМ, який виявляється ГХ реактивом Неслера у вигляді тканинних преципітатів. У померлих хворих з клінічно прихованою ПЕ G0 і компенсованим ЦП визначається слабо підвищена

експресія аміаку (в 1.49 рази – в корі ВПГМ, в 1.38 рази – в таламусі, в 1.32 рази – в смугастому тілі, в 1.48 рази – в мозочку; $p < 0.05$), її показники сягають максимуму при важкій G3-4 ПЕ, при якій експресія аміаку максимально підвищується в усіх 6-ти досліджених відділах ГМ: від 1.9 разів у білій речовині ВПГМ до 6.18 разів у мозочку; $p < 0.05$. Кореляційний аналіз показав, що підвищення рівня аміаку в ГМ ($p < 0.05$) асоційовано з п'ятьма взаємно пов'язаними морфогенетичними процесами, що прогресують по мірі зростання клінічних проявів ПЕ від прихованої G0 до легкої G1-2 та до важкої G3-4 ПЕ: 1) з ремоделюванням астроцитів: зростання експресії аміак-детоксикуючої глютамінсинтази (GS); зниженням експресії цитоскелетного білку GFAP; появою Альцгеймер2-астроцитозу; 2) з прогресуванням набряку ГМ: зростання ваги ГМ при важкій ПЕ; підвищення експресії білку водних каналів AQP4; розширення площі периваскулярних (ПВП) і перицелюлярних (ПЦП) просторів; 3) зі зниженням синаптичної передачі за експресією синаптофізину (Syn) і зростанням кількості Casp3⁺ апоптотичних нейронів; 4) з активацією мікроглії (зростання площі CD68⁺ позасудинних мікрогліоцитів та частки CD68⁺ амебоїдних форм); 5) з дисфункцією глімфатичної системи: зростання кількості амілоїдних тілець (АТ) у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках ГМ.

Визначено, що у померлих хворих на компенсований ЦП з клінічно прихованою G0 ПЕ та прижиттєво підвищеними рівнями загального білірубіну і АСТ визначається слабо підвищена експресія аміаку в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку; слабкий A2-астроцитоз в таламусі, смугастому тілі та мозочку; знижена експресія GFAP (до 2.19 разів) та підвищена експресія GS (до 2.36 разів) і AQP4 (до 2.62 разів); збільшені площа експресії CD68 (до 1.54 разів) та відсоток амебоїдної мікроглії (до 2.32 разів); $p < 0.05$. У померлих з легкою G1-2 ПЕ при субкомпенсованому ЦП з ознаками печінкової недостатності, ниркової дисфункції та підвищеним ШОЕ в корі ВПГМ і гіпокампі визначалася слабка, а в таламусі, смугастому тілі та мозочку – помірна експресія аміаку; помірний A2-астроцитоз в корі ВПГМ, таламусі і в

мозочку та слабкий A2-астроцитоз смугастому тілі; знижена експресія GFAP (до 5.13 разів) та підвищена експресія GS (до 3.62 разів) і AQP4 (до 3.73 разів); збільшена частка Casp3⁺-нейронів (до 2.40 разів) та знижена (до 1.36 разів) експресія Syn; збільшені експресія CD68 та відсоток амебоїдної мікроглії (до 2.22 разів і до 2.35 разів, відповідно); розширена (до 4.08 разів) площа ПВП і ПЦП та накопичення АТ; $p < 0.05$. У померлих з важкою G3-4 ПЕ при декомпенсованому ЦП та ознаками печінкової недостатності, ниркової дисфункції, лейкоцитозом, підвищеними ШОЕ та лейкоцитарним індексом інтоксикації (ЛІІ) визначається слабка (в білій речовині ВПГМ), помірна (в корі ВПГМ і гіпокампі) та сильна експресія (в таламусі, смугастому тілі та мозочку) аміаку; виразний A2-астроцитоз в таламусі, мозочку, смугастому тілі та корі ВПГМ, помірний A2-астроцитоз у білій речовині ВПГМ і слабкий A2-астроцитоз в гіпокампі; знижена експресія GFAP (до 6.74 разів) та підвищена експресія GS (до 4.35 разів) і AQP4 (до 4.34 разів); збільшений (до 4.07 разів) відсоток Casp3⁺-нейронів та знижена (до 1.93 разів) експресія Syn; помірно збільшена експресія CD68 та частка амебоїдної мікроглії; значно розширені ПВП і ПЦП в усіх відділах ГМ (до 10.11 разів) з переважанням в 4 рази більшої площі ПЦП; більша до 6 разів кількість АТ; $p < 0.05$.

Встановлено, що у померлих хворих з ПЕ G3-4 у складі синдрому синдромом гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності (ГХПечН) при декомпенсації ЦП, у яких печінкова недостатність прогресувала на тлі циркуляторної (у 90% хворих), легеневої (у 76% хворих) та ниркової (у 66% хворих) недостатності, експресія аміаку в ГМ підвищувалася до 6 разів, що було асоційовано з максимальними змінами ПГ і ІГХ параметрів. Через набряк вага ГМ була збільшена на 15.78%, визначалися наслідки порушення гемомікроциркуляції: порівняно з контролем, в корі ВПГМ частіше спостерігалися запусілі мікросудини ($\chi^2=4.21$; $p < 0.05$) з вищим у 3.99 разів відсотком запусілих судин кори ВПГМ, та більша частота мікрокрововиливів ($\chi^2=6.04$; $p < 0.05$) і фокусів енцефалолізису ($\chi^2=14.32$; $p < 0.05$).

За результатами кореляційного аналізу найбільш чутливою аміак-асоційованою зміною нервової тканини, що виявляється ще на клінічно прихованій стадії ПЕ G0 при слабкому підвищенні рівня аміаку, є A2-астроцитоз. Починаючи з легкої G1-2 ПЕ також визначено прямий зв'язок між рівнем аміаку та експресією GS, AQP4, кількістю AT, площею ПВП і ПЦП, часткою Casp3⁺-нейронів; зворотній зв'язок - між рівнем аміаку та експресією GFAP, Syn ($p < 0.05$). Прямий зв'язок між рівнем аміаку та експресією CD68 і часткою амебоїдних форм при ПЕ G1-2 змінюється на зворотній при ПЕ G3-4.

За результатами ROC-аналізу на високу ймовірність ($p < 0.05$) прижиттєвої ПЕ вказує підвищена експресія аміаку в посмертній тканині таламусу (> 34.18 УООЩ), кори ВПГМ (> 29.67 УООЩ), смугастого тіла (> 28.1 УООЩ), мозочка (> 32.65 УООЩ). Підвищений аміак в таламусі асоційований з підвищеними прижиттєвими показниками крові: загального білірубину > 39.4 мкмоль/л, АСТ > 1.25 мкмоль/(сек*л), АЛТ > 0.94 мкмоль/(сек*л), креатиніну > 144.79 мкмоль/л, а також ШОЕ > 19 мм/год та показника ЛП > 1.92 од.

При гострій ПЕ на тлі модельованої парацетамол-індукованої гострої печінкової недостатності (AILF-модель) у всіх досліджених відділах ГМ щурів визначено збільшену (до 2.99 разів) площу ПВП і ПЦП; запустіння мікросудин; набряк або ішемічне ущільнення нейронів. Виявлено підвищену експресію GS і AQP4 (до 3.52 разів – GS і до 5.05 разів – AQP4); знижену експресію GFAP (до 6.47 разів) та накопичення A2-астроцитів (AA2); $p < 0.05$. В цитоплазмі ультраструктурно збережених астроцитів ГМ щурів нелетальної підгрупи виявлявлено накопичення і переміщення в периваскулярні відростки MBT. Реактивна мікроглія була представлена амебоїдними (33%), паличковидними (10%) і гіпертрофічно-подібними (20%) формами з низькою фагоцитарною активністю та збільшенням (до 1.58 разів) частки амебоїдних форм і експресії CD68 (до 3.16 разів).

У септичних хворих САЕ без гнійних уражень ГМ розвивається та тлі токсинемії і ПОН (поєднання циркуляторної, легеневої, ниркової, печінкової та коагуляційної недостатності у 22% померлих хворих). В ГМ частіше

порівняно з контролем виявлено запусілі мікросудини ($\chi^2=18.69$; $p<0.05$) з вищим в 6.87 разів їх відсотком в корі ВПГМ та дрібновогнищеві крововиливи ($\chi^2=19.29$; $p<0.05$) і локуси енцефалолізису ($\chi^2=23.98$; $p<0.05$) в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі, мозочку. Визначено помірний набряк ГМ зі збільшеною на 10.27% вагою ГМ та неглибокою странгуляційною борозною в мозочку у 66% осіб, розширені площі ПВП і ПЦП у всіх досліджених відділах ГМ (до 10.47) та збільшений відсоток Casp3⁺-нейронів (до 4.16 разів). Зареєстровано підвищену експресію GFAP (до 2.92 разів), GS (до 2.34 разів), AQP4 (до 5 разів), CD68 (до 5.79 разів) та відсоток амебоїдних форм (до 4.74 разів), дисфункцію глімфатичної системи (зі збільшенням до 2 разів кількості АТ); $p<0.05$.

У померлих хворих з САЕ та сепсис-асоційованим пошкодженням печінки в ГМ визначено слабку або помірно підвищену експресію аміаку та A2-астроцитоз (слабкий – в білій речовині ВПГМ, гіпокампі; помірний – в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку, $p<0.05$). Рівні аміаку, A2-астроцитозу, експресії GS і AQP4 ($p<0.05$) перевищували показники померлих з САЕ без сепсис-асоційованого пошкодження печінки, у яких слабе підвищення експресії аміаку визначалося лише в таламусі, смугастому тілі та мозочку, а слабкий A2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ і в таламусі.

При САЕ в CLP-модельованому абдомінальному сепсисі в ГМ щурів визначено запусіння мікросудин з набряком або коагуляційним некрозом окремих ендотеліоцитів; ішемічне ущільнення і каріопікноз та рідше – цитолітичні зміни деяких нейронів, а також збільшена (до 2.42 разів) площа ПВП і ПЦП. В усіх досліджених відділах ГМ виявлено підвищену експресію GFAP (до 6.25 разів) і AQP4 (до 3.34 разів) та помірно підвищену експресію GS (до 1.69 разів). У щурів летальної CLP-підгрупи виявлено підвищену кількість AA2 (до 4 разів). В цитоплазмі астроцитів кори ВПГМ щурів обох CLP-підгруп визначено накопичення і перерозподіл у периваскулярні відростки MBT (до 4.5 разів у щурів нелетальної підгрупи). Реактивна мікроглія представлена амебоїдними (71.51%) і гіпертрофічно-подібними

(14.75%) формами, що контактують переважно з ішемічно-пошкодженими нейронами, а також фагоцитуючими градчастими (4.44%) клітинами; виявляється підвищені (до 1.85 разів) частка амебоїдної мікроглії та експресія CD68 (до 5.66 разів); $p < 0.05$.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі комплексу ПГ, ГХ, ІГХ і ЕМ досліджень обгрунтована концепція морфогенезу ПЕ та її прогресування, яка виникає при печінковій недостатності під впливом підвищеного рівня аміаку в тканині ГМ і проявляється структурним ремоделюванням всіх компонентів церебрального ГНБК та обумовлює клінічну маніфестацію енцефалопатії.

Вперше ГХ методом з використанням реактиву Неслера в парафінових зрізах ГМ померлих хворих з ПЕ Grade 0-4 при ЦП визначена динаміка накопичень преципітатів аміаку різної оптичної щільності, які відображають прижиттєву наявність різних рівнів аміаку в ГМ хворих при прогресуванні ПЕ.

Вперше доказано, що зростання рівня аміаку в ГМ асоційовано і статистично корелює з п'ятьма морфогенетично пов'язаними процесами: з реактивацією і дисфункцією астроглії (зростанням експресії GS; зниженням експресії GFAP; появою A2-астроцитозу); з прогресуванням набряку ГМ (підвищенням експресії AQP4, розширенням площі ПВП і ПЦП та зростанням ваги ГМ); зі зниженням синаптичної передачі і руйнуванням нейронів; з реактивацією мікроглії та з дисфункцією глімфатичної системи.

Доведено, що найбільш ранніми морфологічними змінами, що з'являються в ГМ вже на прихованій стадії ПЕ і прогресують по мірі зростання її тяжкості, є підвищення аміаку, зміна експресії астроцитарних білків GFAP, GS, AQP4 та поява A2-астроцитозу, що свідчить про ключову роль первинної аміак-асоційованої астроцитарної дистрофії і недостатності в морфогенезі ПЕ.

Вперше визначено, що при важкій G3-4 ПЕ у померлих з синдромом ГХПечН при декомпенсації ЦП визначаються максимально високі показники церебрального аміаку і асоційовані з цим ПГ, ІГХ зміни ГНБК.

Подальшого розвитку набула концепція САЕ без гнійних уражень ГМ, в морфогенезі якої провідну роль грає системне запалення, токсинемія і ПОН, які обмовлюють порушення мозкової мікроциркуляції з локусами енцефалолізису і петехіальними крововиливами, підсилений апоптоз нейронів, значну реактивність нейроглії та помірний набряк ГМ.

Вперше встановлено, що у померлих хворих з САЕ з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки в ГМ визначається слабо/помірно підвищена експресія аміаку, слабкий/помірний А2-астроцитоз, більш висока експресія GS і AQP4 та нижча експресія GFAP відносно показників хворих з САЕ без сепсис-асоційованого пошкодження печінки.

Вперше з'ясовано, що при гострій парацетамол-індукованій печінковій недостатності та при полімікробному абдомінальному сепсисі у щурів в ГМ активується астроцитарна транспортно-елімінаційна ендосомальна система шляхом накопичення MBT з їх перерозподілом у капілярні ніжки астроцитів. Вперше описана ультраструктура реактивного мікрогліозу та міжклітинної взаємодії мікроглії у щурів при експериментальній гострій ПЕ та при САЕ.

Практичне значення одержаних результатів. В результаті комплексних досліджень встановлено, що найбільш ранніми і постійними патоморфологічними ознаками ПЕ при ЦП є підвищений рівень тканинного аміаку в ГМ, А2-астроцитоз, підвищена експресія астроцитами GS і AQP4, та знижена експресія GFAP. Додатковими патоморфологічними параметрами ПЕ, які набувають суттєвої виразності при легкій ПЕ і максимально виражені при важкій ПЕ, є набряк ГМ, підвищений відсоток апоптотичних нейронів, знижена експресія Syn, збільшена площа CD68⁺ мікроглії та відсоток амебоїдної мікроглії; накопичення АТ; вогнищеві запусніння мікросудин, поодинокі діapedезні крововиливи і дрібні вогнища енцефалолізису.

Вперше визначено, що патогномонічні для ПЕ зміни ГНБК найбільш стабільно реєструються в таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі великих півкуль ГМ, які перш за все доцільно досліджувати для патологоанатомічної діагностики ПЕ. Доведено, що на високу ймовірність прижиттєвої ПЕ G1-4 у

померлих хворих з ЦП вказує підвищення аміаку в посмертній тканині кори ВПГМ (> 29.67 УООЩ), таламусу (> 34.18 УООЩ), смугастого тіла (> 28.1 УООЩ), мозочку (> 32.65 УООЩ).

Для патологоанатомічної ідентифікації клінічно прихованої G0, легкої G1-2 і важкої G3-4 ПЕ деталізовані патоморфологічні зміни структур ГНВК.

Вперше встановлено, що за відсутності в клінічному діагнозі ПЕ при патологоанатомічному розтині померлих хворих на ЦП на високу ймовірність її наявності за життя вказує підвищений рівень аміаку в таламусі, який асоційований з прижиттєво підвищеними показниками плазми крові: загальний білірубін >39.4 мкмоль/л, АСТ >1.25 мкмоль/(сек*л), АЛТ >0.94 мкмоль/(сек*л), креатинін >144.79 мкмоль/л, ШОЕ >19 мм/год та ЛП >1.92 од.

Встановлено, що в патоморфологічних проявах САЕ при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ГМ переважають ознаки порушень мозкової мікроциркуляції, петехіальні крововиливи, локуси енцефалолізису, а також набряк ГМ, збільшений відсоток апоптотичних нейронів, виразні реактивні зміни нейроглії з підвищеними експресією GFAP, GS, AQP4, CD68, відсотком амебоїдної мікроглії; помірним накопиченням АТ.

Доведено, що якщо в структурі ПОН при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ГМ фігурує сепсис-асоційована печінкова недостатність, додатковою рисою проявів САЕ є слабо/помірно підвищений рівень церебрального аміаку, слабкий/помірний А2-астроцитоз та знижена в таламусі, смугастому тілі і мозочку експресія GFAP.

Отримані нові дані для диференційної патоморфологічної діагностики САЕ та важкої G3-4 ПЕ при синдромі ГХПечН, що враховують рівні аміаку, А2-астроцитозу і АТ в ГМ; рівні ІГХ експресії GS, GFAP, Casp3, Syn та CD68; а також ознаки порушень гемомікроциркуляції.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 54 наукові роботи: 23 основні статті (12 – у вітчизняних фахових журналах категорії «А», що індексуються Scopus і Web of Science Q4; 5 – в іноземних виданнях Scopus і Web of Science Q1- Q2; 4 – у вітчизняних фахових журналах категорії «Б»; 2 –

в іноземних виданнях) та 31 теза у матеріалах українських та міжнародних наукових конференцій. Обсяг статей є достатнім для презентації результатів дисертаційного дослідження.

Ключові слова: головний мозок, цирроз печінки, печінкова енцефалопатія, абдомінальний сепсис, сепсис-асоційована енцефалопатія, морфогенез, гістохімічне дослідження, імуногістохімічне дослідження, електронна мікроскопія, аміак, астроцити Альцгеймера 2 типу, набряк, нейроглія, нейрони, патологоанатомічна діагностика.

ANNOTATION

Shuliatnikova T.V. Pathomorphology and morphogenesis of hepatic encephalopathy in liver cirrhosis and sepsis-associated encephalopathy without purulent damage to the brain. – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a scientific degree of Doctor of Medical Sciences in specialty 14.03.02 «Pathological Anatomy» (22 «Health Care») – Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

Aimed to development the concept of morphogenesis and pathoanatomical diagnosis of hepatic encephalopathy (HE) in liver cirrhosis (LC) and sepsis-associated encephalopathy without purulent lesions to the brain (SAE) using clinical-anatomical, pathohistological (PH), histochemical (HC), immunohistochemical (IHC), morphometric (MFM) study of the cortex, white matter (WM), hippocampus, thalamus, striatum and cerebellum of deceased patients with HE in LC and SAE in abdominal sepsis, as well as using PH, IHC, MFM, electron microscopic (EM) study of the same brain regions of rats with experimental acute paracetamol-induced liver failure and abdominal sepsis it was revealed the main morphological changes in neurogliovascular unit (NGVU) and clinical-

laboratory parameters of patients with HE of varying degree and patients with SAE in comparison with parameters of patients died from acute heart failure in ischemic heart disease, as well as changes in NGVU of rats in corresponding models.

It was revealed that brain ammonia deposits, which can be determined HC by the Nesler reagent as tissue precipitates plays an integral role in the development of HE. In deceased patients with clinically covert HE G0 and compensated LC, ammonia expression is weakly increased (1.49 times in the cortex, 1.38 times in thalamus, 1.32 times in striatum, 1.48 times in cerebellum; $p < 0.05$), these indicators reach a maximum at severe HE G3-4 in all 6 studied of brain regions: from 1.9 times in WM up to 6.18 times in cerebellum; $p < 0.05$. Correlation analysis proved ($p < 0.05$) association of increased ammonia with 5 mutually related morphogenetic processes, which progress according to impairment of HE manifestations from G0 to mild G1-2 and to severe G3-4: 1) astrocytes remodeling: hyperexpression of ammonia-detoxication glutamine synthase (GS); dropped expression of the cytoskeletal GFAP; appearance of Alzheimer2-astrocytosis; 2) progressive brain edema: growth of brain weight in severe HE; hyperexpression of water channel AQP4; expanded area of the perivascular (PVS) and pericellular (PCS) spaces; 3) impaired synaptic transmission due decreased expression of synaptophysin (Syn) and increased numbers of Casp3⁺ apoptotic neurons; 4) microglia reactivation (expanded area of extravascular CD68⁺ microgliocytes and increased numbers of CD68⁺ amoeboid cells); 5) dysfunction of the glymphatic system (increased density of corpora amylacea (CA) in perivascular, subventricular and subpial brain regions).

In deceased patients with compensated LC and covert HE G0, accompanied by increased levels of bilirubin and AST, there is a weakly increased ammonia level in the cortex, thalamus, striatum and cerebellum; weak A2-astrocytosis in the thalamus, striatum and cerebellum; GFAP expression was reduced (up to 2.19 times), expression of GS and AQP4 is increased (up to 2.36 times and 2.62 times, respectively); increased area of CD68⁺ IPM (up to 1.54 times) and content of amoeboid microglia (up to 2.32 times); $p < 0.05$. In deceased patients with overt HE G1-2 and subcompensated LC with signs of hepatic failure, kidney dysfunction and

increased ESR in the cortex and hippocampus was found weak, and in the thalamus, striatum and cerebellum - moderate ammonia expression; moderate A2-astrocytosis in the cortex, thalamus and cerebellum and weak A2-astrocytosis in the striatum; the reduced expression of GFAP (up to 5.13 times) and hyperexpression of GS and AQP4 (up to 3.62 and 3.73 times, respectively); increased proportion of Casp3⁺ neurons (up to 2.40 times) and decreased expression of Syn (up to 1.36 times); increased expression of CD68 and numbers of amoeboid microglia (up to 2.22 and 2.35 times, respectively); expanded area of PVS and PCS and increased CA numbers (up to 4.08 times); $p < 0.05$. In deceased patients with overt HE G3-4 in decompensated LC and signs of liver failure, kidney dysfunction, leukocytosis, increased ESR and leukocyte index of intoxication (LII) was detected weak (in the WM), moderate (in the cortex and hippocampus) and strong (in thalamus, striatum and cerebellum) ammonia expression; severe A2-astrocytosis in thalamus, cerebellum, striatum and cortex, moderate A2-astrocytosis in the WM and weak A2-astrocytosis in the hippocampus; reduced expression of GFAP (up to 6.74 times) and hyperexpression of GS and AQP4 (up to 4.35 and 4.34 times, respectively); increased (up to 4.07 times) numbers of Casp3⁺ neurons and decreased (up to 1.93 times) expression of Syn; slightly increased expression of CD68 and numbers of amoeboid microglia; significant expansion of PVS and PCS in all brain regions (up to 10.11 times) with a 4 times larger PCS area; up to 6 times more CA; $p < 0.05$.

It has been established that the deceased patients with HE G3-4 in the syndrome of acute-on-chronic liver failure (ACLF) of LC decompensation, in which liver failure progressed with circulatory (in 90% of patients), respiratory (in 76% of patients) and kidney (in 66% of patients) deficiency, the ammonia expression increased up to 6 times, and was associated with maximal changes in PH and IHC parameters. Brain weight was increased by 15.78%, there were signs of impaired microcirculation: in respect to control, in cortex more often were found empty microvessels ($\chi^2 = 4.21$; $p < 0.05$) with increased their numbers in the cortex in 3.99 times, and higher frequency of microhemorrhages ($\chi^2 = 6.04$; $p < 0.05$) and foci of encephalolysis ($\chi^2 = 14.32$; $p < 0.05$).

Correlation analysis revealed that the most sensitive ammonia-associated change of the nerve tissue, which is detected at the covert HE G0 with a weakly increased ammonia level, was A2-astrocytosis. Starting with mild HE G1-2 also, a direct relationship was found between ammonia level and the expression of GS, AQP4, CA numbers, PVS and PCS area, and the frequency of Casp3⁺ neurons; inverse - between ammonia level and expression of GFAP, Syn ($p < 0.05$). Direct connection between ammonia level and expression of CD68 and amoeboid forms in HE G1-2 is replaced by a inverse one in HE G3-4.

ROC analysis showed that increased ammonia level in post-mortem tissue of the thalamus (>34.18 CUOD), cortex (>29.67 CUOD), striatum (>28.1 CUOD), cerebellum (>32.65 CUOD) indicate a high prevalence ($p < 0.05$) of during-life HE. Increased thalamic ammonia associates with increased during-life blood levels: bilirubin >39.4 $\mu\text{mol/l}$, AST >1.25 $\mu\text{mol}/(\text{sec} \cdot \text{l})$, ALT >0.94 $\mu\text{mol}/(\text{sec} \cdot \text{l})$, creatinine >144.79 $\mu\text{mol/l}$, as well as ESR >19 mm/h and LII >1.92 un.

In case of acute HE in modeled acetaminophen-induced liver failure (AILF), all studied brain regions showed an increased (up to 2.99 times) area of PVS and PCS; microvessels desolation; swelling or ischemic shrinkage of neurons. It was revealed hyperexpression of GS and AQP4 (up to 3.52 and 5.05 times respectively); decreased expression of GFAP (up to 6.47 times) and accumulation of A2-astrocytes (AA2); $p < 0.05$. The cytoplasm of ultrastructurally preserved cortical astrocytes of survived rats was characterized by accumulation and redistribution of MVBs into perivascular endfeet. Reactive microglia were represented by amoeboid (33%), rod-shaped (10%) and hypertrophic-like (20%) forms with low phagocytic activity and increased (up to 1.58 times) portions of amoeboid forms and CD68 expression (up to 3.16 times).

In septic patients, SAE without purulent lesions to the brain develops both upon toxinemia and MODS (conjoined circulatory, respiratory, kidney, liver and coagulation insufficiency in 22% of patients). In the brain more often compared to control were found empty microvessels ($\chi^2 = 18.69$; $p < 0.05$) with 6.87 times more their numbers in the cortex ($\chi^2 = 19.29$; $p < 0.05$) and foci of encephalolysis (χ^2

=23.98; $p < 0.05$) in the cortex and WM, hippocampus, and cerebellum. The brain was slightly swelled with increased weight by 10.27% and weakly expressed strangulation groove in cerebellum in 66% of cases, as well as extending PVS and PCS in all follow-up brain regions (up to 10.47) and increased numbers of Casp3⁺ neurons (up to 4.16 times). Hyperexpression of GFAP (up to 2.92 times), GS (up to 2.34 times), AQP4 (up to 5 times), CD68 (up to 5.79 times) and numbers of amoebic forms (up to 4.74 times), dysfunction of glymphatic system (with increased up to 2 times CA density) was detected; $p < 0.05$.

In deceased patients with SAE and sepsis-associated liver injury (SALI), a weak or moderately increased ammonia level and A2-astrocytosis was detected (weak – in the WM, hippocampus; moderate – in the cortex, thalamus, striatum, cerebellum, $p < 0.05$). Levels of ammonia, A2-astrocytosis, expression of GS and AQP4 were higher than in those who suffered SAE without SALI ($p < 0.05$); in the latter, weakly increased ammonia was indicated mainly in thalamus, striatum and cerebellum, and weak A2-astrocytosis was indicated only in the cortex and thalamus.

In SAE brain of rats in CLP-modeled abdominal sepsis there were indicated the desolation of microvessels with swelling or coagulative necrosis of individual endotheliocytes; ischemic shrinkage and karyopiknosis or cytolysis of separate neurons, as well as an increase (up to 2.42 times) of PVS and PCS. Increased expression of GFAP (up to 6.25 times), AQP4 (up to 3.34 times) and GS (up to 1.69 times) was observed in all studied brain regions. In non-survived subgroup, numbers of AA2 were increased up to 4 times. In the cytoplasm of the cortical astrocytes of both CLP subgroups, accumulation and redistribution to the perivascular endfeet of MVB was detected (up to 4.5 times in the non-lethal subgroup). Reactive microglia were represented by amoeboid (71.51%) and hypertrophic-like (14.75%) forms, which were found in contact with ischemic neurons, as well as phagocytic gutter cells (4.44%); IHC confirmed increased up to 1.85 times numbers of amoeboid microglia and CD68 expression (up to 5.66 times); $p < 0.05$.

Scientific novelty of the obtained results. Based on the complex PH, HC, IHC and EM study, the concept of HE morphogenesis and progression was

developed. It was found that HE occurs in liver failure under the influx of excess ammonia to the brain tissue. HE morphologically manifests in structural remodeling of all components of the cerebral NGVU, which underlines its clinical manifestation.

For the first time, by processing of paraffin brain sections by the Nesler's reagent it was shown the dynamics of ammonia precipitate accumulations with different optical density, which reflected the persistent presence of different ammonia levels in the brain with progression of HE G0-4 in LC.

It was first proven that the increasing of brain ammonia level is associated and correlates with 5 morphogenetically conjoined processes: with reactivation and dysfunction of astroglia (increased GS expression; decreased GFAP expression; appearance of A2-astrocytosis); with progressive brain swelling (hyperexpression of AQP4, expanded PVS and PCS and increased brain weight); decreased synaptic transmission and destruction of neurons; with reactivation microglia and dysfunction of the glymphatics.

It has been proven that the most early morphological changes appear in the brain already at HE G0 and progress with increase in severity of clinical manifestations, i.e. increased ammonia level, change in the expression of astrocytic proteins GFAP, GS, AQP4 and the appearance of A2-astrocytosis, which indicates the key role of primary ammonia-associated astrocytic dystrophy and deficiency in morphogenesis HE.

It was first established for the first time that HE G3-4 as a component of ACLF-syndrome in decompensated LC, the highest levels of cerebral ammonia are observed and are associated with maximal PH, IHC changes of NGVU.

The concept of SAE without purulent lesions of the brain was further developed. It was proven that its morphogenesis is determined by leading role of systemic inflammation, toxinemia and MODS, which are associated with impairment of cerebral microcirculation, formation of loci encephalolysis and petechial hemorrhages, increased neuronal apoptosis, expressed reactivity of neuroglia and mild brain edema.

It was first established that in deceased patients with SAE and SALI in the brain there is a weakly/moderately increased ammonia level, weak/moderated A2-astrocytosis, higher expression of GS and AQP4 and lower expression of GFAP compared to cases of SAE without SALI.

It was first shown clearly that in AILF and CLP models, there is activation of the transport-elimination endosomal system in cortical astrocytes with accumulation and redistribution of MBTs to the capillary endfeet. The ultrastructure of reactive microgliosis and intercellular communication of microglia in rat HE and SAE were described for the first time.

The practical significance of the achieved results. Complex study revealed, that the earliest and most persistent pathomorphological signs of HE in LC are increased brain tissue ammonia, A2-astrocytosis, hyperexpression of GS and AQP4, and reduced expression of GFAP. Additional morphological parameters, which appear in HE G1-2 and maximally expressed in HE G3-4, include brain edema, increased numbers of apoptotic neurons, decreased expression of Syn, increased area of CD68 microglia expression and numbers of amoeboid cells; CA accumulation; empty microvessels, microhemorrhages and small foci of encephalolysis.

It was first established that the pathognomonic for HE changes of the GNVU are most stably recorded in the thalamus, striatum, cerebellum and hemispheric cortex, which is the first of all to be thoroughly monitored for pathological diagnosis of HE. It has been shown that increased ammonia in the postmortem tissue of the hemispheric cortex (> 29.67 CUOD), thalamus (> 34.18 CUOD), striatum (> 28.1 CUOD), cerebellum (> 32.65 CUOD) highly reliably indicate for during life HE G1-4 in patients with LC.

For pathoanatomical identification of covert G0, mild G1-2 and severe G3-4 HE pathomorphological changes of the NGVU was firstly detailed.

It was evidenced that, if there is no HE in clinical diagnosis, during pathoanatomical analysis of clinical data it should pay attention on next laboratory parameters, which are associated with increased ammonia in thalamus of deceased

patients: bilirubin $>39.4 \mu\text{mol/l}$, AST $>1.25 \mu\text{mol}/(\text{sec} \cdot \text{l})$, ALT $>0.94 \mu\text{mol}/(\text{sec} \cdot \text{l})$, creatinine $>144.79 \mu\text{mol/l}$, ESR $>19 \text{ mm/h}$ and LII $>1.92 \text{ un}$.

It has been established that in pathological manifestations of SAE without purulent lesions of the brain, impairment of cerebral microcirculation prevail which is associated with petechial hemorrhages, foci of encephalolysis, as well as brain edema, enhanced neuronal apoptosis with reactive neuroglia reflected in hyperexpression of GFAP, GS, AQP4, CD68, increased numbers of amoeboid microglia; slight accumulations of CA.

It has been proven that if SAE is accompanied by SALI, it has additional manifestations expressed by weak/moderate increased cerebral ammonia, weak/moderate A2-astrocytosis and decreased GFAP expression in the thalamus, striatum and cerebellum.

New data were specified for differential pathomorphological diagnosis of SAE and severe HE G3-4 in ACLF syndrome of decompensated LC, which includes ammonia level, A2-astrocytosis, CA numbers; IHC expression levels of GS, GFAP, Casp3, Syn and CD68; as well as microcirculation disorders.

Publications. 54 papers were published based on the research results: 23 main articles (12 – in Ukrainian specialized journals of category «A», Scopus Q4 & WoS; 5 – in foreign journals Scopus Q1-Q2 & WoS; 4 – in Ukrainian specialized journals of category «B»; 2 – in foreign journals without indexation in Scopus & WoS) and 31 abstracts of Ukrainian and international scientific meetings.

Keywords: *brain, cirrhosis, hepatic encephalopathy, abdominal sepsis, sepsis-associated encephalopathy, morphogenesis, histochemical study, immunohistochemical study, electron microscopy, ammonia, Alzheimer's type 2 astrocytes, edema, neuroglia, neurons, pathological diagnosis.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Shulyatnikova T.V., Shavrin V.A. (2017). Modern view on hepatic encephalopathy: basic terms and concepts of pathogenesis. *Pathologia*, 14(3), 371-380. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.3.118773> (WoS, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. аналіз літератури, написання тексту; Шаврін В.О. регагування, затвердження).
2. Shulyatnikova T.V., Shavrin V.A. (2018). Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of medicine*, 3(7), 158-165. <https://art-of-medicine.ifnmu.edu.ua/index.php/aom/article/view/144> (кат.Б) (Шулятнікова Т.В. аналіз літератури, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).
3. Shulyatnikova, T., & Verkh ratsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical research*, 45(1), 83–99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2> (WoS, Scopus, Q1) (Шулятнікова Т.В. концептуалізація, аналіз літератури, написання тексту; Верхратський О.Н. редагування, затвердження).
4. Шулятнікова Т.В., Шаврін В.А. (2020). Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной энцефалопатии. *Патологія*. 17(1), 60-67. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203742> (WoS, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. аналіз, редагування, затвердження).
5. Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174> (WoS, Scopus, Q2) (Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

6. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.O. (2021). Regional-specific activation of phagocytosis in the rat brain in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. *Zaporozhye medical journal*, 23(1), 111-119. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224921> (WoS, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне, імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).
7. Shulyatnikova, T.V. (2021). Immunohistochemical analysis of microglial changes in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Pathologia*, 18(1), 33-38. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.1.227642> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А)
8. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of GFAP expression in the experimental sepsis-associated encephalopathy *Pathologia*. 18(3), 295-302. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.240033> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
9. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2021). Glutamine synthetase expression in the brain during experimental acute liver failure (immunohistochemical study). *Journal of Education, Health and Sport*. 11(10), 342-356. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.033> (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
10. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of the glial fibrillary acidic protein expression in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Morphologia*. 15(4), 96-105. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.96-105> (доступ: <https://drive.google.com/file/d/1RtBOor4V-aXJU8yHqaJBqfi3QEрK4kxD/view>) (Кат.Б) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

11. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain aquaporin-4 in the rat acute liver failure model. *Art of Medicine*, 1(21), 103-108. <https://doi.org/10.21802/artm.2022.1.21.103> **(Кат.Б)** (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
12. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskyi, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain glutamine synthetase expression in the rat septic model. *Pathologia*. 19(1), 47-52. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.251248> **(WoS, Scopus, Q4, Кат.А)** (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
13. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Brain aquaporin-4 expression in the rat septic model (immunohistochemical study). *Medicni Perspektivi*. 27 (3), 39-43. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265827> **(WoS, Scopus, Q4, Кат.А)** (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
14. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*. Т.24. №5(134). С.529-537. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.5.261327> **(WoS, Q4, Кат.А)**. (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).
15. Shulyatnikova, T., Tumanskyi, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microgliosis in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms232214455> **(WoS, Scopus, Q1)** (Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження; Мелвін Хайден аналіз, редакція, затвердження).

16. Erickson, M. A., Shulyatnikova, T., Banks, W. A., & Hayden, M. R. (2023). Ultrastructural Remodeling of the Blood-Brain Barrier and Neurovascular Unit by Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1640. <https://doi.org/10.3390/ijms24021640> (**WoS, Scopus, Q1**) (Шулятнікова Т.В. аналіз результатів, написання тексту, редагування; Мішель Еріксон електронномікроскопічне дослідження; Уільям Бенкс редагування, затвердження; Мелвін Хайден написання тексту, редагування, затвердження).
17. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*. 20(1), 36-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.1.276453> (**WoS, Scopus, Q4, Кат.А**) (Шулятнікова Т.В. гістохімічне, дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).
18. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sport*. 13(4), 339-355. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.04.041> (Шулятнікова Т.В. гістохімічне, статистичне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).
19. Shulyatnikova, T., & Hayden, M. R. (2023). Why Are Perivascular Spaces Important?. *Medicina* (Kaunas, Lithuania), 59(5), 917. <https://doi.org/10.3390/medicina59050917> (**WoS, Scopus, Q2**) (Шулятнікова Т.В. написання тексту; Мелвін Хайден написання тексту, затвердження).
20. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Immunohistochemical expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver injury. *Art of Medicine*, 2(26), 138-145. <http://dx.doi.org/10.21802/artm.2023.2.26.138> (**кат. Б**) (Шулятнікова Т.В.

імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

21. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Nestin, CD44, Ki-67, GS and AQP4 expression in the brain neurogenic niches of deceased patients with liver cirrhosis of different degree. *Pathologia*. 20(2), 108-117. <http://dx.doi.org/10.14739/2310-1237.2023.2.286125> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А)

(Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

22. Shulyatnikova, T.V., Tumanskiy, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Medicni perspektivi*. 2024;29(2):62-71. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307482> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А)

(Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. редагування, затвердження).

23. Shulyatnikova, T.V. & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical technology*. 2024;16(2):77-85. <https://doi.org/10.14739/mmt.2024.2.305087> (Scopus, Q4, Кат.А)

(Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманська Л.М. редагування, затвердження).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

24. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2017). Pathomorphological features of perifocal critical zones of brain infarction (penumbra) in the conditions of chronic hepatic encephalopathy. Materials of International research and practice conference «Innovative technology in medicine: Experience of Poland and Ukraine», Lublin, Republic of Poland, 28–29.04.2017, p. 104-107. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

25. Shuliatnikova, T. (2019). Increased density and redistribution of multivesicular bodies into perivascular astrocytic endfeet in sepsis-associated encephalopathy. Abstracts (Wiley E-Only Supplement to *Glia*, SCOPUS (Elsevier Journal)), Materials of poster session, *XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease*, Porto, Portugal, 10-13.07.2019, *Glia*, 67 (S1), E527.
26. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2019). Intensification of astroglial endosomal machinery work in sepsis-associated encephalopathy. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «*Теорія та практика сучасної морфології*», 9-11.10.2019, Дніпро, с.152. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).
27. Shulyatnikova, T.V. (2020). The specificity of CD68 expression in different brain regions in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «*Теорія та практика сучасної морфології*», 4-6.11.2020, Дніпро, с. 127-128.
28. Shulyatnikova, T.V. (2020). The ultrastructural features of cortical phagocytic microglia in the conditions of experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «*Медична наука у практику охорони здоров'я*», 27.11.20, Полтава, с. 30.
29. Shuliatnikova, T. (2021). Comparative analysis of brain cd68 expression in the experimental acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of the 8th International scientific and practical conference “*Fundamental and applied research in the modern world*” 17.03.2021, BioScience Publisher, Boston, USA, p.222-224.
30. Shuliatnikova, T. (2021). Phagocytosis activation in the rat brain in the conditions of acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of I International scientific and practical conference «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*», 19.03.2021, Cambridge, UK, p.12-13.
31. Shulyatnikova, T.V. (2021). Microglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. Матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції «*Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення*

та перспективи розвитку» 22-23.04.2021, Kyiv, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 2 (123), p.44.

32. Shulyatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Materialien der I internationalen wissenschaftlich-praktischen Konferenz “Grundlagen der modernen wissenschaftlichen Forschung” der Sammlung wissenschaftlicher Arbeiten «ΛΟΓΟΣ» zu den, Zürich, 10.09.2021. Zürich: BOLESWA Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform, p. 228-229.

33. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Regional heterogeneity of GFAP expression in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. Матеріали П’ятої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 20-22.11.2021, Дніпро, с. 163. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

34. Shulyatnikova, T.V. (2021). Region-dependent heterogeneity in GFAP expression in acute hepatic encephalopathy. *Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives*: collection of scientific papers with Proceedings of the II International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 2), 1.10.2021. Vilnius, Republic of Lithuania, с. 56-57.

35. Shulyatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*: collection de papiers scientifiques avec des matériaux de la II conférence scientifique et pratique internationale (Vol. 2), Paris, 1.10.2021. Paris: La Fedeltà & Plateforme scientifique européenne, p. 41-42.

36. Shulyatnikova, T.V. (2022). Brain glutamine synthetase alterations during experimental acute liver failure. Матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022», 17.05.2022, Запоріжжя, с. 60-61.

37. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain AQP4 during experimental acute liver failure. Proceedings of the III International Scientific and Practical

Conference «*Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences*» (Vol. 16), Vienna, Austria, 17.06.2022, p. 559-561.

(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

38. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Immunohistochemical study of GFAP, GS and AQP4 levels in the postmortem brain of cirrhotic patients. Proceed. of the XXVII Internat. Scientific and Practical Conference «*Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice*», 12-15.07.2022. Prague, Czech Republic, p. 199-200. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

39. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Alterations of the brain glial fibrillary acidic protein during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*», 11.11.2022, Paris, France, p. 140-141. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

40. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Expression of the water channel protein aquaporin-4 in the brain during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Science of post-industrial society: globalization and transformation processes*», 25.11.2022, Vienna Austria, p.287-288. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

41. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain glutamine synthetase expression during human liver cirrhosis. Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference «*Technologies and strategies for the implementation of scientific achievements*», 18.11.2022, Stockholm, Sweden, p.187-188. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

42. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2023). Brain tissue ammonia and alzheimer type 2 astrocytosis in human liver cirrhosis. Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference «*Theory and practice of modern science*», 12.05.2023, Kraków, Republic of Poland, p. 161-162. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).
43. Shulyatnikova, T.V. (2023). Expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver injury. Матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «*Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2023*», 25-26.05.2023, Запоріжжя, с. 71. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).
44. Шулятнікова, Т.В., Туманський, В.О., & Туманська, Л.М. (2023). Патологоанатомічна діагностика печінкової енцефалопатії при цирозі печінки за змінами астроглії та рівнем аміаку в головному мозку. Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «*Актуальні проблеми патологічної анатомії*», 05-06.10.2023 р., Київ, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 4 (143) 2023, с. 32-33. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
45. Shulyatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Neuronal caspase-3 expression in the brain of deceased patients with sepsis-associated encephalopathy. *Current scientific goals, approaches and challenges: collection of scientific papers with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference*, 22.03.2024, Riga, Republic of Latvia, p. 95-96. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

46. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Brain tissue ammonia in human sepsis-associated encephalopathy. *Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference, 29.03.2024, Cambridge, USA, p. 493-495. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
47. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of microglial CD68 in human sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Modernization of today's science: experience and trends*: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, 29.03.2024, Singapore, Republic of Singapore, p. 60-61. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
48. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Regional alteration of astroglial GFAP in the brain of septic patients with sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Scientific forum: theory and practice of research*: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, 5.04.2024, Valencia, Kingdom of Spain, p. 52-53. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
49. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alzheimer type 2 astrocytosis in human sepsis-associated encephalopathy. Proceedings of the II Correspondence International Scientific and Practical Conference «Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development», Vol. 38, 12.04.2024, Vienna, Austria, p. 410-411. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

50. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Enlarged perivascular and extraperivascular (pericellular and neuropil) edematous spaces in the brain tissue during human sepsis-associated encephalopathy. Proceedings of the VI International Scientific and Theoretical Conference «*Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation*», 26.04.2024, Pisa, Italian Republic, p. 157-158. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
51. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of AQP4 expression in the brain of deceased septic patients with sepsis-associated encephalopathy. *Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche*: Raccolta di articoli scientifici con gli atti della V Conferenza scientifica e pratica internazionale, 26.04.2024, Bologna, Italian Republic, p. 393-395. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
52. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Prognostic value of thalamic ammonia level in postmortem brain of patients with liver cirrhosis for the presence of intravitaly overt hepatic encephalopathy. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*», 23.05.2025, Vienna, Austria, p. 1072-1074. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
53. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive value of the cerebellar ammonia level in the deceased cirrhotic patients for probability of intravital hepatic encephalopathy. Матеріали XX Міжнародна науково-практична конференція «*Innovative scientific research: latest theories, modern methods and practices*», 20-23.05.2025, Seville, Spain, p. 283-284. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів,

написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

54. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive capacity of the ammonia level in the postmortem brain cortical tissue for intravital hepatic encephalopathy type C. Materials of the I-st International Scientific and Theoretical Conference «*Modern science and innovation: trends, challenges, and breakthroughs*», 3.05.2025, NY, USA, p. 351-352. *(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ	32
ВСТУП	35
РОЗДІЛ 1 Патогенез і клініко-патоморфологічна характеристика печінкової і сепсис-асоційованої енцефалопатії (огляд літератури)	46
РОЗДІЛ 2 Матеріали та методи дослідження	78
2.1 Матеріал дослідження	78
2.2 Методи дослідження	92
РОЗДІЛ 3 Патоморфологічна характеристика головного мозку при печінковій енцефалопатії у померлих хворих на цироз печінки	98
3.1 Основні клінічні прояви печінкової енцефалопатії і лабораторні дані хворих на цироз печінки різного ступеню тяжкості	98
3.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеню тяжкості	106
3.3 Патоморфологічні параметри важкої G3-4 печінкової енцефалопатії при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності у померлих хворих на гостро декомпенсований цироз печінки	151
РОЗДІЛ 4 Кореляційний аналіз змін параметрів гліонейроваскулярного комплексу в асоціації з прижиттєвими лабораторними показниками органної недостатності та обґрунтування рекомендацій для доказової клініко-патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії при цирозі печінки	164
РОЗДІЛ 5 Патоморфологічна характеристика головного мозку при сепсис-асоційованій енцефалопатії у померлих хворих на абдомінальний сепсис без гнійного ураження головному мозку та	

порівняння її з важкою печінковою енцефалопатією при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності	198
5.1 Лабораторні дані хворих на абдомінальний сепсис і клінічні прояви сепсис-асоційованої енцефалопатії	198
5.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією	203
5.3 Порівняльна характеристика рівнів мозкового тканинного аміаку і морфо-функціонального стану астроглії у померлих септичних хворих з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки, септичних хворих без сепсис-асоційованого пошкодження печінки та померлих хворих групи контролю	218
5.4 Порівняння патоморфологічних параметрів сепсис-асоційованої енцефалопатії померлих хворих на абдомінальний сепсис та важкої G 3-4 печінкової енцефалопатії підгрупи «ГХПечН»	224
РОЗДІЛ 6 Патоморфологічні зміни головного мозку при гострій парацетамол-індукованій печінковій недостатності у щурів	233
РОЗДІЛ 7 Патоморфологічні зміни головного мозку при експериментальному абдомінальному сепсисі у щурів	283
РОЗДІЛ 8 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	331
ВИСНОВКИ	380
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	386
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	389
ДОДАТОК А АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ	425
ДОДАТОК Б СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	436
ДОДАТОК В ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ	448

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

AA1 -	Астроцити Альцгеймера 1 типу
AA2 -	Астроцити Альцгеймера 2 типу
A2-астроцитоз	Альцгеймер-2-астроцитоз
АЛТ -	Аланінамінотрансфераза
а.м.% -	Відсоткова частка амебоїдної мікроглії
Амеб. м. -	Амебоїдна мікроглія
АСТ -	Аспартатамінотрансфераза
АТ -	Амілоїдні тільця (крахмаловидні тільця)
A _{уооц} -	Оптична щільність преципітатів тканинного аміаку
бСАПП	Без сепсис-асоційованого пошкодження печінки
ВПГМ -	Великі півкулі головного мозку
ВЧГ -	Внутрішньочерепна гіпертензія
ГД -	Гостра декомпенсація (цирозу печінки)
ГЕБ -	Гематоенцефалічний бар'єр
ГМ -	Головний мозок
ГНБК -	Гліонейроваскулярний комплекс
ГПечН -	Гостра печінкова недостатність
ГХ -	Гістохімічний (метод дослідження)
ГХПечН -	Гостра-на-тлі-хронічної печінкова недостатність
ЕМ -	Електронна мікроскопія
ЕР -	Ендоплазматичний ретикулюм
ЗЗГ -	Зубчаста звивина гіпокампу
ІГХ -	Імуногістохімічний (метод дослідження)
ЛІІ -	Лейкоцитарний індекс інтоксикації
ЛПС -	Ліпополісахарид
МЦР -	Мікроциркуляторне русло
ОНС -	Оксидативно-нітрозативний стрес
ПГ -	Патогістологічний (метод)
ПЕ -	Печінкова енцефалопатія
ПВп -	Периваскулярні простори
ПНп -	Перинейрональні простори
ПВп+ПЦп -	Об'єднані показники площі периваскулярних і перинейрональних просторів
САПП	Сепсис-асоційоване пошкодження печінки
СМР -	Спино-мозкова рідина
СПЗ -	Стандартизоване поле зору мікроскопу
СПОН -	Синдром поліогранної недостатності
УООЦ -	Умовні одиниці оптичної щільності експресії маркеру
ХПечН -	Хронічна печінкова недостатність
ЦП -	Цироз печінки

ЦПк -	Підгрупа померлих хворих з компенсованим цирозом печінки
ЦПс -	Підгрупа померлих хворих з субкомпенсованим цирозом печінки
ЦПд -	Підгрупа померлих хворих з декомпенсованим цирозом печінки
ШКГ -	Шкала ком Глазго
ШОЕ -	Швидкість осідання еритроцитів
ШЧП -	Шкала Чайлд-П'ю
AILF -	(Acetaminophen induced liver failure) ацетамінофен (парацетамол)-індукована печінкова недостатність – експериментальна модель гострої печінкової недостатності
ACEf –	(Astrocyte capillary end-feet) капілярні ніжки астроцитів
Apr –	(Astrocyte process) астроцитарний відросток
Aprk –	(Astrocyte perikaryon) перикаріон астроциту
ANu –	(Astrocyte nucleus) ядро астроциту
AUC -	Area under ROC curve (площа під ROC-кривою) - площа, обмежена ROC-кривою і віссю частки помилкових позитивних класифікацій
Ax –	(Axon) аксон
BM –	(Basal membrane) базальна мембрана
Caspase3 (Casp3) -	Каспаза-3 (апоптотична ендонуклеаза)
CL –	(Capillary lumen) просвіт капіляру
CLP -	(Cecum ligation and puncture) перев'язка та пункція сліпої кишки - експериментальна модель полімікробного абдомінального сепсису
Dndr –	(Dendrite) дендрит
EC –	(Endothelial cell) ендотеліальна клітина
En –	(Endosomes) ендосоми
Er –	(Erythrocyte) еритроцит
GFAP -	(Glial fibrillary acidic protein) гліальний фібрилярний кислий протеїн
Grades (G1, G2, G3, G4)	Ступіні тяжкості (печінкової енцефалопатії)
GS -	(Glutamine synthetase) глютамінсинтетаза
Alb -	(Albumin) альбумін плазми
AQP4 -	(Aquaporin-4) водний канал аквапорин-4
Bil -	(Bilirubin) загальний білірубін плазми
CANONIC -	Консорціум Європейської Асоціації з Вивчення Печінки (EASL) та Хронічної Печінкової Недостатності (CLIF) по

	гострій-на-тлі-хронічної печінковій недостатності при цирозі печінки
CD68 -	Кластер диференціювання-68 (мікросіалін)
CLIF-C OF	(Chronic Liver Failure-Consortium; OF - organ failure) шкала оцінки органної недостатності при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності
Cre -	(Creatinine) креатинін плазми
Hb -	(Hemoglobin) гемоглобін
LaI –	(Lamelliform inclusions) ламеллоформні включення
LiI –	(Lipid inclusions) ліпідні включення
L –	(Lysosomes) лізосоми
Me -	Медіана
McgNu –	(Microglial nucleus) ядро мікрогліоциту
McgPr –	(Microglial process) мікрогліальний відросток
McgPrk –	(Microglial perikaryon) перикаріон мікрогліоциту
MVB –	(Multivesicular body) Мультивезікулярне тільце
Neuropil –	Нейропіль
NNu –	(Neuronal nucleus) ядро нейрону
NPrk –	(Neuronal perikaryon) перикаріон нейрону
OlgNu –	(Oligodendrocyte nucleus) ядро олігодендроциту
P -	(Protein) загальний білок плазми
PC –	(Pericyte) перицит
PI -	(Prothrombin index) проторомбіновий індекс
Plt -	(Platelets) тромбоцити
PnS –	(Perinuclear space) перинуклеарний простір
Synaptophysin (Syn) -	Основний трансмембранний глікопротеїн синаптичних везикул p38
Q1; Q3 -	Верхній і нижній квартилі
Rbc -	(Red blood cells) еритроцити
rER –	(Rough endoplasmic reticulum) зернистий ендоплазматичний ретикулум
ROC -	Receiver operating characteristic (робоча характеристика приймача) – графік оцінки якості бінарної класифікації
SOFA -	Sequential Organ Failure Assessment (sepsis-related organ failure assessment score) – шкала оцінки органної недостатності, пов'язаної з сепсисом
S rel.%	Відносна площа експресії маркера, виражена у відсотках
Ur -	(Urea) сечовина
Wbc -	(White blood cells) лейкоцити

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Печінкова енцефалопатія (ПЕ) є дисфункцією головного мозку (ГМ) у пацієнтів з хронічною або гострою печінковою недостатністю, що проявляється когнітивними розладами, неврологічним дефіцитом різного ступеня, зміною особистості і інтелекту та розладами свідомості до її втрати - печінкової коми [1]. Сепсис-асоційована енцефалопатія (САЕ) визначається як потенційно оборотні когнітивні розлади у хворих на сепсис: від зниження уваги, пам'яті, мовлення, орієнтації, появи неврологічного дефіциту, судомної активності, розладів сприйняття та зниження свідомості до коматозного стану [2, 3]. САЕ може виникати як при септицемії, так і при септикопемії без гнійного враження ГМ [4]. Енцефалопатія з патоморфологічних позицій – це ураження усіх відділів ЦНС, що характеризується мозаїчно розподіленим руйнуванням нейронів і деяких капілярів, а також дрібновогнищевою гіперплазією гліальних клітин та перебудовою мікросудин мозку [5]. Статистичні дані частоти ПЕ і САЕ в Україні не досліджені. В США реєструється ПЕ, яка частіше ускладнює цироз печінки (ЦП) і більше ніж на 50% підвищує летальний ризик хворих протягом року [6]. САЕ без гнійного ураження ГМ ускладнює до 70% випадків сепсису [3] і підвищує ризик смерті на 10% [7].

Патоморфологія ПЕ та САЕ поки вивчені вкрай недостатньо. Сучасні уявлення про морфологічні зміни в ГМ при ПЕ і САЕ і їх патогенез базуються переважно на дослідженнях у експериментальних лабораторних тварин [8, 9]. В літературі відсутні дані щодо патоморфології САЕ у померлих септичних хворих. У 2009, 2012 і 2018 роках опубліковані три міжнародні колективні монографії з печінкової енцефалопатії [10, 11, 12], в яких немає глав з патоморфології ПЕ у померлих хворих. Окремі мікроскопічні зміни переважно астроглії ГМ померлих від тяжких захворювань печінки хворих з ПЕ вибірково описані в 6 статтях, опублікованих в останні 45 років [13, 14, 15, 16, 17, 18].

Поки також відсутні публікації з особливостей патологоанатомічної діагностики ПЕ і САЕ у померлих хворих. Не розроблені алгоритми патологоанатомічної діагностики ПЕ різного ступеню тяжкості з оцінкою прижиттєвих клініко-лабораторних даних померлих хворих на ЦП, а також диференційна патоморфологічна діагностика між важкою ПЕ Grade 3-4 при гострій-на-глі-хронічній печінковій недостатності (ГХПечН) та сепсис-асоційованою енцефалопатією при сепсисі без гнійних вражень ГМ, які мають схожі клінічні ознаки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в рамках трьох науково-дослідних тем кафедри патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Морфогенез деструктивно-репаративних процесів в головному мозку при захворюваннях судинного та токсико-метаболічного генезу» (№ державної реєстрації 0118U004253; 2018-2022 рр.); «Коморбідні стани, серцево-судинні та онкологічні захворювання в загальноклінічній практиці: розробка сучасних діагностичних та лікувальних заходів» (№ державної реєстрації 0120U101587; 2020-2023 рр.); «Патогенез і патоморфологія ендокринних, церебро-васкулярних, пухлинних і непухлинних захворювань у пацієнтів та в експерименті» (№ державної реєстрації 0125U002639; з 01.2025 р.). Дисертант була відповідальним виконавцем або співвиконавцем вказаних тем.

Мета дослідження – Розробка концепції морфогенезу печінкової енцефалопатії при цирозі печінки та сепсис-асоційованої енцефалопатії з урахуванням патоморфологічних змін гліонейроваскулярного комплексу головного мозку і клініко-лабораторних параметрів хворих для патологоанатомічної діагностики енцефалопатій.

Задачі дослідження:

1. Проаналізувати прижиттєві клініко-лабораторні особливості і структуру поліорганної недостатності у 90 померлих хворих на неалкогольний цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості, у тому

числі при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності, а також у 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією без гнійних уражень головного мозку.

2. Визначити гістохімічними і морфометричними методами зміни рівня церебрального тканинного аміаку в шести відділах головного мозку померлих хворих на неалкогольний цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості та померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією без гнійних уражень головного мозку.

3. Дослідити гістологічними, імуногістохімічними і морфометричними методами особливості змін нейронів, кровоносних судин, астроцитів і мікроглії в шести відділах головного мозку померлих хворих з печінковою енцефалопатією різного ступеню тяжкості в порівнянні з групою умовного контролю померлих хворих від гострої серцево-судинної недостатності на тлі ішемічної хвороби серця.

4. З'ясувати найбільш значущі кореляційні зв'язки між патоморфологічними змінами гліонейроваскулярного комплексу і гістохімічним рівнем тканинного аміаку в шести відділах головного мозку та прижиттєвими лабораторними показниками крові померлих хворих з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості для визначення їх значення в морфогенезі захворювання.

5. З урахуванням найбільш значущих патоморфологічних змін гліонейроваскулярного комплексу та їх кореляційних взаємозв'язків з прижиттєвими клініко-лабораторними даними хворих на цироз печінки визначити найбільш морфологічно вразливі відділи головного мозку, а також найбільш вагомні лабораторні показники крові для використання в комплексній патологоанатомічній діагностиці печінкової енцефалопатії.

6. Вивчити гістологічними, імуногістохімічними, морфометричними і електронномікроскопічними методами у білих щурів з експериментальною гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю особливості

змін нейронів, кровоносних судин і астроцитів і мікроглії шести відділів головного мозку в порівнянні з щурами групи контролю.

7. Дослідити гістологічними, імуногістохімічними і морфометричними методами у померлих хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією особливості змін нейронів, кровоносних судин, астроцитів і мікроглії шести відділів головного мозку в порівнянні з групою умовного контролю померлих хворих від гострої серцево-судинної недостатності на тлі ішемічної хвороби серця.

8. Визначити відмінності рівня тканинного аміаку, Альцгеймер-2 астроцитозу, експресії астроцитарного гліофібрилярного білка (GFAP), глютамінсинтетази (GS), білку водних каналів AQP4 в шести відділах головного мозку померлих хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією та сепсис-асоційованим пошкодженням печінки від аналогічних параметрів головного мозку померлих хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією без сепсис-асоційованого пошкодження печінки.

9. Вивчити гістологічними, імуногістохімічними, морфометричними і електронномікроскопічними методами особливості змін нейронів, кровоносних судин і гліальних клітин в шести відділах головного мозку у білих щурів з полімікробним абдомінальним сепсисом, модельованим перев'язкою та пункцією сліпої кишки, в порівнянні з хибно оперованими щурами групи контролю.

10. З урахуванням патоморфологічних змін у найбільш вразливих відділах головного мозку і прижиттєвих клініко-лабораторних даних хворих обґрунтувати рекомендації з практичної клініко-патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії різного ступеня тяжкості при цирозі печінки та сепсис-асоційованій енцефалопатії без гнійних уражень головного мозку.

Об'єкт дослідження: Морфогенез печінкової енцефалопатії при цирозі печінки та сепсис-асоційованій енцефалопатії при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень головного мозку.

Предмет дослідження: патогістологічні (ПГ), гістохімічні (ГХ), імуногістохімічні (ІГХ) та ультраструктурні зміни гліонейроваскулярного комплексу (ГНВК) ГМ померлих хворих з ПЕ різного ступеня тяжкості при ЦП та з САЕ при абдомінальному сепсисі, а також експериментальних щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю та з абдомінальним сепсисом; прижиттєві клініко-лабораторні параметри хворих.

Методи дослідження: клініко-анатомічне, ПГ, ГХ, ІГХ, морфометричне (МФМ) дослідження ГМ померлих хворих на ПЕ при цирозі печінки та на САЕ при абдомінальному сепсисі; ПГ, ІГХ, МФМ, електронномікроскопічне (ЕМ) дослідження ГМ щурів з експериментальною гострою печінковою та з сепсис-асоційованою енцефалопатією. Статистична оцінка отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі комплексу ПГ, ГХ, ІГХ і ЕМ досліджень обґрунтована концепція морфогенезу печінкової енцефалопатії та її прогресування, яка виникає при печінковій недостатності під впливом підвищеного рівня аміаку в тканині головного мозку і проявляється структурним ремоделюванням всіх компонентів церебрального гліонейроваскулярного комплексу та обумовлює клінічну маніфестацію енцефалопатії.

Вперше ГХ методом з використанням реактиву Неслера в парафінових зрізах ГМ померлих хворих з печінковою енцефалопатією Grade 0-4 при ЦП визначена динаміка накопичень преципітатів аміаку різної оптичної щільності, які відображають прижиттєву наявність різних рівнів аміаку в ГМ хворих при прогресуванні печінкової енцефалопатії.

Вперше доказано, що зростання оптичної щільності амонійних преципітатів в ГМ асоційовано і статистично корелює з п'ятьма морфогенетично пов'язаними процесами: з реактивацією і дисфункцією астроглії (зростанням експресії аміак-детоксикуючої глютамінсинтетази; зниженням експресії цитоскелетного гліофібрилярного білку GFAP; появою Альцгеймер2-астроцитозу); з прогресуванням набряку ГМ (підвищенням експресії білку водних каналів AQP4, розширенням площі периваскулярних і

перицелюлярних астроцитарних відростків та зростанням ваги ГМ); зі зниженням синаптичної передачі і руйнуванням нейронів; з активацією мікроглії та з дисфункцією глімфатичної системи.

Доведено, що найбільш ранніми патоморфологічними змінами, які з'являються в ГМ хворих вже на клінічно прихованій стадії печінкової енцефалопатії і прогресують по мірі зростання її тяжкості, є підвищення рівня церебрального аміаку, зміна експресії астроцитарних білків GFAP, глютамінсинтази, AQP4, а також поява Альцгеймер-2 астроцитозу, що свідчить про ключову роль первинної аміак-асоційованої астроцитарної дистрофії і недостатності в морфогенезі печінкової енцефалопатії.

Вперше визначено, що при важкій G3-4 печінковій енцефалопатії у померлих хворих на декомпенсований ЦП з синдромом гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності, яка прогресувала у хворих на тлі системного запалення та поєднаної циркуляторної, легеневої і ниркової недостатності визначається максимально високий рівень церебрального аміаку, експресії астроцитарної глютамінсинтази і AQP4, зниження експресії GFAP, максимальний Альцгеймер-2 астроцитоз та максимальні прояви набряку ГМ, порушень мозкової гемомікроциркуляції з наявністю дрібних фокусів енцефалолізису, нейрональної загибелі, зниженої синаптичної передачі та реактивації мікроглії.

Подальшого розвитку набула концепція сепсис-асоційованої енцефалопатії без гнійних уражень ГМ, в морфогенезі якої провідну роль відіграє системне запалення, токсинемія і поліорганна недостатність, які обмовлюють значні порушення мозкової гемомікроциркуляції (спадіння, запусіння, тромбоз мікросудин) з петехіальними крововиливами і локусами енцефалолізису в ГМ, а також збільшення відсотку апоптотичних нейронів, значні реактивні зміни астроглії і мікроглії та розвиток помірного набряку-набухання ГМ.

Вперше встановлено, що у померлих хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією при абдомінальному сепсисі з сепсис-асоційованим

пошкодженням печінки в ГМ визначається слабо/помірно підвищена експресія тканинного аміаку, слабкий/помірний Альцгеймер-2 астроцитоз, більш висока експресія глутамінсинтетази і AQP4 та нижча експресія GFAP відносно аналогічних показників хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією без сепсис-асоційованого пошкодження печінки.

Вперше з'ясовано, що при гострій парацетамол-індукованій печінковій недостатності та при полімікробному абдомінальному сепсисі у щурів ГМ активується астроцитарна транспортно-елімінаційна ендосомальна система шляхом накопичення мультивезикулярних тілець і їх перерозподілу у капілярні ніжки астроцитів.

Вперше описана ультраструктура реактивного мікрогліозу та міжклітинної взаємодії мікроглії у щурів при експериментальній гострій печінковій енцефалопатії та при сепсис-асоційованій енцефалопатії.

Практичне значення одержаних результатів. В результаті комплексних досліджень встановлено, що найбільш ранніми і постійними патоморфологічними ознаками печінкової енцефалопатії при ЦП є підвищений рівень тканинного аміаку в ГМ, Альцгеймер-2 астроцитоз, підвищена експресія астроцитами глутамінсинтетази і AQP4, та знижена експресія гліофібрилярного білку GFAP. Додатковими патоморфологічними параметрами печінкової енцефалопатії, які набувають суттєвої виразності при легкій енцефалопатії і максимально виражені при важкій енцефалопатії, є набряк ГМ, підвищений відсоток апоптотичних нейронів, знижена експресія синаптофізину, збільшена площа позасудинної CD68⁺ мікроглії та відсоток амебоїдної мікроглії; накопичення амілоїдних тілець; вогнищеві запустіння мікросудин, поодинокі діapedезні крововиливи і дрібні вогнища енцефалолізису.

Вперше визначено, що патогномонічні для печінкової енцефалопатії зміни структур гліонейроваскулярного комплексу найбільш стабільно реєструються в таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі великих півкуль ГМ, які перш за все доцільно досліджувати для патологоанатомічної діагностики

печінкової енцефалопатії. Статистично доведено, що на високу ймовірність прижиттєвої печінкової енцефалопатії G1-4 у померлих хворих з ЦП достовірно вказує підвищення експресії аміаку в посмертній тканині кори великих півкуль головного мозку (> 29.67 УООЩ), таламусу (> 34.18 УООЩ), смугастого тіла (> 28.1 УООЩ), мозочку (> 32.65 УООЩ).

Для патологоанатомічної ідентифікації клінічно прихованої G0, легкої G1-2 і важкої G3-4 печінкової енцефалопатії деталізовані достовірні патоморфологічні зміни структур гліонейроваскулярного комплексу ГМ.

Вперше встановлено, що за відсутності в клінічному діагнозі ПЕ при патологоанатомічному розтині померлих хворих на ЦП на високу ймовірність її наявності за життя хворих достовірно вказує підвищений рівень аміаку в тканині таламусу померлих хворих, який асоційований з прижиттєво підвищеними лабораторними показниками плазми крові: загальний білірубін > 39.4 мкмоль/л, АСТ > 1.25 мкмоль/(сек*л), АЛТ > 0.94 мкмоль/(сек*л), креатинін > 144.79 мкмоль/л, ШОЕ > 19 мм/год та показник ЛП > 1.92 од.

Встановлено, що в патоморфологічних проявах сепсис-асоційованої енцефалопатії при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ГМ переважають ознаки порушень мозкової гемомікроциркуляції (спадіння, запусіння, тромбоз мікросудин; петехіальні крововиливи і локуси енцефалолізису), а також набряк ГМ, збільшений відсоток апоптотичних нейронів, виразні реактивні зміни нейроглії з підвищеною експресією астроцитами GFAP, глутамінсинтази, AQP4 та площею позасудинної CD68⁺ мікроглії і відсотком амебоїдної мікроглії; помірне збільшення кількості амілоїдних тілець.

Доведено, що якщо в структурі поліорганної недостатності при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ГМ фігурує сепсис-асоційована печінкова недостатність, то додатковою рисою патоморфологічних проявів сепсис-асоційованої енцефалопатії є слабко/помірно підвищена гістохімічна експресія церебрального аміаку, слабкий/помірний Альцгеймер-2 астроцитоз,

а також знижена в таламусі, смугастому тілі та в мозочку експресія астроцитарного GFAP.

Отримані нові дані для достовірної диференційної патоморфологічної діагностики сепсис-асоційованої енцефалопатії та важкої G3-4 печінкової енцефалопатії при синдромі ГХПечН, які враховують рівні тканинного аміаку, A2-астроцитозу і амілоїдних тілець в ГМ; рівні ІГХ експресії GS, GFAP, Casp3, синаптофізину та CD68; а також ознаки порушень гемомікроциркуляції (спустошені мікросудини і петехіальні крововиливи).

Результати дисертаційної роботи з позитивним діагностичним ефектом впроваджені в практичну роботу відділення загальної патології КП «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро» ДОР», КЗ «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро» ПОР, патологоанатомічного відділення КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня», центру патологічної анатомії та цитоморфології клінічної лікарні «Феофанія» ДУС (м. Київ), патологоанатомічного відділення КНП ХОР «Обласна лікарня» (м. Харків).

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрах патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Полтавського державного медичного університету, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, на кафедрі патологічної анатомії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора. Дисертантом проведено інформаційно-патентний пошук, аналіз літератури, вибір теми, завдань, матеріалу і методів, груп дослідження. Автор особисто провела забір секційного матеріалу, проаналізувала клініко-лабораторні дані хворих, самостійно провела експериментальне дослідження з використанням моделей гострої

парацетамол-індукованої печінкової недостатності та полімікробного абдомінального сепсису у щурів, провела гістологічні, гістохімічні, імуногістохімічні, морфометричні, електронномікроскопічні, статистичні дослідження. Автор самостійно провела аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформулювала основні положення дисертації, висновки, практичні рекомендації, написала всі розділи дисертації. Наукові роботи, опубліковані у співавторстві, містять дані, отримані особисто автором дисертаційного дослідження. Результати та ідеї співавторів не використовувалися, конфлікт інтересів відсутній.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднені на: науково-практичній конференції «Innovative technology in medicine: Experience of Poland and Ukraine» (Lublin, 2017); XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease (Porto, 2019); «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2019); «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2020); «Медична наука у практику охорони здоров'я» (Полтава, 2020); «Fundamental and applied research in the modern world» (Boston, 2021); «Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences» (Cambridge, 2021); «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку» (Київ, 2021); «Grundlagen der modernen wissenschaftlichen Forschung» (Zürich, 2021); «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2021); «Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives» (Vilnius, 2021); «Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique» (Paris, 2021); 82 Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022» (Запоріжжя, 2022); «Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences» (Vienna, 2022); «Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice» (Prague, 2022); «Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique» (Paris, 2022), «Science of post-industrial society: globalization and transformation processes» (Vienna, 2022),

«Technologies and strategies for the implementation of scientific achievements» (Stockholm, 2022); «Theory and practice of modern science» (Kraków, 2023); «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2023» (Запоріжжя, 2023); «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (Київ, 2023); «Current scientific goals, approaches and challenges» (Riga, 2024); «Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences» (Cambridge, 2024); «Modernization of today's science: experience and trends» (Singapore, 2024); «Scientific forum: theory and practice of research» (Valencia, 2024); «Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development» (Vienna, 2024); «Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation» (Pisa, 2024); «Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche» (Bologna, 2024); «Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development» (Vienna, 2025); «Innovative scientific research: latest theories, modern methods and practices» (Seville, 2025); «Modern science and innovation: trends, challenges, and breakthroughs» (NY, 2025).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 54 наукові роботи: 23 основні статті (12 – у вітчизняних фахових журналах категорії «А», що індексуються Scopus і Web of Science, Q4; 5 – в іноземних виданнях Scopus і Web of Science Q1- Q2, 4 – у вітчизняних фахових журналах категорії «Б», 2 – в іноземних виданнях) та 31 теза у матеріалах українських та міжнародних наукових конференцій. Обсяг статей є достатнім для презентацій результатів дисертаційного дослідження.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена державною мовою на 450 сторінках машинописного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, що містить 257 найменувань (3 кирилицею і 254 латиною), та додатків. Дисертація ілюстрована 65 таблицями та 151 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ПАТОГЕНЕЗ І КЛІНІКО-ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧІНКОВОЇ І СЕПСИС-АСОЦІЙОВАНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасні уявлення та визначення енцефалопатії

Сучасне клініко-неврологічне визначення енцефалопатії розшифровує її як клінічний синдром, що розвивається при будь-якому дифузному незапальному структурно-функціональному ураженні головного мозку та супроводжується змінами психічного стану (делірію), зниженням когнітивних функцій (деменції) та пригніченням свідомості аж до розвитку коми [19]. Енцефалопатія з патоморфологічної точки зору – це ураження усіх відділів ЦНС, що характеризується мозаїчно розподіленим руйнуванням нейронів і деяких капілярів, а також дрібновогнищевою гіперплазією гліальних клітин та перебудовою мікросудин мозку [5].

За етіо-патогенетичною ознакою виділяють наступні основні види енцефалопатій: 1) ішемічна (при атеросклерозі судин головного мозку); 2) гіпоксично-аноксична (гострі гіпоксичні стани дорослих, перинатальна гіпоксія); 3) гіпертензивна; 4) метаболічна (діабетична, Хасімото та ін.); 5) токсична (ендотоксична [токсично-метаболічна] – печінкова, сепсис-асоційована, уремична та ін.; екзотоксична – алкогольна, отруєння важкими металами, медикаментами, отрутами, у тому числі наркотична, марганцева та ін.); 6) постреанімаційна (після перенесеної клінічної смерті), 7) посттравматична (внаслідок черепно-мозкової травми); 8) застійна венозна (при підвищеному внутрішньочерепному тиску); 9) радіаційна; 10) трансмісивні губчасті енцефалопатії (пріонові хвороби) та ін.

В МКХ-10 найбільш часті варіанти енцефалопатій представлені наступними кодами: Енцефалопатія не класифікована – G93.40; Токсична – G92.00; Печінкова – K72.7 (включає «печінкову кому БДВ» і «печінкову

енцефалопатію БДВ»); Гіпертензивна – I67.4; Прогресуюча судинна лейкоенцефалопатія – I67.30; Аноксична – G93.10 [20].

У МКХ-11 енцефалопатії кодуються наступним чином (табл. 1.1) [21]:

Таблиця 1.1 - Кодування енцефалопатій в МКХ-11

Назва енцефалопатії	Код МКХ-11
1	2
Енцефалопатія, не класифікована в інших рубриках енцефалопатія БДВ*	8E47
Енцефалопатія, спричинена токсичністю	8D43.0
Енцефалопатія, спричинена свинцем	8D43.0Y&XM0ZH6
Енцефалопатія, спричинена токсичністю, не уточнена	8D43.0Z
Енцефалопатія, спричинена миш'яком	8D43.0Y&XM2KQ2
Інша уточнена енцефалопатія, спричинена токсичністю	8D43.0Y
Енцефалопатія, спричинена аміаком	8D43.00
Енцефалопатія, спричинена чадним газом	8D43.0Y&XM1X11
Енцефалопатія, спричинена проковтуванням органофосфатів	8D43.0Y&XM7154
Інший уточнений струс мозку Травматична енцефалопатія	NA07.0Y
Інші сироваткові реакції, Вакцинальна енцефалопатія	NE80.3
Печінкова енцефалопатія	DB99.5
Інше уточнене системний червоний вовчак, вовчакова енцефалопатія	4A40.0Y
Інша уточнена ВІЛ-інфекція клінічної стадії 4 без згадки про туберкульоз або малярію, СНІД-енцефалопатія	C62.3Y
Грип, вірус не ідентифікований, грипозна енцефалопатія	1E32
Ядерна жовтяниця новонароджених, білірубінова енцефалопатія	KA86
Гліцинова енцефалопатія	5C50.70
Паранеопластичні або аутоімунні захворювання центральної нервової системи, головного або спинного мозку, Енцефалопатія Хашимото	8E4A.0
Неонатальна енцефалопатія	KB03
Енцефалопатія Верніке	5B5A.10
Інша уточнена цереброваскулярна хвороба, Енцефалопатія Бінсвангера	8B22.Y
Синдром Рея, Енцефалопатія Рея	8E46
Енцефалопатія, спричинена дефіцитом поживних речовин	8D40.0
Гіперкальціємія, Гіперкальціємічна енцефалопатія	5B91.0
Церебральна органічна ацидурия, Етилмалонічна енцефалопатія	5C50.E1
Енцефалопатія, спричинена дефіцитом фолієвої кислоти	5B5E/8D40.0
Енцефалопатія, спричинена гідроксикінуреніурією	5C50.3/8E47
Легкий нейрокогнітивний розлад, Постконтузійна енцефалопатія	6D71
Інші уточнені генетичні епілептичні синдроми з неонатальним початком, Рання міоклонічна енцефалопатія	8A61.0Y
Інші уточнені родові травми центральної нервової системи, Енцефалопатія, спричинена родовою травмою	KA40.Y
Уроканічна ацидурия, Енцефалопатія, спричинена дефіцитом уроканази, Пріонні захворювання людини, Трансмісивна губчаста енцефалопатія	5C50.21

Продовження таблиці 1.1

1	2
Генетична хвороба Крейтцфельда-Якоба, Енцефалопатія, спричинена хворобою Крейтцфельда-Якоба	8E02.0
Інший уточнений сфінголіпідоз, Енцефалопатія, спричинена дефіцитом просапозину	5C56.0Y
Інші уточнені неврологічні захворювання, пов'язані з алкоголем розлади, алкогольна енцефалопатія	8D44.Y
Центральна демієлінізація мозолистого тіла, Енцефалопатія, мозолиста демієлінізуюча	8A46
Новоутворення невідомої поведінки неуточненої локалізації, Енцефалопатія при неопластичному захворюванні невідомої поведінки	2F9Z
Гіпертензивна енцефалопатія	8B22.8
Епілептичні енцефалопатії	8A62
Епілептичні енцефалопатії, неуточнені	8A62.Z
Інші уточнені епілептичні енцефалопатії	8A62.Y
Порушення полегшеного транспорту глюкози, Енцефалопатія, спричинена дефіцитом GLUT1	5C61.5
Енцефаліт, спричинений вірусом простого герпесу, герпетична енцефалопатія	1F00.21
Новоутворення невизначеної поведінки неуточненої локалізації, Енцефалопатія при неопластичному захворюванні невизначеної поведінки	2F7Z
Інші уточнені генетичні епілептичні синдроми з початком у немовлячому віці, Міоклонічна енцефалопатія при непрогресуючих розладах	8A61.1Y
Енцефалопатія, спричинена дефіцитом вітаміну B12	5B5F/8D40.0
Енцефалопатія, спричинена дефіцитом сульфітоксидази	5C50.B/8E47
Радіаційно-індуковане ураження головного мозку, Енцефалопатія, спричинена раннім опроміненням головного мозку	8E61.0
Посттравматичний паркінсонізм, Паркінсонізм, спричинений хронічною травматичною енцефалопатією	8A00.25
Інший уточнений розсіяний склероз, централобарна прогресуюча енцефалопатія	8A40.Y

1.2 Печінкова енцефалопатія: визначення, розповсюдження, класифікації, клінічна характеристика

Згідно рекомендацій Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (AASLD) та Європейської асоціації з вивчення печінки (EASL) 2014 року, печінкова енцефалопатія є мозковою дисфункцією з потенційно оборотними нейрокогнітивними розладами у пацієнтів з хронічною або гострою печінковою недостатністю, що проявляється неврологічним дефіцитом різного ступеня тяжкості, зміною особистості та інтелекту, а також

розладами свідомості: від інверсії циркадного ритму до розвитку печінкової коми [1, 22]. Через вкрай недостатню вивченість морфології загальноприйняте патоморфологічне визначення печінкової енцефалопатії поки ще не сформоване.

В Україні статистика частоти ПЕ відсутня. У США з 2005 по 2009 рр. госпіталізувалося до 110 000 пацієнтів із ПЕ на рік, при цьому щорічно діагностується близько 5 млн випадків хронічної печінкової недостатності (ХпечН) [23, 6]. Достовірних даних щодо захворюваності на ПЕ в країнах ЄС та Євразії в літературі не наводиться через відсутність таких досліджень [24]. У 30% хворих, що вмирають на кінцевих стадіях захворювань печінки, визначаються ознаки важкої ПЕ, що переходять у кому. За даними А.Аgarwal.& D. Mais [17] ризик летального наслідку протягом 1 року мають 54% хворих на ПЕ, незалежно від тяжкості патології печінки. 42% госпіталізованих хворих з важкою ПЕ виживають протягом 1 року, 23% – протягом 3 років [25].

ПЕ характеризується двома принциповими ознаками: 1) наявністю патології печінки та/або портосистемного шунтування крові, достатніх для підтримки в плазмі крові критичної концентрації вірогідних нейротоксичних речовин; 2) наявністю енцефалопатії (при виключенні усіх інших можливих її причин) [1].

На погоджувальній конференції в рамках Всесвітнього конгресу Гастроентерологів 1998, 2002 років було прийнято класифікацію ПЕ з урахуванням 4 показників [26]:

1. В залежності від базової патології, яка призводить до розвитку ПЕ виділяють три типи ПЕ:

ПЕ типу «А» (результат гострої печінкової недостатності, ACUTE Liver Failure) є відносно рідкісною, вона обумовлена фульмінантними формами вірусних гепатитів А, В, D, Е, отруєннями гепатотоксичними отрутами, а також суїцидальними або випадковими отруєннями лікарськими препаратами (в основному ацетамінофеном [парацетамол, N-acetyl-p-aminophenol], який

обумовлює до 50% всіх випадків ПЕ типу «А» в США і Великобританії [27]). Ключовим діагностичним критерієм ПЕ типу «А» є гостра печінкова недостатність (ГпечН), яка ініціюється гострим пошкодженням печінки і супроводжується 2-3-кратним підвищенням рівнів трансаміназ, жовтяницею та коагулопатією у хворих без хронічного захворювання печінки [24]. ПЕ типу «А» зазвичай протікає у важкій формі, супроводжується позамежною ВЧГ, високою летальністю і на сучасному етапі найбільш ефективно купується шляхом трансплантації печінки [24].

ПЕ типу В (виникає на тлі портосистемного шунтування крові без гепатоцелюлярної недостатності на тлі вроджених аномальних інтра- та екстрапечінкових, а також штучних портосистемних шунтів [трансюгулярне внутрішньопечінкове портосистемне шунтування, TIPS] – Portosystemic BYPASS or Shunting).

ПЕ типу С (CIRRHOSIS) зумовлена цирозом печінки: може поєднувати в собі портосистемне шунтування крові та гепатоцелюлярну недостатність. Вона є другою за частотою причиною госпіталізації та регоспіталізації пацієнтів з асцитом [6]. 70-87% випадків ЦП супроводжується латентною, або «мінімальною» ПЕ [28], у той час як у 30-45% хворих спостерігаються ознаки явної легкої і важкої ПЕ [23], що супроводжується розвитком генералізованого набряку ГМ, декомпенсацією внутрішньочерепної гіпертензії (ВЧГ) та летальним наслідком. Наявність явної ПЕ на момент діагностики ЦП становить 10-14%, при цьому декомпенсований ЦП характеризується 16-21% частотою ПЕ [25].

2. За ступенем тяжкості клінічних проявів ПЕ градуюється відповідно до критеріїв West Haven (табл. 1.2, рис.1.1).

Таблиця 1.2 – Класифікація ПЕ за West Haven. Адаптовано з [26, 25]

Ступінь ПЕ	Клінічні прояви
Прихована ПЕ	
«Мінімальна» (субклінічна, латентна) ПЕ («Grade 0»)	Немає клінічної симптоматики. Наявність лише змін психометричних або нейропсихологічних тестів: 1) Психометрична оцінка печінкової енцефалопатії (Psychometric hepatic encephalopathy score, PHES); 2) Тест на називання тварин (Animal naming test, ANT); 3) Безперервний час реакції (Continuous reaction time test, CRT); 4) Інгібіторний контрольний тест (Inhibitor Control Test, ICT); 5) Тест Струпа (Stroop test); 6) Тест SCAN (вимірює швидкість і точність розпізнавання цифр у комп'ютеризованому форматі); 7) Електроенцефалограма (ЕЕГ); 8) Критична частота мерехтіння (Critical flicker frequency, CFF), що досліджують психомоторну швидкість/виконавчі функції або нейрофізіологічні зміни. Плескаючий тремор: відсутній. Час виконання тесту зв'язування чисел (ТЗЧ): 15-30 с. ЕЕГ: Частота α -ритму 8.5-12 коливань/с. Рівень аміаку артеріальної крові (ААК): в нормі (11-55 мкмоль/л).
ПЕ Grade 1	Незначне зниження сприйняття; ейфорія або тривога; скорочення концентрації уваги; зниження швидкості додавання або віднімання; інверсія ритму сну-неспанья. Оперативні критерії: незважаючи на орієнтування в часі та просторі, у пацієнта можуть бути когнітивні/поведінкові розлади. Плескаючий тремор: рідкий, 1-2 руху/30 с. Час виконання ТЗЧ: 31-50 с. ЕЕГ: Частота α -ритму 7-8 коливань/с. Рівень ААК: підвищений до 1.33 разів від верхньої границі норми.
Явна ПЕ	
ПЕ Grade 2	Млявість або апатія; дезорієнтація в часі; явна зміна особистості; неадекватна поведінка; диспраксія; астериксис («плескаючий тремор»). Оперативні критерії: дезорієнтація в часі (принаймні три з наступного неправильні: день місяця, день тижня, місяць, сезон або рік), інші згадані симптоми. Плескаючий тремор: нерегулярний, 3-4 руху/30 с. Час виконання ТЗЧ: 51-80 с. ЕЕГ: Частота α -ритму 5-7 коливань/с. Рівень ААК: підвищений в 1.33-1.67 рази від верхньої границі норми.
ПЕ Grade 3	Сонливість до напівступору; збережена реакція на подразники; збентеженість; груба дезорієнтація в місці та часі; дивна поведінка. Оперативні критерії: дезорієнтація також щодо простору (принаймні три з наступного неправильно вказано: країна, регіон, місто чи місце), інші згадані симптоми. Плескаючий тремор: частий, 5-10 руху/30 с. Час виконання ТЗЧ: 81-120 с. ЕЕГ: Частота α -ритму 3-5 коливань/с. Рівень ААК: підвищений в 1.67-2 рази від верхньої границі норми.
ПЕ Grade 4	Кома з наявністю або відсутністю відповіді на больові подразники (відповідає стадіям коми за шкалою Glasgow) Плескаючий тремор: майже постійний. Час виконання ТЗЧ: >120 с. ЕЕГ: Частота α -ритму <3 коливань/с. Рівень ААК: підвищений >2 разів від верхньої границі норми.

Примітка: У пацієнтів із G3-4 за West Haven повинна вказуватися додаткова градація за шкалою ком Glasgow [1].

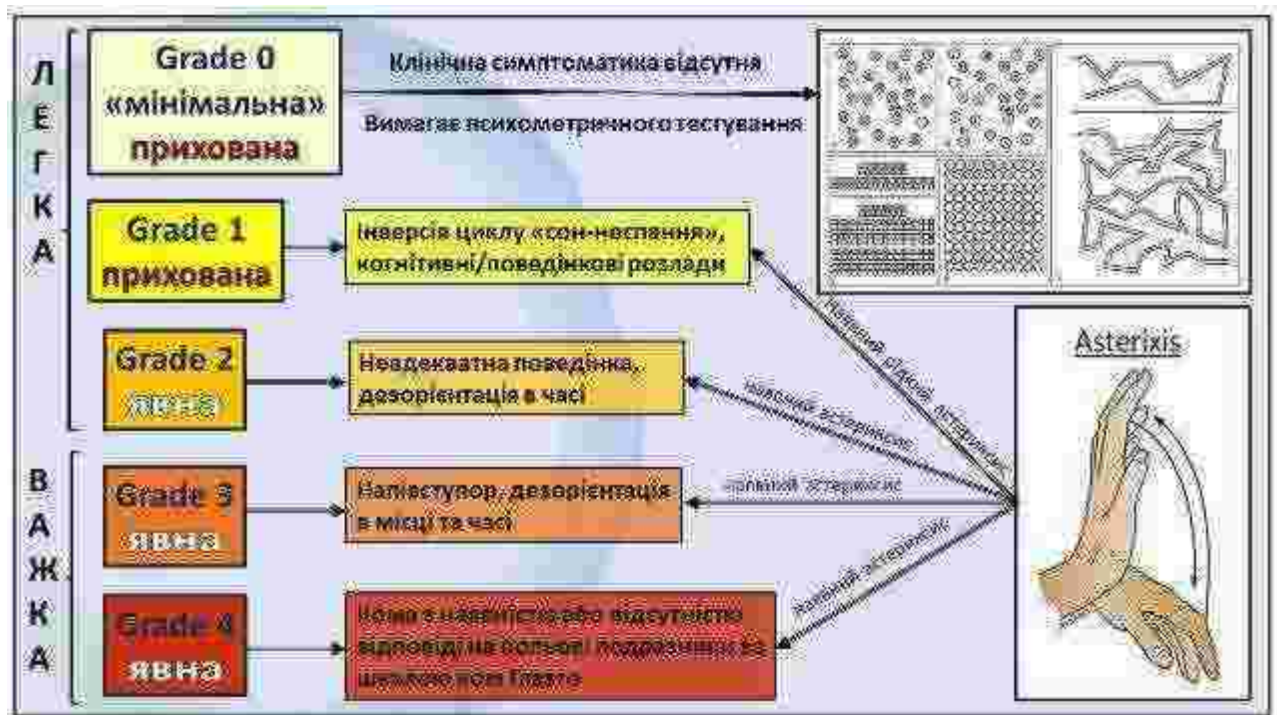


Рисунок 1.1 – Ключові діагностичні критерії печінкової енцефалопатії різного ступеня тяжкості.

Незважаючи на те, що критерії West Haven до сьогодні залишаються діагностичним «золотим стандартом», їх використання для клінічної діагностики ПЕ G1 інколи є проблематичним з огляду на відносну стертість її симптомів та необхідності даних від родичів з поведінкової характеристики хворого в анамнезі. Діагностика легкої явної форми ПЕ G2 також суттєво залежить від діагностичних умов і людського фактору, тому вона вважається діагностованою, якщо у хворого принаймні виявлено дезорієнтацію у часі та/або астериксис [26]. З урахуванням проблем у визначенні і категоризації легких форм ПЕ G1 і G2 обговорюється навіть можливість їх виключення з градації ПЕ [25].

3. В залежності від особливостей клінічних проявів виділяють три форми ПЕ: 1) епізодична; 2) повторна/рецидивуюча (≥ 2 проявів явної ПЕ впродовж 6 місяців); 3) постійна/персистуюча (залишкові поведінкові зміни, які завжди присутні та чергуються з рецидивами явної ПЕ).

4. За наявності чи відсутності провокуючих факторів ПЕ буває спонтанною та спровокованою. Провокуючими факторами явної ПЕ можуть

бути: інфекції, надмірне надходження білка в організм, гіпонатріємія, гіпокаліємія, ниркова недостатність з азотемією, алкалоз, дегідратація, діарея, блювання, артеріальна гіпотензія/гіповолемія, шоківий стан, передозування діуретиків, електролітні порушення, запори, прийом опіатів, бензодіазепінів, антипсихотичних препаратів. Найбільш частими провокуючими факторами для ПЕ є інфекції; гастроінтестинальна кровотеча; передозування диуретиків; електролітні порушення; закрепи; невідомі фактори [26].

В клінічному діагнозі ПЕ класифікується за типом основного захворювання, тяжкістю проявів, кратністю, та провокуючими факторами, наприклад: «ПЕ, тип С, G3, повторна, спровокована (гастроінтестинальною кровотечею)». При ПЕ Grade 3 і 4, якщо свідомість хворого нижча 11-12 балів за шкалою ком Глазго (ШКГ), то діагноз доповнюється вказанням бальної оцінки коми за ШКГ (табл. 1.3).

Таблиця 1.3 – Шкала Ком Глазго [29]

	1 бал	2 бали	3 бали	4 бали	5 балів	6 балів
Відкривання очей (Eye response)	Не відкриває	Відкриває, як реакція на больові подразники	Відкриває у відповідь на голос	Відкриває спонтанно, спостерігає	н/з	н/з
Мовна реакція (Verbal response)	Ніяких звуків	Видає звуки, але не слова	Вимовляє окремі слова	Вимовляє фрази, але мова нескладна. Розгубленість, дезорієнтованість	Орієнтований, швидкий і правильний відповідь на задане питання	н/з
Рухова реакція (Motor response)	Не рухається	Патологічне розгинання у відповідь на біль (децеребраційна ригідність)	Патологічне згинання у відповідь на біль (декортикаційна ригідність)	Згинання або безглузді рухи у відповідь на біль	Локалізує біль, намагається її уникнути	Виконання рухів по голосовій команді

Примітка: До розрахунку беруться найвищі бали за кожний з трьох пунктів: в тесті відкривання очей від 1 до 4 балів, в тесті мовних реакцій від 1 до 5, а в тесті на рухові реакції від 1 до 6 балів. 15 балів – свідомість ясна; 14-13 балів – помірний ступор (оглушення); 12-11 балів – глибоке оглушення; 10-9 балів – сопор (прекома, сомнолентність); 8-7 балів – кома-1 (помірна кома); 6-5 балів – кома-2 (глибока кома); 4-3 балів – кома-3 (поза межна кома, смерть мозку). Аббревіатури: н/з – не застосовується.

Для градації ступеня тяжкості ЦП клініцистами використовуються прогностичні шкали Чайлд-П'ю (Child-Turcotte-Pugh) і більш нова і варіативна MELD (Model for End-Stage Liver Disease, Модель Термінальної Стадії Захворювання Печінки) [30].

Зважаючи на більшу простоту при одночасному збереженні високої релевантності оціночного і прогностичного значень, найбільш часто у практичній діяльності використовують шкалу Чайлд-П'ю (табл. 1.4)

Таблиця 1.4 - Шкала оцінки тяжкості ЦП за Чайлд-П'ю. Адаптовано з [31]

Параметри	Клас А (1 бал)	Клас В (2 бали)	Клас С (3 бали)
Загальний білірубін плазми, мкмоль/л, (мг/дл)	< 34 мкмоль/л (< 2 мг/дл)	34-50 мкмоль/л (2-3 мг/дл)	> 50 мкмоль/л (> 3 мг/дл)
Альбумін плазми, г	> 3.5 г	2.8-3.5 г	< 2.8 г
Асцит	Відсутній	Контрольований/ помірний	Рефрактерний/ напружений
ПЕ	Відсутня (G0)	ПЕ G1-2	ПЕ G3-4
Протромбіновий індекс (ПТІ), %; або Протромбіновий час (ПТЧ), пролонгація, с; або Міжнародне нормалізоване співвідношення (МНС)	> 60% 1-4 с < 1.70	40-60% 4-6 с 1.71-2.20	< 40% > 6 с > 2.20

Примітка: клас «А» (компенсований ЦП/ compensated) – 5-6 балів; клас «В» (субкомпенсований/ «м'яка декомпенсація» - mild decompensation) – 7-9 балів; клас «С» (декомпенсований/ «важка декомпенсація» - severe decompensation) – 10-15 балів. Пацієнти з класом «В» і «С» потребують трансплантації печінки.

Відповідно до шкали Чайлд-П'ю цироз печінки за клініко-лабораторними проявами розподіляється на класи «А», «В», «С», які в свою чергу у вітчизняному використанні умовно інтерпретуються як 3 стадії тяжкості: «компенсований», «субкомпенсований», «декомпенсований». ПЕ як один із п'яти компонентів шкали фігурує, починаючи з класу «В», у вигляді м'якої ПЕ (G1-2), а в класі «С» проявляється у вигляді важких форм G3-4. За шкалою Чайлд-П'ю, для класу «А» ПЕ не характерна, але варто пам'ятати про методологічну складність визначення симптомів мінімальної ПЕ (G0).

Активна дискусія триває щодо визначення поняття декомпенсації ЦП. В останнє десятиліття проведено два великих обсерваційних дослідження, які зробили суттєвий крок у класифікації перебігу декомпенсованого ЦП. Перше, що виконано в контексті European Association for the Study of the Liver-chronic liver failure (EASL-CLIF) Консорціуму, і має назву CANONIC (EASL-CLIF Acute-on-Chronic Liver Failure in Cirrhosis) [32], запропонувало концепцію так званої «гострої декомпенсації» (ГД) цирозу, яка характеризується гострим розвитком ≥ 1 ускладнення: 1) першого випадку або рецидиву асцити 2-го або 3-го ступеня протягом менш ніж 2 тижнів; 2) першого епізоду або рецидиву явної ПЕ у пацієнтів із раніше нормальною свідомістю і за виключенням персистуючої ПЕ; 3) гострої гастроінтестинальної кровотечі з верхніх і/або нижніх відділів будь-якої етіології; 4) будь-якого типу гострої бактеріальної інфекції. Серед них бактеріальну інфекцію розцінено як вирішальний фактор розвитку ГД [32], що обумовлює значне підвищення смертності хворих [33], а саму інфекцію пов'язують з транслокацією кишкової флори та порушенням функцій лейкоцитів [34].

Також в CANONIC було виділено особливу форму ГД цирозу у вигляді синдрому «гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності» (ГХпечН, acute-on-chronic liver failure, ACLF) – стану, що виникає у пацієнтів із хронічним захворюванням печінки під дією провокуючих факторів та характеризується раптовою декомпенсацією основного захворювання (в тому числі ЦП) з гострим розвитком печінкової і/або позапечінкової органної недостатності і значним системним запаленням [35, 36].

Для оцінки стану хворих з ГХпечН було модифіковано шкалу Послідовної Оцінки Органної Недостатності (Sequential Organ Failure Assessment, SOFA) в шкалу CLIF-SOFA (Chronic Liver Failure- Sequential Organ Failure Assessment) [32] (табл. 1.5), яка дозволяла оцінити органну недостатність, а тому виявити ГХпечН у хворих з ГД цирозу, класифікувати ГХпечН і дати короткостроковий прогноз виживання хворих.

Таблиця 1.5 – Шкала CLIF-SOFA [32]

Орган/система	0	1	2	3	4
Печінка: Білірубін (мг/дл)	<1.2	≥ 1.2 - <2.0	≥ 2.0 - <6.0	≥ 6.0 - <12.0	≥ 12.0
Нирки: Креатинін (мг/дл)	<1.2	≥ 1.2 - <2.0	≥ 2.0 - <3.5	≥ 3.5 - <5.0	≥ 5.0
			Або гемодіаліз		
Головний мозок: ПЕ Grade	-	1	2	3	4
Коагуляція: Міжнародне Нормалізоване Співвідношення (МНС)	<1.1	≥ 1.1 - <1.25	≥ 1.25 - <1.5	≥ 1.5 - <2.5	≥ 2.5 або тромбоцити $\leq 20 \times 10^9/\text{л}$
Циркуляція: середній артеріальний тиск (САТ) (мм.рт.ст.)	≥ 70	<70	Допамін ≤ 5 або Добутамін або Терліпресін	Допамін >5 або E ≤ 0.1 або NE ≤ 0.1	Допамін >15 або E >0.1 або NE >0.1
Легені: PaO ₂ /FiO ₂ або SpO ₂ /FiO ₂	>400 >512	>300- $\leq$ 400 >357- $\leq$ 512	>200- $\leq$ 300 >214- $\leq$ 357	>100 to $\leq$ 200 >89 to $\leq$ 214	$\leq$ 100 $\leq$ 89

Примітка: Жирним шрифтом виділені діагностичні критерії органної недостатності. Загальна сума балів може бути від 0 до 24. Абревіатури: E - епінефрин; NE – норепінефрин; PaO₂ – парціальний тиск артеріального кисню; FiO₂ – фракція кисню, що вдихається; SpO₂ – пульсоксиметрична сатурація.

Пізніше шкалу CLIF-SOFA модифіковано в шкалу CLIF-C OF (Chronic Liver Failure-Consortium organ failure scale) зі зменшенням бальної оцінки окремих параметрів [37] (табл. 1.6). Саме CLIF-C OF найбільш часто використовується в клінічних дослідженнях і була застосована нами в оцінці функціонального стану органів у декомпенсованих циротичних хворих.

Таблиця 1.6 – Шкала CLIF-C OF [37]

Орган/система	1 бал	2 бали	3 бали
Печінка: Білірубін (мг/дл)	<6.0	≥ 6.0 - <12.0	≥ 12.0
Нирки: Креатинін (мг/дл)	<1.5 >1.5 - <2.0	≥ 2.0 - <3.5	≥ 3.5 або гемодіаліз
Головний мозок: ПЕ Grade	ПЕ G0	ПЕ G1-2	ПЕ G3-4 або е/трахеальна ШВЛ
Коагуляція: Міжнародне Нормалізоване Співвідношення (МНС)	<2.0	≥ 2.0 - <2.5	≥ 2.5
Циркуляція: сер. артеріальний тиск (САТ) (мм.рт.ст.)	≥ 70	<70	вазопресори
Легені: PaO ₂ /FiO ₂ або SpO ₂ /FiO ₂	>300 >357	>100 - $\leq$ 200 >89 - $\leq$ 214	≤ 100 ≤ 89

Примітка: Жирним виділені критерії органної недостатності (3 бали). Оцінка в 2 бали - органна дисфункція (окрім функції нирок, де 2 бали - органна недостатність).

Як видно із таблиць 1.5 і 1.6 оцінка функцій 6-ти систем організму заснована на наступних критеріях [32]: 1) печінкова недостатність: сироватковий білірубін ≥ 12.0 мг/дл (≥ 205.2 мкмоль/л); печінкова дисфункція: сироватковий білірубін ≥ 1.2 - <12.0 мг/дл (≥ 20.52 - <205.2 мкмоль/л); 2) ниркова недостатність: сироватковий креатинін ≥ 2.0 мг/дл (≥ 176.84 мкмоль/л) [навіть невелике збільшення рівня креатиніну у циротичних хворих означає зниження фільтраційної спроможності нирок] або застосування діалізу; ниркова дисфункція при цирозі визначається при рівні сироваткового креатиніну 1.2 - 1.9 мг/дл (106.08 - 167.96 мкмоль/л); 3) «мозкова недостатність»: ПЕ G3 або G4 згідно West Haven (зниження свідомості нижче 8-7 балів за ШКГ потребує інтубаційної механічної ШВЛ [25, 1]); мозкова дисфункція – ПЕ G1-2; 4) коагуляційна недостатність: МНС > 2.5 і/або тромбоцити $\leq 20 \times 10^9/L$; коагуляційна дисфункція: МНС ≥ 1.1 - <2.5 ; 5) циркуляторна недостатність: використання будь-яких доз допаміну, добутаміну або терліпресіну (мкг/кг/мін); циркуляторна дисфункція: САТ ≥ 70 мм.рт.ст.; 6) дихальна недостатність: $PaO_2 / FiO_2 \leq 200$ (аналогічно до шкали SOFA) або $SpO_2 / FiO_2 \leq 200$; дихальна дисфункція: $PaO_2 / FiO_2 > 300$ -101, $SpO_2 / FiO_2 > 357$ -90. Згідно практичних рекомендацій EASL 2022 року [1], при оцінці ГХпечН термін «мозкова недостатність» слід замінити терміном «гостра енцефалопатія» (відповідно до рекомендацій щодо делірію [38]), яку не слід повністю ототожнювати з ПЕ, оскільки мозкова дисфункція в цих умовах може бути пов'язана з альтернативними причинами на тлі синдрому поліорганної недостатності (СПОН) [1].

Для прогностичної оцінки смертності при ГД цирозу без ГХпечН була розроблена шкала CLIF-C ADs (CLIF Consortium acute decompensation score) [39].

Так, у другому великому проспективному дослідженні PREDICT (PREDICTing Acute-on-Chronic Liver Failure), що виконане групою EASL-CLIF C (European Association for the Study of the Liver-Chronic Liver Failure Consortium) [40], окрім ГХпечН було додатково визначено інші 2 різновиди

декомпенсації ЦП: 1) нестабільний декомпенсований ЦП (повторні госпіталізації без розвитку ГХпечН); 2) стабільний декомпенсований ЦП (без повторних госпіталізацій і без розвитку ГХпечН [до 48% пацієнтів, що госпіталізуються з ГД цирозу]). Від стабільного декомпенсованого ЦП до ГХпечН істотно зростають маркери системного запалення, а також ризик короточасної смертності (з 0% до 53.7% відповідно), на основі чого висунуто припущення, що системне запалення відіграє головну роль у розвитку ГД, його рецидивів та еволюції до ГХпечН [41].

Окрім цього, D'Amico G. et al., 2022 окреслено «негостру декомпенсацію» цирозу, що характеризується поступовим формуванням асцити та/або легкої ПЕ Grade 1-2, та/або прогресуючої жовтяниці при нехолестатичному ЦП, і частіше є маніфестацією перших епізодів ускладнень цирозу. Напротивагу цьому, ГД цирозу переважно розвивається під час наступних епізодів, коли вже є історія попередніх декомпенсацій [39]. З часом стабільний декомпенсований ЦП може не відрізнятися від негострої декомпенсації ЦП, якщо зменшується виразність запалення.

Узагальнену схему розвитку можливих варіантів клінічного перебігу ЦП можна виразити в наступному вигляді (рис. 1.2).



Рисунок 1.2 - Можливі варіанти декомпенсації ЦП та їх перебіг [39].

1.3 Сучасні уявлення про патоморфологію і патогенез печінкової енцефалопатії

До сьогодні не існує чіткого уявлення про морфологічні зміни, характерні для ПЕ різної тяжкості і клінічного перебігу. З 2009 року опубліковані 3 міжнародні колективні монографії з печінкової енцефалопатії [10, 11, 12], в яких немає глав з патоморфології ПЕ у померлих хворих. До сьогоднішнього часу, у 1981-2025 роках, опублікована невелика кількість статей, в яких описані мікроскопічні зміни в ГМ хворих, померлих від тяжких захворювань печінки [13, 42, 14, 15, 16, 17, 18]. У 2012 році Thumburu K.K. et al. описали нейроморфологічні зміни в ГМ померлих хворих з ПЕ на тлі ГПечН, де було наголошено про генералізований набряк ГМ, що був зумовлений розповсюдженим цитотоксичним набряком астроглії в поєднанні з вазогенним механізмом [14]. Між тим, більша частина морфологічних досліджень описує секційні випадки ПЕ при ХПечН на тлі хронічних захворювань печінки, звідки відомо, що набрякові зміни ГМ при цих станах є менш виразними, але характерним є поява специфічної астроцитарної дистрофії у вигляді накопичення так званих астроцитів Альцгеймера 2 типу (AA2) – A2-астроцитозу. Це явище вважається найбільш значущою патогістологічною ознакою гепатогенного ураження ГМ. Загалом, A2-астроцитоз був описаний в різних відділах ГМ померлих хворих з цирозом печінки, гепато-церебральною дегенерацією Вільсона-Коновалова, при гострій печінковій недостатності, викликаній гострими запальними або некротичними патологіями печінки, а також у відповідних моделях експериментальних тварин [42, 17]. При цьому стані астроцити набувають специфічної набряклої форми з великим блідим просвітленим, вакуолізованим ядром з виразним ядерцем біля нуклеолеми та з крапковими скупченнями хроматину уздовж ядерної мембрани. Ядра AA2 оточені малопомітним обідком цитоплазми, які вдвічі перевищують розміри ядер сусідніх олігодендроцитів [17]. Поряд з цим, ультраструктурне дослідження секційного матеріалу кори ГМ померлих хворих з ПЕ виявило також атрофічні

зміни астроцитів зі стоншенням та зменшенням кількості нейропільних перисинаптичних астроцитарних відростків [18].

З результатів неврологічних і нейровізуалізаційних досліджень хворих на ЦП відомо про певну топічність уражень ГМ: найбільш виразні структурно-метаболичні зміни спостерігаються в таламусі та стріо-палідарній системі, мозочку, корі ВПГМ [13, 15, 16]. За даними магніто-резонансної томографії та окремих секційних досліджень при ПЕ визначали деструктивні зміни тканини та загибель нейронів у середніх і глибоких відділах кори великих півкуль головного мозку (ВПГМ), корі і зубчастому ядрі мозочку, підкіркових гангліях ГМ. Після епізодів печінкової коми спостерігали ламінарні некрози кори та губчасту дегенерацію і мієлопатію підкіркової білої речовини ВПГМ та молозистого тіла [15, 8]. При декомпенсованому цирозі печінки внаслідок дефіциту тіаміну у 30% спостерігали Верніке-подібні крововиливи в ядрах таламуса [8].

До теперішнього часу не розроблені особливості патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії, відсутні також чіткі патоморфологічні параметри печінкової енцефалопатії різного ступеня тяжкості.

Обмежені дані щодо морфологічних проявів ПЕ в сучасній літературі представлені переважно результатами вивчення експериментального впливу гіперамоніємії та інших нейротоксичних речовин на структурні компоненти нейрогліоваскулярного комплексу (НГВК) *in vivo* та *in vitro*. Об'єднуючим для цих досліджень є акцент на описанні світлооптичної і ультраструктурної картини набряклих астроцитів Альцгеймера 2 типу та астроцитів з ознаками астродистрофії, що також характеризувалися певною топічністю – переважно виявлялися в корі ВПГМ, таламусі, мозочку. В експериментальних моделях ГпечН електронномікроскопічно був виявлений розвиток набряку клітинних тіл і головних відростків та периваскулярних кінцевих ніжок астроцитів [18], а також церебральна вазоконстрикція, які зменшувалися під впливом зниження рівня аміаку та запалення [25]. В корі ГМ експериментальних мишей з азоксиметановою гострою печінковою недостатністю ультраструктурно

показані атрофічні зміни перисинаптичних астроцитарних відростків [18]. В моделі ХПечН показане значне зниження кількості дендритних шипіків пірамідних нейронів V шару кори ГМ та пірамідних нейронів зони СА1 гіпокампу, що корелювало з виразністю неврологічного дефіциту у піддослідних щурів [43]. В окремих дослідженнях у гризунів з ПЕ були відмічені апоптотичні зміни окремих нейронів кори ВПГМ, гіпокампу, таламусу, зубчастого ядра мозочку [44, 45, 46, 47].

Починаючи з роботи Джованні Баттіста Морган'ї 1765 р., що вперше описав випадок цирозу печінки з ПЕ, незважаючи на більш ніж 200-річні спроби, сформулювати єдину патогенетичну концепцію ПЕ поки ще не вдалося [48]. Існує декілька теорій розвитку ПЕ, які доповнюють одна одну. Головними умовами для ПЕ є зниження детоксикаційної функції печінки та/або портосистемне скидання крові з надходженням патогенних факторів кишкового та печінкового походження у мозкову тканину. В цілому, ПЕ розглядається як кінцевий результат накопичення в ГМ ряду речовин з потенційно нейротоксичною дією, серед яких найбільш активно розглядають: 1) аміак; 2) меркаптани; 3) коротколанцюгові жирні кислоти; 4) хибні нейротрансмітери (тирамін, фенілетіламін, фінілетіноламін, октопамін); 5) продукт метаболізму триптофана – серотонін (що має переважно інгібіторний ефект); 6) глутамін; 7) гамма-аміномасляна кислота (ГАМК); 8) феноли; 9) ароматичні амінокислоти; 10) марганець; 11) білірубін.

Найбільшою популярністю серед передбачуваних механізмів ПЕ є нейротоксична теорія аміаку. Починаючи з 1890-х років і протягом минулого століття було доведено безперечну роль аміаку як головного фактору нейротоксичності при ПЕ. Незважаючи на це, вплив рівня гіперамоніємії на вираженість ПЕ залишається неоднозначним, оскільки в частині клінічних досліджень, зокрема у хворих з ЦП, такої кореляції не було виявлено [49, 50].

Показано, що гіперамоніємія може мати не тільки печінковий генез, і розвиток енцефалопатії на її фоні має подібні з ПЕ механізми розвитку [51]. Найбільшу роль в синтезі аміаку грає кишечник, де це відбувається шляхом

бактеріального розщеплення амінокислот, амінів, пуринів, сечовини і під час метаболізму глутаміну в ентероцитах. Серед інших органів також важливими джерелами є печінка, м'язи і нирки. Практично весь аміак виводиться із організму з сечею у вигляді сечовини, що утворилася в перипортальних гепатоцитах печінки, та у вигляді солей іону амонія, які утворюються в каналцевому епітелії нирок [52]. Менша частка аміаку за участю глутамінсинтетази (GS) використовується в синтезі глутаміну в м'язах, перивенозних гепатоцитах та астроцитах ГМ, адже іонізована форма аміаку (NH_4^+ , амоній, англ.: *ammonium*) здатна розчинятися в ліпідах, тому дифузією легко проникає в ЦНС.

У разі печінкової дисфункції та/або портосистемного шунтування концентрація аміаку в системній циркуляції зростає до 10 разів, при цьому основне навантаження з його детоксикації перекладається на міоцити та астроглію. Втрата м'язової маси (саркопенія), що характерна для ЦП, додатково підвищує системну концентрацію аміаку і асоційована з поглибленням ПЕ. Також у хворих із ЦП при метаболічному ацидозі підвищується ниркова елімінація іонів амонію, досягаючи 70% від усього утвореного обсягу, а ниркова недостатність посилює ПЕ у хворих на ЦП [53].

В патофізіології печінкової енцефалопатії превалює концепція первинної дисметаболічної астрогліопатії, що обумовлює зрив мозкового гомеостазу і нейрональної дисфункції [25]. Вважається, що при ПЕ типу «А» астроцитарна дисфункція і цитотоксичний набряк астроцитів є головною причиною генералізованого набряку ГМ і неконтрольованої ВЧГ. Експериментально, а також частково – на аутопсійному матеріалі хворих з ГпечН і ХпечН було показано порушення експресії ключових астроцитарних білків: AQP4, GFAP, GS, SNAT5, GLT-1; EAAT2, GLYT-1, GLUT-1, бензодіазепінових рецепторів периферичного типу, іонних імпортёрів NKCC1 (Na-K-2Cl cotransporter 1) і $\text{NC}_{\text{Ca-ATP}}$ [54, 55]. Гіперамонемічні стани характеризуються підвищенням проникності ГЕБ до аміаку, що обумовлює мітохондріальну дисфункцію, оксидативно-нітрозативний стрес (ОНС),

порушення енергопродукції, зниження контролю іонного транспорту, порушення регуляції клітинного обсягу та клітинний гіперосмолярний набряк [56], що стає генералізованим набряком ГМ, адже астроглія є найбільшою популяцією серед його клітин і реалізує переважну більшість гомеостатичних функцій. Окрім вищесказаного аміак ослаблює ГЕБ, стимулює синтез прозапальних цитокінів [57], порушує нейротрансмісію та аномалії бензодіазепінового та ГАМК-ергічного тону [56, 58]. Аміак прямим чином інгібує ферменти циклу Кребса (α -кетоглутаратдегідрогеназу, ізоцитратдегідрогеназу та піруватдегідрогеназу), знижуючи ефективність окисного фосфорилювання та викликаючи енергетичну недостатність ГМ [48, 59]. Також у крові та СМР хворих з гострою декомпенсацією ЦП виявлено підвищення вмісту попередників ГАМК, що корелює з тяжкістю ПЕ та, ймовірно, сприяє підвищенню ГАМК-ергічного тону [60].

У нормі астроцити беруть участь у регуляції синаптичної передачі за допомогою Ca^{2+} -стимульованого вивільнення різних гліотрансмітерів, включаючи глутамат і АТФ, що відіграє важливу роль у гліальних потоках кальцію та пуринергічної модуляції нейрональної активності. Шляхом SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein receptor)-залежного механізму астроцити секретують АТФ у складі «щільно-ядерних» (dense-core) везикул, а далі АТФ за допомогою ектонуклеотидаз перетворюється на аденозин [61].

Обмін води, поряд з механізмами циркуляції спинномозкової та нейропіальної (інтерстиціальної) рідини, лежить в основі водного гомеостазу ГМ, де аквапорини – сімейство білкових трансмембранних каналів – відіграють одну з ключових ролей. Відомо, що в нормі з 14 підтипів аквапоринів в ГМ найбільше експресуються AQP1, AQP9 і AQP4, але в механізмах набряку ГМ, що розвивається при ГпечН і ХпечН, найбільше значення має AQP4 [48]. Його експресія найбільш висока в астроцитарних доменах, відповідальних за водний транспорт – периваскулярних і субменінгеальних кінцевих ніжках астроцитів – прикордонних областях між

мозковою тканиною та основними рідинними компартментами (кров та СМР). Дослідження експресії Aqr4 при ПЕ мають суперечливі результати, вказуючи як на значну гіперекспресію цього білка в експерименті, що було асоційовано з прогресуючим набряком мозкової тканини [62], так і на раннє зниження експресії мРНК ізоформ AQP4 M23 та M21, а також експресії білку AQP4 у мишей в азоксиметановій моделі ГПечН та в посмертній тканині мозку померлих з ПЕ Grade 3-4 [18]. Питання ролі AQP4 у розвитку набряку ГМ при ПЕ дискусійне, адже аквапорини беруть участь як в механізмах розвитку цитотоксичного набряку, так і в процесах дренажу інтерстиціальної рідини, являючи собою структурні компоненти глімфатичної системи ГМ [63].

Інтерстиціальна рідина мозкової тканини постійно оновлюється за рахунок притоку води та розчинених у ній речовин із кровотоку через капілярні ендотеліальні іонні канали [64], а також за рахунок проникнення води СМР з периартеріальних просторів Вірхова-Робіна, що сполучаються з субарахноїдальним простором [65]. Формування, дренажу, обміну та очищення інтерстиціальної рідини від токсинів та продуктів метаболізму є функціональними проявами так званої «глімфатичної системи» ГМ, де в механізмах водного трансцелюлярного транспорту переважає аквапориновий шлях [66].

Також останнім часом велика увага приділяється ролі ендотельної дисфункції у розвитку астроцитарного набряку при гіперамоніємії. Активація ендотеліальних рецепторів до IL-1 β та TNF α веде до синтезу додаткових цитокінів, що посилюють механізми набряку при ПЕ [67].

Результати експериментальних досліджень показали, що ПЕ характеризується розладом системи ауторегуляції мозкового кровообігу. У моделі ГпечН у щурів було показано, що гіперемія та підвищення швидкості мозкового кровотоку, яке характерне для ПЕ/гіперамоніємії, мало залежать від рівня концентрації глутаміну в СМР і розвиваються відразу після досягнення максимального рівня астроцитарного глутаміну та вмісту води у мозковій тканині, при цьому інгібітори NOS не попереджують підвищення мозкового

кровотоку та виникнення ВЧГ [48]. Це може вказувати на те, що NO-залежний механізм гіперемії не має належного значення у разі гіперамоніємії. Високий рівень мозкового кровотоку ускладнюється переміщенням води через ГЕБ в осмотично скомпрометовану мозкову тканину і посилює ВЧГ.

Незважаючи на довготривалий акцент на центральній ролі астрогліопатії в розвитку ПЕ, нещодавні дані вказують на те, що патологія ГМ при ПЕ насправді є результатом багатоклітинної дисфункції в мікрооточенні ЦНС на території гліонейроваскулярного комплексу – структурно-функціональної одиниці ГМ, до складу якого входять астроглія, мікроглія, нейрони, а також усі компоненти ГЕБ і іноді олігодендроцити [48]. Мікроглія як компонент ГНБК при гіперамоніємії та системного запалення стає реактивною [68, 69]. ІГХ дослідження ГМ мозку померлих хворих з хронічним алкоголізмом та ПЕ показали, що ранній сприятливий вплив мікрогліальної реактивації і проліферації в механізмах нейропротекції стає неефективним за умов тривалої гіперамоніємії і системного запалення [68]. IL-1 β , IL-6 і TNF- α відіграють важливу роль у розвитку ВЧГ та прогресуванні ПЕ [48]. Дані прозапальні цитокіни потрапляють у кров з пошкодженої печінки і потім надходять через ГЕБ в мозкову тканину, де також синтезуються реактивною мікроглією, наявність чого підтверджена в багатьох дослідженнях на моделях ХпечН гризунів (BDL і амонійна дієта) [64, 70, 43, 71]. Реактивна мікроглія при ПЕ характеризується підвищенням експресії як про-, так і протизапальних маркерів [68].

1.4 Клініко-морфологічні особливості сепсис-асоційованої енцефалопатії при абдомінальному сепсисі

Згідно третього міжнародного консенсусу 2016 року «Sepsis-3» сепсис визначається як життєво небезпечна органна недостатність, що спричинена нерегульованою реакцією організму на інфекцію, і може бути лише у двох клінічних формах: сепсис і септичний шок [7].

Септичний шок, що асоційований з ризиком летального наслідку більше 40%, клінічно встановлюється при необхідності введення вазопресорів для підтримки середнього артеріального тиску в межах 65 мм.рт.ст. і більше і рівні лактату плазми більше 2 ммоль/л (>18 мг/дл) за відсутності гіповолемії.

Для клінічної оцінки органної дисфункції у пацієнтів з підозрюваною або підтвердженою інфекцією використовується шкала SOFA (Sequential [Sepsis-related] Organ Failure Assessment) (табл. 1.7), підвищення показників якої на 2 пункти і більше вказує на наявність органної недостатності і підвищує ризик внутрішньогоспітальної летальності більш ніж на 10% [7].

Таблиця 1.7 – Шкала SOFA

Дихання. PaO₂/FiO₂ (мм.рт.ст)	SOFA бали
<400	1
<300	2
<200 і ШВЛ	3
<100 і ШВЛ	4
ЦНС. Шкала ком Глазго	SOFA бали
13-14	1
10-12	2
6-9	3
<6	4
Серцево-судинна система. Середній артеріальний тиск (САТ) або потреба у введенні вазопресорів	SOFA бали
САТ <70 мм.рт.ст	1
Доп. ≤5 або Доп. (будь-яка доза)	2
Доп. >5 або Епі. ≤0,1 або Нор. ≤0,1	3
Доп. >15 або Епі. >0,1 або Нор. >0,1	4
Печінка. Білірубін (мг/дл) [мкмоль/л]	SOFA бали
1,2-1,9 [>20-32]	1
2,0-5,9 [33-101]	2
6,0-11,9 [102-204]	3
>12,0 [>204]	4
Коагуляція. Тромбоцити x 10³/мкл	SOFA бали
<150	1
<100	2
<50	3
<20	4
Креатинін (мг/дл) [мкмоль/лL] (або діурез)	SOFA бали
1,2-1,9 [110-170]	1
2,0-3,4 [171-298, 305]	2
3,5-4,9 [300-440] (or <500 мл/д)	3
>5,0 [>440] (or <200 мл/д)	4

Для пацієнтів, що надійшли у ВІТ з підозрюваною інфекцією, для швидкого прогнозування перебігу захворювання використовується скорочений варіант шкали SOFA (quick SOFA, qSOFA), що включає діагностику порушеної свідомості, систолічний тиск ≤ 100 мм.рт.ст. та частоту дихання ≥ 22 /хв.

Сучасне клініко-неврологічне і патологоанатомічне визначення сепсис-асоційованої енцефалопатії

У відповідності до сучасних уявлень САЕ визначається як широкий спектр потенційно оборотних когнітивних проявів у хворих на сепсис: від зниження уваги, порушення циркадного ритму, пам'яті, мовлення, орієнтації, появи фокального неврологічного дефіциту, судомної активності, розладів сприйняття (маячно-галюцинаторний комплекс) до зниження свідомості і коматозного стану [2, 3]. Окрім САЕ, цей комплекс симптомів має синонімічні назви: «делірій, асоційований із сепсисом» та «дисфункція мозку асоційована з сепсисом» [72]. САЕ є одним із найчастіших (ускладнює сепсис до 70% випадків) [3] і ранніх компонентів СПОН при сепсисі, що вражає до 20%-30% пацієнтів медичних відділень, а також є загальновизнаним фактором, що визначає клінічну еволюцію, прогноз і результат сепсису [7], підвищуючи ризик смерті на 10% [73].

Діагностичне та клінічне вживання терміну САЕ залишається не стандартизованим через поліморфізм симптоматики і патологічних процесів, що спостерігаються в ГМ, а також об'єктивні труднощі диференціальної діагностики з іншими видами енцефалопатій, що спостерігаються у критичних хворих зі СПОН. Слід зазначити, що більшістю авторів САЕ не вважається тотожним поняттю «септичної енцефалопатії», оскільки останнє відображає безпосереднє інфікування тканини ГМ [74].

Концептуально САЕ розглядається як інфекційно-неінвазивне враження ГМ в умовах сепсису, що клінічно проявляється делірієм і зниженням свідомості у септичних хворих нижче 15 балів за шкалою ком Глазго за виключенням усіх інших факторів враження ЦНС [75]. САЕ може

спостерігатися як при септицемії, так і при септикопемії без гнійного враження ГМ. В той же час, Singer B. et al. [4] методом культурального ПЦР-генного секвенування мозкової тканини довели наявність життєздатних бактерій кишкового типу в ГМ гризунів в CLP-моделі абдомінального сепсису та в постмортальному ГМ септичних хворих без метастатичного абсцедування, що обумовлює певну невизначеність патогенетичних факторів ініціації САЕ.

З урахуванням того, що на сьогодні не існує стандартизованої пітофізіологічної концепції САЕ, патологоанатомічне визначення сепсис-асоційованої енцефалопатії також відсутнє, в тому числі у вітчизняній інтерпретації цього стану. В МКХ-10 САЕ (навіть у більш широкому понятті «септична енцефалопатія») не представлена, але може бути зашифрована кодом A41.9 (Сепсис неуточнений) з додатковим кодом G93.4 («Енцефалопатія, неуточнена»). В МКХ-11 САЕ також не має специфічного коду і має бути зашифрована комбінованим чином: код виду сепсису (1G40-1G41) з додаванням коду неврологічної маніфестації, наприклад, «Енцефалопатія, не класифікована в інших рубриках, енцефалопатія БДВ» (8E47).

Абдомінальний сепсис і його причини

Згідно рекомендацій Товариства з Ургентної хірургії-2017 (WSES, World Society of Emergency Surgery) по менеджменту інтраабдомінальної інфекції-2017 абдомінальний сепсис являє собою одну з найчастіших форм сепсису і є проявом системної запальної відповіді організму на інтраабдомінальну інфекцію [76]. Ускладнена інтраабдомінальна інфекція з розвитком перитоніту є пусковим фактором розвитку абдомінального сепсису. Згідно з даними WSES (WISS Study-2015), основними джерелами інтраабдомінальної інфекції виступають наступні (табл. 1.8) [76]:

Таблиця 1.8 – Джерела інтраабдомінальної інфекції відповідно до WISS Study-2015

Джерела інфекції	Кількість (%)
Апендицит	1553 (34.2)
Холецистит	837 (18.5)
Постопераційний	387 (8.5)
Недивертикулярна перфорація товстої кишки	269 (5.9)
Гастро-дуоденальні перфорації	498 (11)
Дивертикуліт	234 (5.2)
Перфорація тонкої кишки	243 (5.4)
Інші	348 (7.7)
Запалення в малому тазі	50 (1.1)
Посттравматична перфорація	114 (2,5)
Загалом	4533 (100)

1.5 Патоморфологічна характеристика сепсис-асоційованої енцефалопатії і сучасні уявлення про її патогенез

Морфологічний субстрат САЕ залишається невизначеним, а патоморфологічна діагностика – нерозробленою. Із даних літератури морфологічні прояви САЕ здаються досить неспецифічними. Через патологоанатомічну невизначеність критеріїв САЕ інколи її ототожнюють з «септичним енцефалітом», коли відбувається інвазія системної інфекції безпосередньо в тканину ГМ через пошкоджені мозкові бар'єри з розвитком мікроабсцедування. Останнє спостерігається при септикопіємії та септичному ендокардиті, коли найбільш частими морфологічними знахідками в ГМ виступають септико-емболічні метастатичні абсцеси, менінго-енцефаліт, гнійний вентрикуліт, дрібні інфаркти, петехіальні та дрібновогнищеві крововиливи, васкуліт, ознаки синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання (ДВЗ) з фібринозними мікротромбами, що асоційовано з мультифокальною некротичною лейкоенцефалопатією та селективним некрозом та апоптозом нейронів кори ВПГМ, гіпокампу, мозочку [77, 9]. Патогенетичною причиною вказаних пошкоджень ГМ частіше є мікробна емболія та вогнища ішемічного енцефалолізису в поєднанні з утворенням абсцесів (септико-емболічний енцефаліт) [78, 4].

Першочергове значення в септичному танатогенезі має синдром поліорганної недостатності, механізми якого при сепсисі пов'язані з неконтрольованою системною запальною відповіддю та змінами системної гемодинаміки у вигляді вазодилатації та гіпотензії, що призводить до порушень тканинної мікроциркуляції, активації каскаду коагуляції з переважанням прокоагулянтних факторів і розвитку системної ішемії, гіпоксії, некротичної та апоптотичної загибелі клітин, що в кінцевому підсумку призводить до органної дисфункції та недостатності [79]. Патогенетично, септична мозкова дисфункція розглядається як «змішана енцефалопатія», адже часто розвивається на тлі поєднання циркуляторної, дихальної, гепато-ренальної недостатності, що супроводжуються циркуляторною, респіраторною та тканинною гіпоксією, системним накопиченням ендогенних метаболітів (у тому числі аміаку), мікробною токсинемією, електролітним дисбалансом, зміною осмолярності та білкового складу крові, тощо [79]. Існує пряма залежність між віком хворих на сепсис і тяжкістю захворювання, а також частотою появи САЕ [80], що пояснюється недостатністю імунної відповіді та частими супутніми патологіями, такими як атеросклероз, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет тощо, отже, системні запальні агенти часто стикаються з уже скомпрометованим мозком і його бар'єрами.

В одиничних публікаціях, присвячених нейроморфологічним дослідженням САЕ в секційному матеріалі померлих хворих на сепсис найбільш часто описуються морфологічні зміни в найбільш чутливих до ішемії та нейротоксичності відділах ГМ (кора ВПГМ, зубчаста звивина гіпокампу, стовбур мозку, мозочок) у вигляді селективного некрозу та апоптозу нейронів, вогнищевої проліферації астроцитів і мікроглії, дифузного, переважно периваскулярного набряку нервової тканини з пошкодженням ГЕБ і реактивним нейрозапаленням [77, 9]. Схожі морфологічні дані було виявлено в результаті експериментальних досліджень САЕ з використанням широко вживаної моделі полімікробного абдомінального сепсису у гризунів – перев'язка та пункція сліпої кишки (cecum ligation and puncture, CLP) [9].

Сучасна патофізіологічна концепція САЕ включає ряд факторів, серед яких найбільш вагомими вважаються дифузне нейрозапалення ГМ, ішемічне пошкодження, нейромедіаторний дисбаланс з ексайтотоксичністю та метаболічні зсуви в нервовій тканині [79]. В реалізації цих умов першорядне значення має системне і церебральне зростання концентрації цитокінів та інших прозапальних молекул [81], пошкодження ГЕБ і підвищення його проникності [82], дисфункція і реактивація ендотелію мозкових судин [83], оксидативний стрес [84], гемодинамічні системні і церебральні порушення [85], синаптична дисфункція і нейротрансмітерний дисбаланс [86], зміна в рівнях амінокислот, порушення кальцієвого гомеостазу [79], мітохондріальна недостатність [87, 88], проникнення бактеріальних ендотоксинів через пошкоджений ГЕБ [89], реактивні зміни нейроглії, некроз і апоптоз нейронів [9], цитотоксичний і вазогенний набряк нервової тканини [2].

Експериментально показано, що системне запалення індукує роз'єднання компонентів ГНБК, зумовлені ендотеліальною недостатністю, гіперекспресією астроцитами AQP4 з подальшим їх набряком, дисфункцією білкових комплексів межендотеліальних щільних контактів occludin, ZO-1, ZO-2, claudin-3, claudin-5 і підвищенням проникності ГЕБ [88].

Особливу роль в патогенезі САЕ відіграє астроглія, яка відповідальна за іоностаз, баланс рідини, регуляцію функціональної гіперемії, нейроногенез, підтримку синаптичного зв'язку та синаптопластичності, контроль гомеостазу основних нейромедіаторів, таких як глутамат, ГАМК, норадреналін, гліцин і аденозин та забезпечення нейронів попередниками нейромедіаторів [90]. У зв'язку з цим при реактивному астрогліозі, що часто є наслідком системної інфекції, при пошкодженні судинних астроцитарних відростків і астроцитарного сінцитію розвивається нейротрансмітерний дисбаланс. З іншого боку, високі рівні цитокінів, NO, простагландинів при сепсисі змінюють характеристики нейротрансмісії, особливо β -адренергічної, центральної мускаринової, глутаматергічної, моноамінергічних систем, ГАМК-ергічних синапсів, кортикотропін-релізінг фактору, вазопресину,

АКТГ, нейротрофічних факторів [86]. Аберрантна нейротрансмісія є однією з провідних ознак при САЕ, пов'язаних з психічним, когнітивним станом і рівнем свідомості хворих. Дисбаланс нейромедіаторів у мозку при САЕ багато в чому пов'язують зі зменшенням у крові рівня амінокислот з розгалуженим ланцюгом разом і відносним збільшенням вмісту ароматичних амінокислот зі збільшенням концентрації останніх у ГМ [91]. Надлишок ароматичних амінокислот у плазмі, ймовірно, є наслідком посиленого м'язового протеолізу [91] і зниженого печінкового кліренсу, викликаного печінковою недостатністю при сепсисі [92]. Втрата цілісності ГЕБ також сприяє збільшенню рівня ароматичних амінокислот (тирозин, фенілаланін і триптофан) у мозку при САЕ, які можуть діяти як хибні нейромедіатори та знижувати синтез справжніх нейромедіаторів, таких як дофамін, норадреналін і серотонін при незмінному рівні ГАМК [93], що також наближає механізми САЕ до гепатогенної нейроінтоксикації.

Реактивний церебральний астрогліоз, притаманний сепсису, характеризується генетичним та морфо-функціональним ремоделюванням астроцитів – вони стають гіпертрофованими, збільшують експресію GFAP і vimentin, змінюють експресію рецепторів і свій секретом, посилюють або втрачають свої функції [94]. Ці астрогліотичні зміни змінюються залежно від характеру та тяжкості пошкодження і регулюються складною між- та внутрішньоклітинною передачею сигналів. За ступенем тяжкості виділяють наступні види реактивного астрогліозу: 1) легкий/помірний; 2) важкий дифузний; 3) важкий із утворенням компактного рубця.

Нейропротективна дія реактивного астрогліозу представлена обмеженням поширення патологічних агентів, ізоляцією локусів реплікації патогенів та стриманням інвазії імунних клітин за рахунок створення «фізичних» та «молекулярних» бар'єрів [95]. Фізичний бар'єр створюється астроцитами, що прилягають до вогнища ураження; вони зазнають гіпертрофії, поляризації і подовження та збираються в пучки (або частокони) перпендикулярно межі ураження і паралельно їй – на відстані від вогнищ

ушкодження. Вони секретують компоненти позаклітинного матриксу протеоглікани хондроїтинсульфату, бревікан, агрекан, тенасцин С, фібронектин і ламінін та збільшують щільність щілинних контактів у астроцитарному сінцитії, укріплюючи бар'єри [95]. Молекулярний або функціональний астроцитарний бар'єр визначається експресією рецепторів до DAMPs і PAMPs, які включають Toll-подібні рецептори (TLR), нуклеотид-зв'язувальні домени олігомеризації (NOD)-подібні рецептори (NLR), дволанцюгову РНК-залежну протеїнкіназу, рецептори-акцептори, манозний рецептор, компоненти комплементу та медіатори CXCL10, CCL2, iL-6, фактор активації В-клітин сімейства TNF (BAFF) [96].

Астроцити індукують та/або регулюють нейрозапалення за допомогою секреції прозапальних і протизапальних факторів. Серед останніх – це 1) цитокіни та фактори росту: TGF- β , IL-6, IL-10, IL-11, IL-19, IL-27, SHH; 2) внутрішньоклітинні сигнальні фактори: STAT3, A20, Gal9, CRYAB; 3) рецептори: рецептори до естрогену- α , рецептори дофаміну D2 (DRD2), глікопротеїну 130 (GP130); 4) малі міжклітинні ефекторні молекули: ретиноева кислота; мікроРНК: miR-181, Dicer1, miR-17-5p. Прозапальні фактори представлені: 1) хемокінами: моноцитарним хемоаттрактантним білком-1 (MCP-1/CCL2), CCL5 (RANTES), CCL7, CCL8, CCL12, CXCL1, CXCL8 (IL-8), CXCL9, IFN- γ -індуцибельний білок-10 (IP-10/CXCL10), CXCL12, CXCL16; 2) цитокіни та фактори росту: IL1- β , IL-6, IL-11, IL-15, IL-17, TNF- α , BAFF, VEGF; 3) внутрішньоклітинні сигнальні фактори: NF- κ B, SOCS3, Act1; 4) малі міжклітинні ефекторні молекули: PGE та NO [90].

Під час сепсису астроцити переважно секретують прозапальні цитокіни і хемокіни, активуючи рецептори як на гематогенних макрофагах, так і на мікроглії для рекрутингу їх до вогнища ураження [97]. Так, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (G-CSF) є фактором росту мікроглії, а CCL11 сприяє міграції мікроглії, активації її нейротоксичних фенотипів та стимулює мікроглію до синтезу ROS/RNS, що індукують апоптоз нейронів у вразливих відділах мозку [98, 99].

В умовах сепсису окрім відомих прозапальних системних цитокінів IL-1 β та IL-6, через пошкоджений ГЕБ бактеріальні компоненти та інші прозапальні молекули також активують мікроглію – через рецептори TLR-2, TLR-4 і TLR-9 і NOD2 [100], а взаємодія мікрогліального трансмембранного рецептору CX3CR1 з нейрональним CX3CL1 опосередковує функціональний фенотип мікроглії та її гіперактивацію [101].

Патоморфологічні дослідження кори ГМ померлих септичних хворих, проведені командою Lemstra A.W. et al., довели гіперекспресію мікрогліального CD68, а також появу амебоїдного морфотипу мікроглії. Мікроглія експресує рецептори до глутамату і ацетилхоліну та взаємодіє між собою для підтримки нормальної функції нейронів. Дисбаланс глутамату і ацетилхоліну, що спостерігається під час сепсису, змінює функціональний стан мікроглії та реципрочно змінює функцію нейронів [98]. За даними Wang S. et al., регулятивний вплив реактивної мікроглії на функцію нейронів через рівні нейромедіаторів був продемонстрований на посмертному матеріалі ГМ хворих з делірієм, у яких спостерігався значно підвищений рівень експресії мікрогліальних CD68 і HLA-DR [102].

Патологія ГЕБ при системному запаленні може бути представлена деструктивним і недеструктивним варіантами, а також їх поєднанням. Недеструктивний тип обумовлений підвищенням проникності ГЕБ за рахунок зміни функцій рецепторів і транспортерів ендотелію та астроцитів, зміни продукції цитокінів [98]. Деструктивний тип проявляється структурними змінами, що включають деградацію глікокаліксу, втрату щільних контактів, індукцію ендотеліальних фенестр, збільшення везикулярного транспорту та апоптоз ендотеліоцитів, пошкодження термінальної глії, які обумовлені гематогенними MMPs, NO-ROS та простаноїдами [98].

В останні роки важливим фактором нейроагресії в умовах сепсису розглядається гіперамоніємія, яка сама по собі може викликати так звану гіперамонійну енцефалопатію і може бути спричинена синдромом поліорганної недостатності, специфічною інфекцією, побічною дією окремих

фармпрепаратів та іншими факторами [103, 104]. Частим компонентом септичного СПОН, що найімовірніше спричинює гіперамоніємію, є сепсис-асоційоване пошкодження печінки (САПП), що клінічно маніфестує у вигляді холестазу, гіпоксичного гепатиту і коагулопатії та супроводжується зниженням синтетичної, детоксикаційної та видільної функцій печінки [105, 92]. В нещодавніх дослідженнях гіперамоніємія була запропонована в якості нового біомаркери сепсису, а також незалежного фактору несприятливого прогнозу для септичних хворих [106, 107] у тому числі хворих з САЕ, в яких не було визначено асоціації з печінковою недостатністю [104].

Патогенез і морфогенез змін ГНБК, що відбуваються за умов САЕ, поєднаної з нейротоксичним впливом печінкової недостатності, в літературі не описані, також відсутні роботи, присвячені патоморфологічному визначенню рівня тканинного аміаку в ГМ та реактивних астрогліальних трансформацій у померлих септичних хворих.

Резюме

Печінкова і сепсис-асоційована енцефалопатії грають ключову роль в прогнозуванні перебігу цирозу печінки та сепсису та мають суттєве значення в танатогенезі хворих при цих захворюваннях. Обидва види енцефалопатій розвиваються на тлі органної або поліорганної недостатності, вважаються «токсично-метаболічними енцефалопатіями». Патоморфологічні особливості, морфогенез і патологоанатомічна діагностика ПЕ та САЕ залишаються нерозробленими, адже морфологічні дослідження цих станів проведено переважно в умовах тваринних моделей.

В обмеженій кількості публікацій вибірково описано світлооптичні зміни окремих компонентів (переважно астроцитів) гліонейроваскулярного комплексу ГМ померлих хворих з ПЕ, але цих даних недостатньо для розробки патоморфологічної діагностики цієї патології. Незважаючи на те, що в літературі є окремі згадування найбільш вразливих відділів ГМ хворих на ПЕ при хронічних захворюваннях печінки, ці дані спираються перш за все на результати нейровізуалізаційних досліджень. Морфогенетичної розшифровки

та підтвердження згадуваних змін в ГМ померлих хворих наразі не існує, також морфологічно не доведеним залишається їх зв'язок з підвищенням рівня тканинного аміаку в ГМ. Важливим є з'ясування взаємозв'язків між органною недостатністю при прогресуванні цирозу печінки та виразністю морфологічних змін ГНБК та розробка алгоритму посмертної оцінки прижиттєвих клініко-лабораторних даних померлих хворих для патологоанатомічної діагностики ПЕ різного ступеню тяжкості, в тому числі початкових, клінічно-негативних форм.

В літературі відсутні дані щодо морфологічних проявів та параметрів патологоанатомічної діагностики САЕ без гнійних уражень ГМ в секційному матеріалі померлих хворих на сепсис. Також, враховуючи частий розвиток сепсис-асоційованого пошкодження печінки при сепсисі, важливим є з'ясування патоморфологічних особливостей САЕ в цих умовах. Цікавим є порівняння морфологічних змін ГМ при важкій ПЕ Grade 3-4 у складі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності та при сепсис-асоційованій енцефалопатії, що мають схожі клінічні умови свого розвитку.

Незважаючи на достатню кількість експериментальних досліджень ПЕ та САЕ на тваринних моделях та клітинних культурах, цілісне уявлення про морфогенез, а також ультраструктурна патологія ГНБК ГМ в умовах гострих форм ПЕ та САЕ залишаються не окресленими.

Результати даного розділу були опубліковані в наступних роботах [108-111].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана на кафедрі патологічної анатомії і судової медицини Запорізького державного медико-фармацевтичного університету – ЗДМФУ (до 2023 р. – Запорізький державний медичний університет). Патологоанатомічні розтини померлих хворих проведені на клінічній базі кафедри в «Запорізькому обласному патологоанатомічному бюро» ЗОР (з 2020 р. – КУ «Запорізьке обласне бюро судово-медичної експертизи з патогістологічними лабораторіями» ЗОР). Експериментальні дослідження на лабораторних білих щурах виконані в Навчально-науковому медико-лабораторному Центрі (ННМЛЦ) ЗДМФУ. Патогістологічні (ПГ), гістохімічні (ГХ), імуногістохімічні (ІГХ) дослідження секційного і експериментального матеріалу виконані в лабораторії патогістологічної і імуногістохімічної діагностики Навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка ЗДМФУ», електронномікроскопічні дослідження (ЕМ) – в лабораторії електронної мікроскопії ЗДМФУ.

2.1 Матеріал дослідження

Дисертація виконана на матеріалі патологоанатомічних досліджень 160 померлих хворих, що страждали на неалкогольний цироз печінки (90 осіб), на абдомінальний сепсис без гнійного враження ЦНС (40 осіб) і на серцево-судинну патологію (30 осіб групи умовного контролю), а також на матеріалі 40 лабораторних білих щурів лінії Вістар (30 експериментальних тварин і 10 щурів контрольних груп).

2.1.1 Секційний матеріал

У всіх померлих осіб проведено ретроспективний аналіз історій хвороб з акцентом на анамнез та клініко-лабораторні особливості перебігу хвороби, що стало основою виділення певних груп і підгруп дослідження.

2.1.1.1 Печінкова енцефалопатія при цирозі печінки у померлих хворих

Печінкова енцефалопатія досліджена в секційному матеріалі 90 померлих хворих на неалкогольний цироз печінки, які склали групу «Печінкова енцефалопатія при цирозі печінки» («ПЕ при ЦП»). Вік померлих 46-83 рр. [середній вік 65.06 ± 10.47 рр: 56 (62%) чоловіків та 34 (38%) жінок]. Ступінь тяжкості ЦП за шкалою Чайлд-П'ю (ШЧП) [31] визначався як компенсований, субкомпенсований і декомпенсований, а ПЕ розподілялася за шкалою West Haven [26, 25] на приховану ПЕ (без явної клінічної симптоматики), ПЕ легкого ступеня Grade1-2 (G1-2) і ПЕ важкого ступеня Grade3-4 (G3-4).

Критерії включення в групу «ПЕ при ЦП»:

- 1) патогістологічно підтверджений ЦП за результатами патологоанатомічного розтину;
- 2) наявність в історії хвороби клініко-лабораторних показників хронічного захворювання печінки з печінковою дисфункцією/недостатністю за рівнем загального білірубіну (мкмоль/л), АСТ (мкмоль/(ч*л), АЛТ (мкмоль/(ч*л), протромбінового індексу (%), тромбоцитів ($\times 10^9$ /л), загального білку (г/л), альбумінів (г/л);
- 3) наявність в історії хвороби лабораторних показників асоційованих порушень: анемії – за кількістю еритроцитів ($\times 10^{12}$ /л), рівнем гемоглобіну (г/л); порушень функції нирок – за рівнем креатиніну (мкмоль/л) і сечовини (ммоль/л); електролітних зрушень – за рівнем в плазмі крові Na^+ (ммоль/л) і K^+ (ммоль/л);
- 4) наявність в історії хвороби лабораторних ознак системного запалення і ендогенної інтоксикації: кількість лейкоцитів ($\times 10^9$ /L) з лейкоцитарною формулою та лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ, ум. од.) за формулою Я. Я. Кальф-Каліфа [112];
- 5) наявність в клінічному/патологоанатомічному діагнозі тяжкості ЦП за ШЧП і/або достатня кількість клініко-лабораторних даних для самостійної

градації захворювання: показників загального білірубіну, альбуміну, ПТІ, асцити, клінічних проявів епізодичної або персистуючої ПЕ G1-4.

Критерії виключення з групи «ПЕ при ЦП»:

- 1) патогістологічно не підтверджений ЦП за результатами патологоанатомічного розтину;
- 2) відсутність/недостатність клініко-лабораторних показників хронічного захворювання печінки з печінковою дисфункцією/недостатністю та інформації щодо проявів печінкової енцефалопатії, перелічених у критеріях включення;
- 3) наявність у померлого хворого алкоголізму;
- 4) злоякісні новоутворення печінки;
- 5) наявність у померлого хворого ендокринної та/або запальної системної і токсико-метаболічної патології первинно позапечінкового генезу;
- 6) гостра печінкова недостатність на тлі гострих захворювань печінки;
- 7) будь-яка інша гостра церебральна патологія судинного, первинно-запального, пухлинного, септикопіємічного або хронічного нейродегенеративного генезу.

З 90 секційних спостережень у 64 (71%) випадків ЦП мав вірусний генез; у 9 (10%) випадках ЦП верифікований як вторинний біліарний; у 6 (7%) випадках – як застійний; у 4 (4%) випадках – як змішаний; у 7 (7%) випадках – як криптогенний ЦП (рис. 2.1).

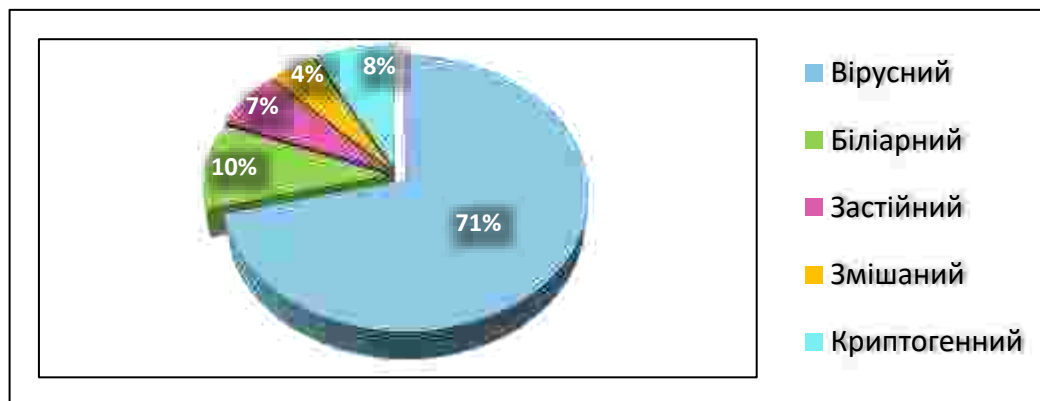
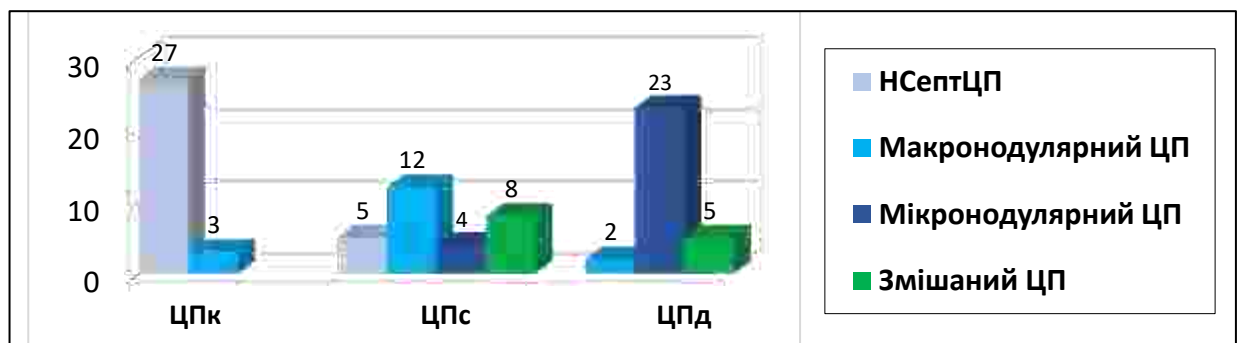


Рисунок 2.1 – Розподіл секційних спостережень ЦП за етіологічною ознакою.

З урахуванням ретроспективної клініко-лабораторної оцінки тяжкості ЦП за шкалою Чайлд-П'ю секційні спостереження групи «ПЕ при ЦП» розподілені 3 підгрупи: підгрупа «ЦПк» - цироз печінки компенсований (без явних клінічних ознак ПЕ – G0) 30 випадків; підгрупа «ЦПс» - цироз печінки субкомпенсований (з легкою ПЕ G1-2) 30 секцій; підгрупа «ЦПд» - цироз печінки декомпенсований (з важкою ПЕ G3-4) 30 секційних спостережень.

Серед 30 померлих хворих підгрупи «ЦПк» було 8 (27%) жінок і 22 (73%) чоловіків віком від 46 до 68 р.р. (середній вік 59.20 ± 8.35 р.р.). ЦП у 27 (90%) померлих хворих цієї підгрупи був неповним септальним цирозом, та у 3 (10%) випадках – макронодулярним цирозом (рис. 2.2), і в патологоанатомічних діагнозах фігурував як супутня або фонова патологія.

Серед 30 померлих хворих підгрупи «ЦПс» було 14 (47%) жінок і 16 (53%) чоловіків віком від 47 до 81 р.р. (середній вік 62.36 ± 9.21 р.р.). В цій підгрупі ЦП в патологоанатомічному діагнозі фігурував як ускладнення основного захворювання, супутня або фонова патологія і морфологічно був представлений макронодулярним 13 (43%), мікронодулярним 4 (13%), змішаним 8 (27%) і неповним септальним 5 (17%) цирозом (рис. 2.2).



Примітка. ЦП – цироз печінки; НСептЦП – неповний септальний ЦП.

Рисунок 2.2 – Розподіл (кількість випадків/підгрупу) морфологічних типів цирозу печінки в підгрупах померлих хворих «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд».

Серед 30 померлих хворих підгрупи «ЦПд» було 12 (40%) жінок і 18 (60%) чоловіків віком від 54 до 83 рр. (середній вік 68.10 ± 7.85 рр). В цій підгрупі ЦП був ускладненням основного захворювання або фігурував як супутнє конкуруюче/поєднане захворювання і морфологічно був

представлений мікронодулярним 23 (77%), макронодулярним 2 (7%) і змішаним 5 (17%) варіантом (див. рис. 2.2).

З підгрупи «ЦПд» була сформована додаткова підгрупа «ГХПечН» із 14 померлих хворих з ПЕ G3 і 7 померлих коматозних хворих з ПЕ G4 (всього $n = 21$), у яких на фоні швидкого розвитку асцити і/або жовтяниці, гастроінтестинальної кровотечі, запальних інфекційних ускладнень (гостра декомпенсація ЦП) в стаціонарі виникли ознаки поліорганної дисфункції/недостатності (печінкової і/або ниркової, циркуляторної, легеневої, коагуляційної), а також системна запальна реакція), що відповідало критеріям синдрому гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності (ГХПечН) за визначенням EASL-CLIF [37]. Серед 21 померлого підгрупи «ГХПечН» було 8 (38%) жінок і 13 (62%) чоловіків віком 55-83 рр. (середній вік 60.00 ± 7.07 рр.).

2.1.1.2 Сепсис-асоційована енцефалопатія у померлих хворих

Групу «Сепсис-асоційована енцефалопатія» («САЕ») склали 40 померлих хворих віком 60-75 рр. [середній вік 66.5 ± 4.94 рр: 24 (60%) чоловіків та 16 (40%) жінок], що страждали на абдомінальний сепсис і септичний шок з проявами печінкової дисфункції/недостатності та з іншими проявами ПОН, оціненими за шкалою SOFA [113].

Критерії включення в групу «САЕ»:

- 1) патоморфологічно підтверджений сепсис без гнійних уражень ЦНС за результатами патологоанатомічного розтину;
- 2) наявність в історіях хвороби та/або в патологоанатомічних заключеннях секційних карт діагнозу абдомінальний сепсис;
- 3) наявність в історіях хвороби клініко-лабораторних ознак сепсису, сепсис-асоційованої енцефалопатії (зниження свідомості нижче 15 балів за ШКГ) та іншої органної дисфункції/недостатності: за результатами бактеріологічного посіву крові або іншого біологічного матеріалу; за рівнем ШОЕ; за лейкоцитарним індексом інтоксикації (ЛІІ, ум. од.) за формулою Я.

Я. Кальф-Каліфа; за протромбіновим індексом (%); за кількістю лейкоцитів ($\times 10^9/L$) з лейкоцитарною формулою; за кількістю еритроцитів ($\times 10^{12}/L$) і тромбоцитів ($\times 10^9/L$); за рівнем гемоглобіну (г/л); загального білірубіну (мкмоль/л), АСТ (мкмоль/(ч*л), АЛТ (мкмоль/(ч*л); креатиніну (мкмоль/л), сечовини (ммоль/л).

4) наявність в історії хвороби результатів вимірювань рівня артеріального тиску, даних фізикального обстеження та даних про стан дихальної функції, даних про використання або не використання штучної вентиляції легень (ШВЛ).

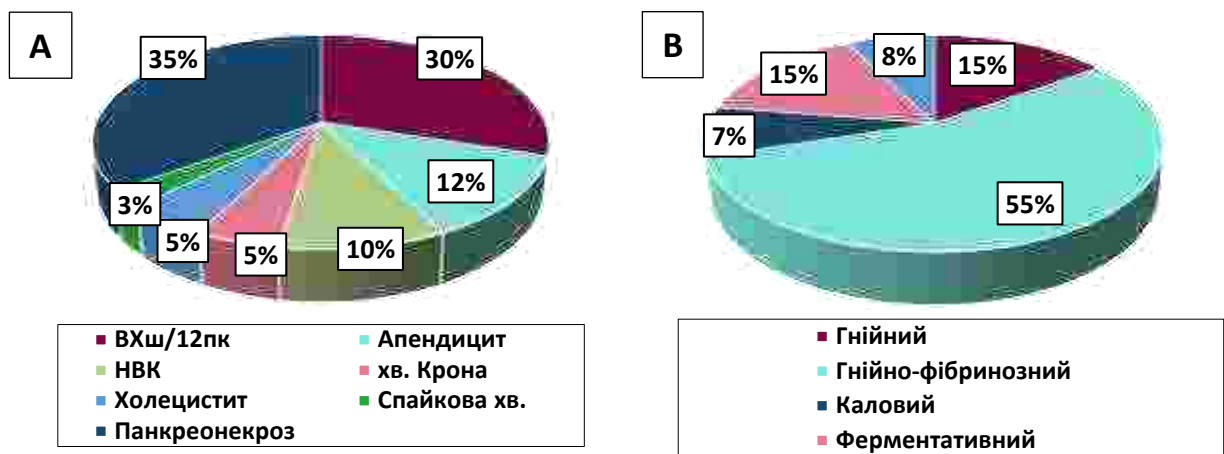
Критерії виключення з групи «САЕ»:

- 1) патоморфологічно не підтверджений сепсис;
- 2) септичний менінгоенцефаліт;
- 3) будь-яка інша гостра судинна, первинно-запальна церебральна патологія, а також церебральна патологія пухлинного або нейродегенеративного генезу;
- 4) відсутність/недостатність клініко-лабораторних даних, що перелічені у критеріях включення;
- 5) наявність у померлого пацієнта алкоголізму, хронічних захворювань печінки і нирок, злоякісних новоутворень;
- 6) наявність іншої ендокринної та/або токсико-метаболічної патології, не пов'язаної з сепсисом.

Хворі знаходилися на стаціонарному лікуванні напротязі від 1 до 32 діб з розвитком септичного ускладнення за 1-14 діб до летального наслідку. У 36 з 40 (90%) випадків сепсис перебігав у формі септицемії і лише у 4 з 40 (10%) випадків як септикопіємія без гнійного ураження ГМ. У 18 з 40 (45%) хворих сепсис набув клінічної форми септичного шоку.

Основні захворювання, ускладнення яких призвели до розвитку абдомінального сепсису, були представлені перфоративними, пенетруючими та геморагічними ускладненнями виразкової хвороби шлунку і 12-палої кишки (n = 12; 30%), а також запальними захворюваннями кишківника (n = 14; 35%):

1) деструктивні форми апендициту, $n = 5$; 12%; 2) неспецифічний виразковий коліт, $n = 4$; 10%; 3) хвороба Крона, $n = 2$; 5%; 4) гострий гнійний холецистит, $n = 2$; 5%; 5) спайкова хвороба черевної порожнини, $n = 1$; 3% та панкреонекрозом ($n = 14$; 35%) (рис. 2.3-А). Усі вищеназвані стани були ускладнені різними за характером ексудату формами обмеженого або дифузного перитоніту: гнійний ($n = 6$), гнійно-фібринозний ($n = 22$), каловий ($n = 3$), ферментативний ($n = 6$), серозно-геморагічний ($n = 3$) (рис. 2.3-В), що індукував розвиток абдомінального сепсису. Безпосередніми причинами смерті у довідках про смерть виступали: «сепсис», «абдомінальний сепсис», «септицемія», «септичний шок», «інфекційно-токсичний шок», «поліорганна недостатність».



Примітка. ВХш/12пк – виразкова хвороба шлунка і 12-палої кишки; НВК – неспецифічний виразковий коліт.

Рисунок 2.3 – Розподіл основних захворювань, що були ускладнені абдомінальним сепсисом (А), і морфологічних форм перитоніту (В) у померлих хворих на сепсис.

На підставі аналізу клініко-лабораторні даних історій хвороб та бальної оцінки у септичних хворих органної дисфункції/недостатності (мозкової, дихальної, циркуляторної, печінкової, ниркової і коагуляційної) за шкалою SOFA в групі «САЕ» виділені 2 підгрупи: підгрупа померлих з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки – «САПП» ($n = 20$) і підгрупа померлих септичних хворих без клініко-лабораторних і патогістологічних ознак сепсис-асоційованого пошкодження печінки – «бСАПП» ($n = 20$).

Серед 20 померлих хворих підгрупи «САПП» 6 (30%) жінок і 14 (70%) чоловіків віком 60-74 рр. (середній вік 64.00 ± 1.41 рр.). За життя у цих хворих показники загального білірубіну коливалися в межах 31.20-107.50 мкмоль/л [54.10 (47.30; 98.65) мкмоль/л]. Згідно шкали SOFA, за рівнем загального білірубіну у 14 з 20 (70%) хворих спостерігалася сепсис-асоційована печінкова дисфункція, і лише у 6 з 20 (30%) хворих визначалася сепсис-асоційована печінкова недостатність (рівень загального білірубіну сягав вище 102 мкмоль/л) (рис. 2.4).

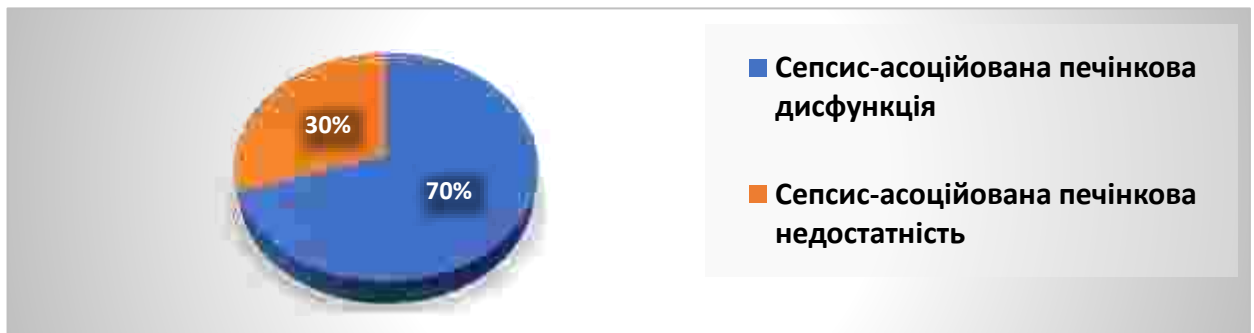


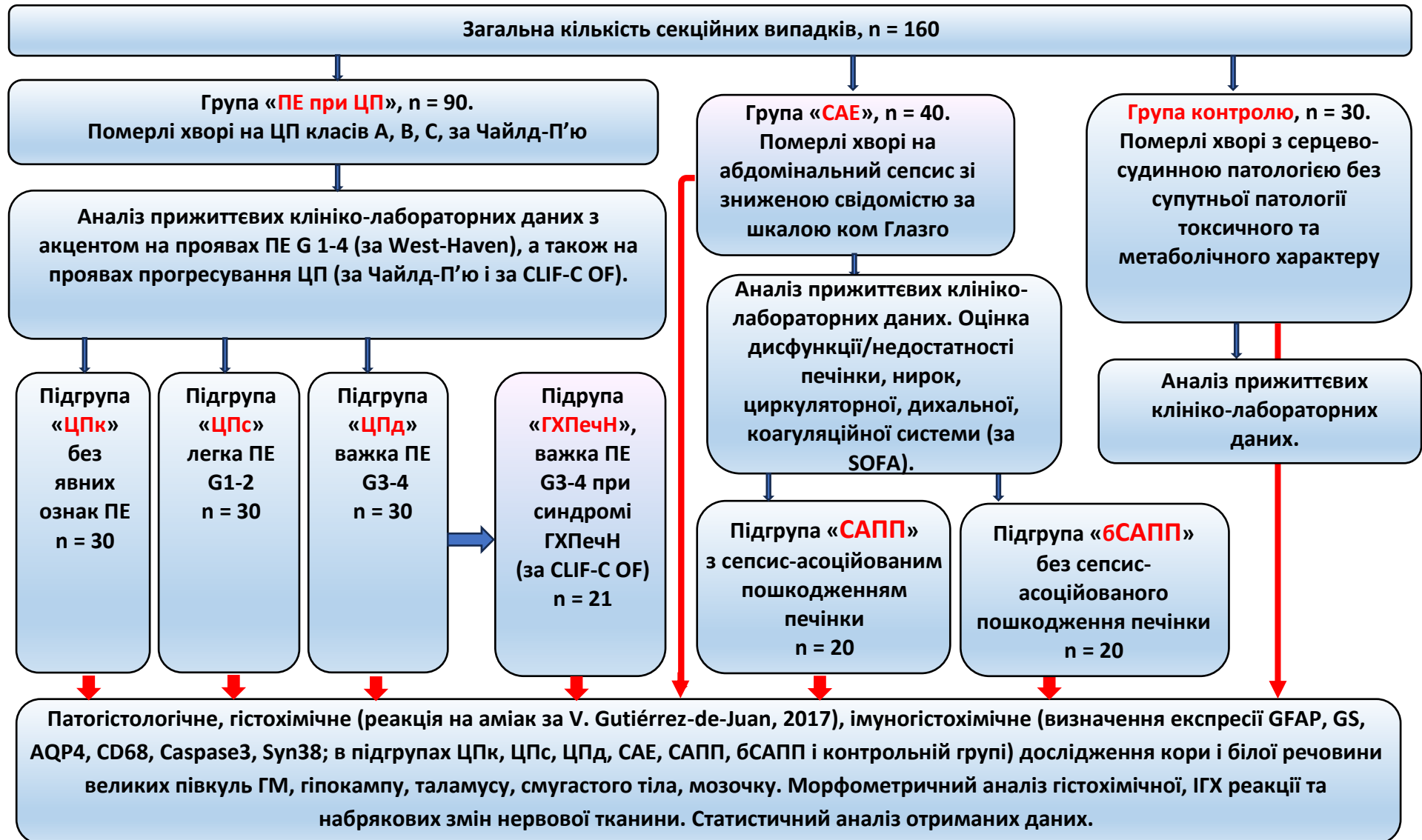
Рисунок 2.4 – Співвідношення кількості померлих хворих підгрупи «САПП» щодо наявності в них печінкової дисфункції або недостатності згідно шкали SOFA.

За результатами посмертного патогістологічного дослідження печінки САПП проявлялося вогнищевою лімфогістіоцитарною інфільтрацією портальних трактів, жировою дистрофією гепатоцитів, дрібновогнищевими централобулярними некрозами, вогнищевим розширенням жовчних капілярів з поодинокими холестазми.

Підгрупу «бСАПП» ($n = 20$) склали 10 (50%) жінок і 10 (50%) чоловіків віком від 61 до 75 рр. (середній вік 67.00 ± 4.24 рр.), у яких не було виявлено клініко-лабораторних і патогістологічних ознак САПП.

2.1.1.3 Група умовного контролю

Групу умовного контролю склали 30 хворих віком 46-81 рр. [середній вік 59.83 ± 7.38 рр: 17 (57%) чоловіків та 13 (43%) жінок], що померли від гострої серцево-судинної недостатності на тлі ішемічної хвороби серця, та за життя не страждали на захворювання печінки та на інші токсико-метаболічні патології. Дизайн секційних досліджень представлений на рисунку 2.5.



Примітка. ПЕ – печінкова енцефалопатія; ЦП – цироз печінки; West-Haven – класифікація ПЕ за ступенем тяжкості; SOFA – інтегральна прогностична шкала оцінки органної недостатності, асоційованої з сепсисом; CLIF-C OF - інтегральна прогностична шкала оцінки органної недостатності при гострій декомпенсації цирозу печінки у формі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності.

Рисунок 2.5 – Дизайн секційного дослідження.

2.1.2 Експериментальний матеріал

2.1.2.1 Характеристика експериментальних тварин

Експериментальні дослідження проведені на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-300 г, отриманих ННМЛЦ ЗДМФУ від ПП «Біомодельсервіс», Київ, Україна. Після одностижневої акліматизації щури утримувались в ННМЛЦ в клітках по 5 тварин при 12-годинному циклі освітлення, при $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, з вільним доступом до води та їжі (стандартний корм для щурів, ПП «Біомодельсервіс», Київ, Україна). Всі процедури проводились згідно Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 18 березня 1986 р.; ETS №123), Директиви 2010/63/ЄС про захист тварин, які використовуються для наукових цілей.

2.1.2.2 Експериментальна модель ПЕ при парацетамол-індукованій гострій печінковій недостатності (acetaminophen-induced liver failure, AILF)

Патоморфологічні зміни в ГМ при експериментальній ПЕ вивчені у 10 білих щурів з гострою парацетамол (ацетамінофен, N-acetyl-p-aminophenol [APAP])-індукованою печінковою недостатністю (AILF) [114, 115], при якій розвивається ПЕ типу «А». Передозування парацетамолом є найбільш частою причиною гострої печінкової недостатності (ГПечН) і ПЕ типу А у багатьох країнах і причиною більше половини всіх випадків ГПечН у США [116]. Для моделювання ГПечН парацетамол («Парацетамол-Дарниця», «Дарниця», Україна) розчиняли у 0.9% розчині натрію хлориду (NaCl 0.9%) 15 мг/мл при 30°C на водяній бані. Перед індукцією AILF щурів протягом 12 год утримували без їжі з вільним доступом до води, щоб створити відповідні умови для катаболізму парацетамолу. Після зважування щурам вводили внутрішньоочеревинно (в/о) в нижню частину живота розчин парацетамолу в дозі 1.5 г/кг м. т. Зазначена доза препарату ґрунтувалася на дослідженнях McGill et al. [114], згідно яких вона викликає значне пошкодження печінки, але при цьому забезпечує виживання більшості тварин у перші 24 год після

індукції AILF. Щурам контрольної групи ($n = 5$) в/о вводили 5 мл 0.9% хлориду натрію. Після процедури AILF був забезпечений вільний доступ до стандартної дієти. Щурів оглядали кожну 1 год протягом перших 12 год, а потім – кожні 0.5 год для реєстрації змін дихання та серцевого ритму, млявості, слабкості та коматозного стану (за відсутністю рогівкового рефлексу). На тлі виражених вищеназваних змін (та коми у трьох тварин) шість щурів на 12, 16, 18, 20 і 24 год від початку експерименту були евтаназовані в/о введенням евтаназійного розчину тіопенталу натрію (100 мг/мл; Тіопентал, «Артеріум», Україна) 60 мг/кг; вони склали умовно летальну групу «AILF-B» ($n = 6$). Незважаючи на помірні порушення дихання та серцевого ритму, млявість і слабкість чотири щури вижили 24 год після процедури і були виведені з експерименту шляхом в/о введення евтаназійної дози розчину тіопенталу натрію; вони склали нелетальну групу «AILF-A» ($n = 4$). Щурів контрольної групи «AILF-C» ($n = 5$), яким в/о був введений 0.9% хлорид натрію, через 24 год вивели з експерименту в/о введенням евтаназійного розчину тіопенталу натрію.

2.1.2.3 Модель САЕ при експериментальному абдомінальному сепсисі «перев'язка та пункція сліпої кишки» (cecum ligation and puncture, CLP)

Патоморфологія сепсис-асоційованих змін ГМ була вивчена у 20 білих щурів з експериментальним полімікробним абдомінальним сепсисом, модельованим перев'язкою та пункцією сліпої кишки (cecum ligation and puncture, CLP), які склали експериментальну групу CLP ($n = 20$). Контрольну групу склали хібно-оперовані щури ($n = 5$). Знеболення тварин проводилося в/о ін'єкцією кетаміну гідрохлориду (50 мг/мл; Кетамін, АО «Фармак», Україна) 80 мг/кг та ксілазину гідрохлориду (20 мг/мл; Ксілазин, «Alfasan», Нідерланди) 10 мг/кг. Після анестезії в асептичних умовах виконували поздовжню серединну лапаротомію 3 см і мобілізували сліпу кишку. Після розсічення брижі сліпу кишку щільно перев'язували шовковою лігатурою 3.0

нижче ілеоцекального клапану (не викликаючи кишкової непрохідності). Співвідношення перев'язаної частини до умовно неушкодженої частини кишки (від лігатури до ілеоцекального клапану) становило 75%:25%, що провокує важкий сепсис [117]. Далі перев'язану частину сліпої кишки перфоровали голкою 18 G і невелику кількість фекального вмісту виводили в черевну порожнину з місць проколу, після чого кишку повертали в черевну порожнину і зашивали черевну стінку двома шарами стерильних шовкових швів. У контрольній групі хибно-оперованих тварин проводили ті ж процедури, але без перев'язки та перфорації сліпої кишки. Усім тваринам одразу після операції підшкірно вводили попередньо підігрітий до 37°C фізіологічний розчин (5 мл/100 г). У післяопераційному періоді тварини утримувалися в клітках, що й до операції, з вільним доступом до їжі та води. У післяопераційному періоді тварин контролювали 48 год: в перші 2 год тварин спостерігали кожні 30 хв, потім – кожні 6 год. Протягом перших 20-38 год після CLP-операції у 9 щурів наростали соціальна ізоляція, скупчення, млявість, діарея, ознобне тремтіння тіла, пілоерекція, періорбітальна ексудація, респіраторні розлади та непритомність. На тлі важких розладів дихання та непритомності ці тварини були виведені з експерименту на 20, 22, 23, 24, 30 і 38 год шляхом в/о введення евтаназійного розчину тіопенталу натрію (100 мг/мл; Тіопентал, «Артеріум», Україна) 60 мг/кг і вони склали умовно летальну групу «CLP-B» (n = 9). Одинадцять щурів, які після операції мали менш виразні, помірні симптоми нездужання, через 48 год були виведені з експерименту аналогічним шляхом, вони склали нелетальну групу «CLP-A» (n = 11). Хибно-оперовані щури контрольної групи («CLP-C») через 48 год також були виведені з експерименту в/о введенням евтаназійної дози тіопенталу натрію (100 мг/мл; Тіопентал, «Артеріум», Україна) 60 мг/кг.

Дизайн експериментального дослідження представлений на рисунку 2.6

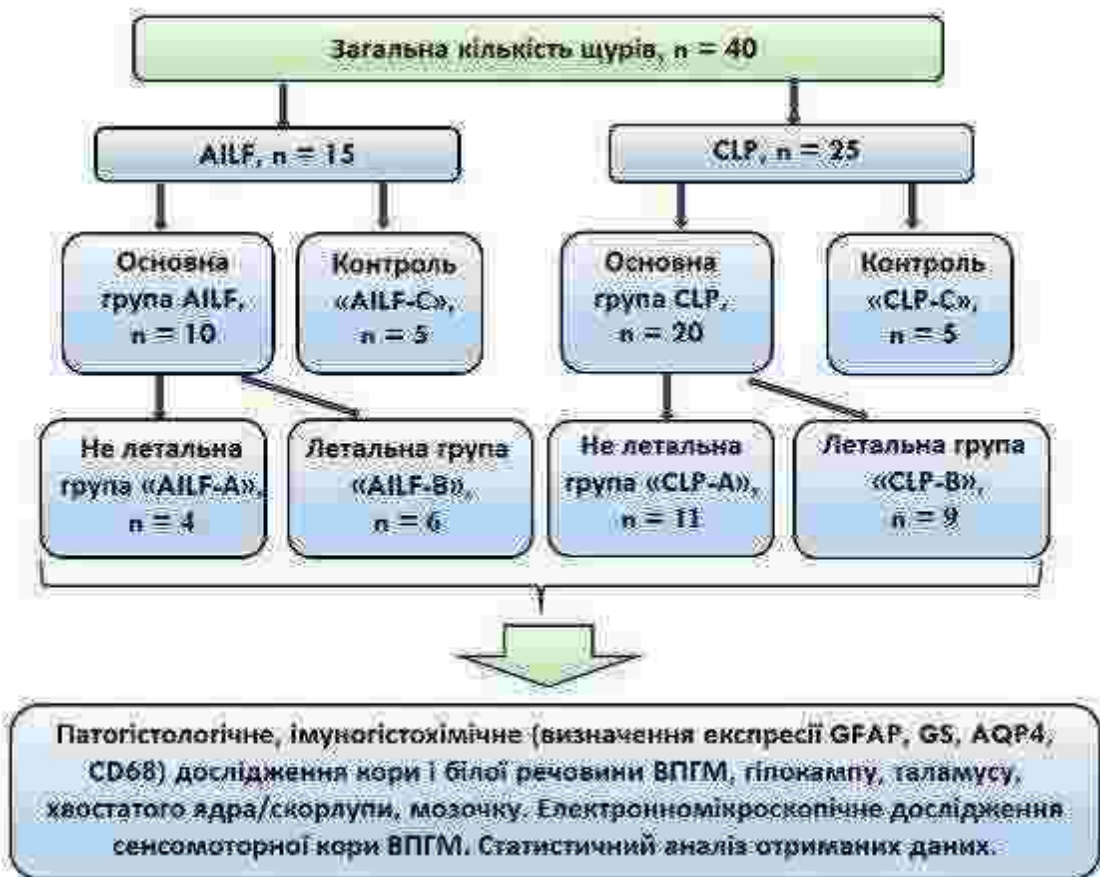


Рисунок 2.6 – Дизайн експериментального дослідження.

2.1.3 Перелік досліджених органів і відділів головного мозку у померлих хворих на цироз печінки і на сепсис та у експериментальних тварин

Розтини померлих хворих проводилися через 6–30 год після настання смерті. Для гістологічного підтвердження ЦП, а також перитоніту та його джерел для гістологічного дослідження забиралися шматочки тканини печінки, абдомінальної очеревини, а також шматочки виразок шлунку і 12-палої кишки, хробакоподібного відростку, товстої кишки, жовчного міхура, підшлункової залози та інших органів у обсязі, необхідному для постановки патологоанатомічного діагнозу. Для гістологічного, гістохімічного і імуногістохімічного дослідження ГМ забиралися шматочки тканини із 6-ти відділів: 1) кора лобової, тім'яної, скроневої та потиличної часток великих півкуль головного мозку (ВПГМ); 2) підкіркова біла речовина лобової, тім'яної, скроневої та потиличної часток ВПГМ; 3) гіпокампальна формація

(для більшості досліджень - зубчаста звивина (ЗЗГ), лат. *gyrus dentatus* [*fascia dentata* + *hilus*]); 4) таламус; 5) компоненти смугастого тіла (лат. *corpus striatum*): 1) хвостате ядро (лат. *nucleus caudatus*); 2) сочевицеподібне ядро (лат. *nucleus lentiformis*), що має дві частини - біла куля (лат. *globus pallidus*) + скорлупа (лат. *putamen*); 6) мозочок (кора і підкіркова біла речовина) (рис. 2.7). Вибір даних відділів ГМ був обумовлений даними нейровізуалізаційних і експериментальних досліджень інших авторів [15, 77], які вказували на регіональність гепатогенного токсичного пошкодження ГМ при гострій і хронічній печінковій недостатності, а також пошкодження при САЕ.

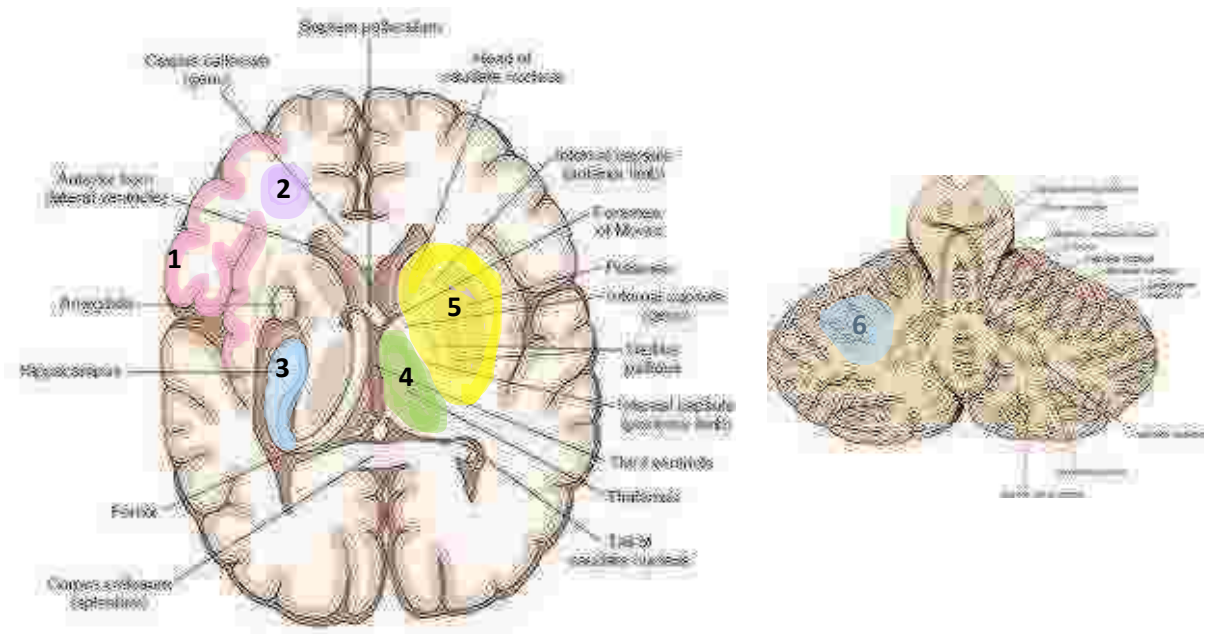


Рисунок 2.7 – Місця забору матеріалу із великих півкуль головного мозку та мозочка померлих хворих. 1 – кора ВПГМ; 2- біла речовина ВПГМ; 3 – гіпокаммальна формація; 4 – таламус; 5 – смугасте тіло; 6 – мозочок.

У всіх секційних випадках також виконане оглядове гістологічне дослідження стовбура ГМ, м'яких мозкових оболонок і судинного сплетіння бокових шлуночків мозку.

В обидвох експериментальних моделях AILF і CLP у білих щурів проведено забір зразків і гістологічне дослідження тканин з усіх органів. Для детального гістологічного і ІГХ дослідження було обрано відділи ГМ, які за даними літератури більш часто вражаються при ПЕ і САЕ: сенсомоторна кора

і біла речовина ВПГМ, ЗЗГ, таламус, хвостате ядро/скорлупа, мозочок. Для електронномікроскопічного дослідження вилучалися дрібні шматочки сенсомоторної кори ВПГМ.

2.2 Методи дослідження

Шматочки тканини головного мозку, печінки, очеревини і інших органів померлих хворих та експериментальних щурів фіксували в 10 % забуференому формаліні і після стандартної проводки матеріалу заливали в парафін для світлооптичних досліджень. На прецизійному ротаційному мікротомі НМ 3600 («MICROM Laborgerate GmbH», Німеччина) виготовляли серійні зрізи товщиною 3-5 мкм, які розміщували на адгезивних предметних скельцях «SUPER FROST PLUS» («DAKO», Данія). Для оглядової світлової мікроскопії готові зрізи забарвлювали гематоксилином і еозином (Г-Е).

2.2.1 Гістологічні дослідження структур головного мозку і їх кількісна оцінка

Дослідження астроцитів Альцгеймера 2 типу. В кожному секційному випадку при дослідженні Г-Е мікропрепаратів 6-ти вищеназваних відділів ГМ в 20 СПЗ (х400) мікроскопу Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) проведено підрахунок сумарної кількості астроцитів Альцгеймера 2 типу (AA2). Опираючись на результати дослідження Agarwal A.N. та співавторів [17], з урахуванням сумарної кількості AA2 в 20 СПЗ (х400) було виділено 4 ступеня А2-астроцитозу: 1-5 AA2/20 СПЗ – 0 ступінь, відсутній А2-астроцитоз; 6-10 AA2/20 СПЗ – I ступінь, слабкий А2-астроцитоз; 11-20 AA2/20 СПЗ – II ступінь, помірний А2-астроцитоз; від 21 і більше AA2/20 СПЗ – III ступінь, виразний А2-астроцитоз. При підрахунку AA2 в гіпокампальній формації померлих хворих на цироз печінки та померлих хворих на сепсис оцінювався відділ ЗЗГ.

Дослідження амілоїдних тілець. В кожному секційному випадку в гематоксилін-еозинових мікропрепаратах в 6-ти досліджуваних відділах ГМ в 5 СПЗ (х400) мікроскопу Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) проведено

підрахунок середньої кількості амілоїдних тілець (АТ). При дослідженні гіпокампулярної формації оцінювалася уся її площа.

Морфометричне дослідження площі периваскулярних і перицелюлярних набрякових тканинних просторів. З використанням програми цифрового аналізу Videotest-Morphology 5.2.0.158 (VideoTest) в кожному секційному випадку в гематоксилін-еозинових мікропрепаратах в 6-ти досліджуваних відділах ГМ в 5 СПЗ (x400) мікроскопу Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) обчислювали середню площу оптично порожніх («набрякових») перицелюлярних, периваскулярних просторів і загальну середню площу вказаних просторів (ПЦп+ПВп) (μm^2).

2.2.2 Гістохімічне дослідження аміаку в тканині головному мозку і оцінка рівня експресії аміачних преципітатів

В парафінових зрізах тканини ГМ всіх померлих хворих гістохімічно (ГХ) визначали рівень аміаку з використанням реактиву Неслера за методикою, запропонованою Gutiérrez-de-Juan V. та співавторами в 2017 р. для досліджень різних органів [118]. Реактив Неслера (дигідрат тетрайодомеркурата калію, $\text{K}_2\text{HgI}_4 \cdot \text{KOH}$) в водному розчині має блідо-жовте забарвлення; в присутності аміаку темнішає, а при високих концентраціях аміаку утворює в тканинах помаранчево-коричневий преципітат у вигляді дрібних гранул різного розміру, розповсюдженості у тканині і оптичної щільності. У відповідності до вищезгаданої методики, парафінові зрізи товщиною 5 мкм піддавали наступній обробці: 1) депарафінізація; 2) регідратація зі 100% спирту до дистильованої води у вологій камері та витяжній шафі; зберігання в дистильованій воді для запобігання зневоднення перед фарбуванням; 3) злив води із зразків і 5-хвилинна інкубація зрізів в 100 мл свіжого реактиву Неслера (Chem-Lab, Бельгія); 4) 10-секундне промивання дистильованою водою до появи забарвлення; 5) дофарбування гематоксиліном Майєра; 6) промивання проточною водопровідною водою; 7) зневоднення; 8) просвітлення; 9) заключення в монтажне середовище.

Рівень тканинного аміаку в ГМ був оцінений морфометрично за оптичною щільністю його ГХ-позитивних (помаранчево-коричневих) тканинних преципітатів і був виражений в умовних одиницях оптичної щільності (УООЩ). Для цього в кожному випадку досліджено по 5 стандартизованих полів зору (СПЗ) з 6 відділів ГМ (кори і білої речовини ВПГМ, гіпокампу (ЗЗГ), таламусу, смугастого тіла та мозочку) при збільшенні $\times 200$ мікроскопу Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з використанням фотокамери Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (Німеччина) та системи автоматичного аналізу і стандартного плагіну color deconvolution «H DAB» програми ImageJ. При значеннях УООЩ від 0 до 20 ГХ експресія аміаку в мозковій тканині вважалася негативною («-»); від 21 до 50 – слабкою («+»); від 51 до 100 – помірною («++»); від 101 і вище – сильною («+++»).

2.2.3 Імуногістохімічні дослідження і оцінка їх результатів

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження секційного і експериментального матеріалу проводили в серійних парафінових зрізах тканини ГМ. Після депарафінізації і регідратації зрізів проводили високотемпературне демаскування антигенів шляхом нагрівання на водяній бані в Tris EDTA буфері (pH = 9.0), пригнічували активність ендогенної пероксидази 3% перекисом водню, наносили блокуючу сироватку. Згідно стандартних протоколів фірм-виробників проводили інкубацію з первинними антитілами: Mo monoclonal anti-GFAP Ab (*Clone ASTRO6*, Thermo Scientific Inc., США), Rb polyclonal anti-GS Ab (Thermo Scientific Inc., США), Rb polyclonal anti-AQP4 Ab (Thermo Scientific Inc., США), Mo a-Hu CD68 Ab (*clone PG-M1*, RTU, Dako, Denmark), Mo a-Hu Caspase 3 (CPP32) Ab-3 (*Clone 3CSP03*, Thermo Scientific Inc., США), Mo anti-synaptophysin monoclonal Ab (*Clone SY38*, Thermo Scientific Inc., США) та системи візуалізації UltraVision Quanto HRP + DAB (Thermo Scientific Inc., США). Зрізи дозобарвлювали гематоксиліном Мейєра і заключали в канадський бальзам.

Оцінку ІГХ експресії маркерів проводили в мікроскопі Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з камерою Jenoptik Progres Gryphax 60N-C1"1,0x426114 (Німеччина) та програм Відеотест-Морфологія 5.2.0.158 (ТОВ «ВідеоТест») і ImageJ (NIH, США).

➤ Для ІГХ дослідження морфо-функціонального стану клітин астроцитарного фенотипу використані: ключовий білок проміжних філаментів цитоскелету (гліальний фібрилярний кислий протеїн, GFAP), фермент метаболізму глутамату і глутаміну (глутамінсинтетаза, GS), основний білок водних каналів ГМ (аквапорин-4, AQP4). ІГХ експресію оцінювали у 5 СПЗ кожного з досліджених 6 відділів ГМ (x200) і виражали у відносній площі (Srel., %) ІПМ до загальної площі СПЗ. При дослідженні реактивних змін астроцитів гіпокампальної формації оцінено відділ 3ЗГ.

➤ Для визначення фагоцитарної активації мікроглії використовували антитіла до макросіаліну (кластеру диференціювання-68, CD68), експресію якого оцінювали у 5 СПЗ кожного з досліджених 6 відділів ГМ і розраховували Srel., як % CD68⁺ позасудинного матеріалу в загальній площі СПЗ (x200). При цьому для оцінки трансформації мікроглії в фагоцитарний морфотип визначали кількість CD68⁺ позасудинних амебоїдних мікрогліоцитів (при зб. x400). При дослідженні реактивних змін мікроглії в гіпокампальній формації померлих хворих на цироз печінки та померлих хворих на сепсис оцінювали всю її площу; в експериментальній частині дослідження використовували 3ЗГ.

➤ Для визначення апоптотично змінених нейронів використовували ІГХ реакцію з антитілами до протеази каспази-3 (caspase-3, CASP3). У 5 СПЗ (x200) кори ВПГМ, 3ЗГ, таламуса, смугастого тіла та кори мозочку розраховували відсоток caspase-3⁺ нейронів до загальної кількості нейронів у СПЗ.

➤ Для визначення функціонального стану нейрональних синапсів використано маркер пресинаптичних везикул синаптофізин (Synaptophysin), експресія якого оцінювалася в програмі ImageJ з використанням системи автоматичного аналізу і стандартного плагіну color deconvolution «H DAB» і виражалася в умовних одиницях оптичної щільності (УООЩ)

імунопозитивного матеріалу у 5 СПЗ (x200) кори ВПГМ, ЗЗГ, таламусу, смугастого тіла та кори мозочку. При значеннях УООЩ від 0 до 20 експресія вважалася негативною («-»); від 21 до 50 – слабкою («+»); від 51 до 100 – помірною («++»); від 101 і вище – сильною («+++»).

2.2.4 Електронномікроскопічне дослідження головного мозку експериментальних тварин

ГМ видаляли одразу після припинення серцебиття тварин та поміщали при 25°C у стандартний фіксуєчий розчин для ЕМ (до 5 хв – перед взяттям зразків тканини): 2,5% глутаральдегіду (Alfa Aesar, Thermo Fisher Scientific, A17876) у 0.1 М розчині фосфатного буферу, рН = 7.4. Із сенсомоторної кори лобової частки лівої півкулі ГМ вирізали блоки тканини розміром до 1x1x1 мм і поміщали на 2 год (при t = 4°C) в той самий фіксуєчий розчин з додаванням сахарози. Додаткову фіксацію протягом 2 год проводили 1% чотириокисом осмію у фосфатному буфері при 4°C. Зразки обробляли етанолом висхідної концентрації (до 100%) серією для дегідратації та контрастували 2,5% спиртовим розчином уранілацетату протягом 2 год при 4°C. Зневоднені зразки інфільтрували сумішшю ацетону та смоли Epon-812 (2:1; 1:1; 1:2), заливали в епоксидну смолу Epon-812 (Sigma-Aldrich Chemie, GmbH, Taufkirchen, Німеччина, 45345) і полімеризували у два прийоми: при 36°C (12 год) та при 56°C (24 год). Напівтонкі (1-2 мкм) та ультратонкі (55-65 нм) зрізи виготовляли на ультрамікротомі (PowerTome RMC Bockeler, США) і контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом (30 хв, t = 25°C). Ультратонкі зрізи досліджували в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 («Selmi», Суми, Україна) при 65 кВ. Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім і основним фуксином.

➤ *Дослідження кількості мультивезикулярних тілець (МВТ) в астроцитах сенсомоторної кори головного мозку щурів*

З 5 блоків сенсомоторної кори ГМ кожного із щурів в двох експериментальних моделях (CLP та AILF) виготовляли ступінчасті ультратонкі зрізи (площею ~

3500 мкм² кожен). В кожному четвертому ступінчастому ультратонкому зрізі (сумарно у кожного щура в тридцяти астроцитарних профілях: перикаріоні, нейропільних відростках і перикапілярних кінцевих ніжках) підраховували кількість MBT.

➤ *Ультраструктурне визначення морфотипів мікроглії*

Для визначення морфотипів мікроглії і їх відсоткового співвідношення в сенсомоторній корі ГМ щурів обидвох моделей у кожної тварини було рандомно відібрано по 5 мікрогліоцитів (загалом 200 мікрогліоцитів: 125 мікрогліоцитів з моделі CLP; 75 мікрогліоцитів з моделі AILF).

2.2.5 Статистичний аналіз

Отримані результати дослідження секційного і експериментального матеріалу було опрацьовано за допомогою пакетної програми Statistica ® для Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Відповідність кількісних показників закону нормального розподілу визначали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка, що зумовило використання непараметричних методів статистики. Результати кількісних розрахунків виражали у вигляді медіани (Me) з міжквартильним діапазоном (Q1; Q3). Для порівняння показників між двома групами використовували U-критерій Манна-Уїтні, для порівняння більше двох груп – критерій Краскела-Уолліса. Для оцінки достовірності відмінності якісних ознак між групами використовували метод χ^2 . Для встановлення прогностичної значущості прижиттєвих параметрів крові, а також посмертного рівня тканинного аміаку в ГМ померлих хворих на ЦП використано логістично-регресивний аналіз з побудовою ROC-кривих із визначенням точки відсічення. Кореляційний аналіз розраховували з використанням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r). Значення коефіцієнту $r > 0,01 \leq 0,29$ свідчило про слабкий прямий зв'язок; $r > 0,30 \leq 0,69$ – помірний прямий зв'язок; $r > 0,70 \leq 1,00$ – сильний прямий зв'язок; $r > -0,01 \leq -0,29$ – слабкий зворотній зв'язок, $r > -0,30 \leq -0,69$ – помірний зворотній зв'язок, $r > -0,70 \leq -1,00$ – сильний зворотній зв'язок. Результати вважали достовірно значущими на рівні 95 % ($p < 0.05$).

РОЗДІЛ 3

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ПЕЧІНКОВІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ У ПОМЕРЛИХ ХВОРИХ НА ЦИРОЗ ПЕЧІНКИ

3.1 Основні клінічні прояви печінкової енцефалопатії і лабораторні дані хворих на цироз печінки різного ступеню тяжкості

За результатами ретроспективного аналізу історій хвороби у 60 з 90 (66.00%) померлих хворих на ЦП печінки різного ступеню тяжкості виявлено клінічні прояви ПЕ Grade 1-4.

В підгрупі «ЦПк» у 30 (100%) померлих хворих на компенсований ЦП згадування про клінічні прояви ПЕ в історіях хвороби були відсутні, що відповідає параметрам шкали Child-Pugh. Між тим, класифікація West-Haven передбачає приховану форму ПЕ, так звану латентну або мінімальну ПЕ (або ПЕ G0), яка клінічно не проявляється і може бути діагностована лише за допомогою психометричних тестів. Зважаючи на відсутність в історіях хвороби таких тестів, всі померлі хворі цієї підгрупи були нами умовно розцінені як ПЕ-клінічно негативні (ПЕ G0).

Слід відзначити, що чітке розділення легких форм ПЕ на G1 і G2 за ретроспективними неповними клінічними даними історій хвороби пацієнтів, що лікувалися в загальнотерапевтичних (не в спеціалізованих психоневрологічних) відділеннях також було проблематичним. З урахуванням того, що в загальноприйнятих шкалах оцінки стану хворих на ЦП за CLIF-C OF і за Child-Pugh ПЕ G1 і ПЕ G2 об'єднані в «легку ПЕ», а ПЕ G3 і ПЕ G4 – у «важку ПЕ», було обрано рішення також розцінювати симптоматику ПЕ G1 і G2 як прояви легкої ПЕ у хворих підгрупи «ЦПс», а симптоматику ПЕ G3 і G4 – як прояви важкої ПЕ у хворих підгрупи «ЦПд».

З урахуванням проаналізованих прижиттєвих клінічних даних, ПЕ G1-2 була у всіх 30 померлих хворих на субкомпенсований ЦП підгрупи «ЦПс», вона проявлялася наявністю у них за життя ознак астериксису, поведінкових і

когнітивних розладів, інверсії циркадного ритму, зниженням пам'яті, уваги, дезорієнтації у часі.

За даними історій хвороби в підгрупі «ЦПд» померлих хворих на декомпенсований ЦП за життя діагностована важка ПЕ G3 у 23 (77%) осіб та важка ПЕ G4 (кома) – у 7 (23%) осіб (рис. 3.1). У хворих з ПЕ G3, поряд з вищезгаданими симптомами легкої ПЕ, визначалася дезорієнтація у місці, а також зниження свідомості до ступору і сопору (12-9 балів за ШКГ), що вимагало переводу хворих на ендотрахеальну ШВЛ. Хворі з важкою ПЕ лікувалися у відділеннях інтенсивної терапії і важливою диференційною ознакою між ПЕ G3 і G4 було зниження свідомості (12-9 балів за ШКГ) - при ПЕ G3, та кома у хворих (8-3 бали за ШКГ) – при ПЕ G4. П'ять із семи хворих з важкою ПЕ G4 госпіталізовані в стаціонар вже в коматозному стані, у двох хворих кома розвинулася в стаціонарі.

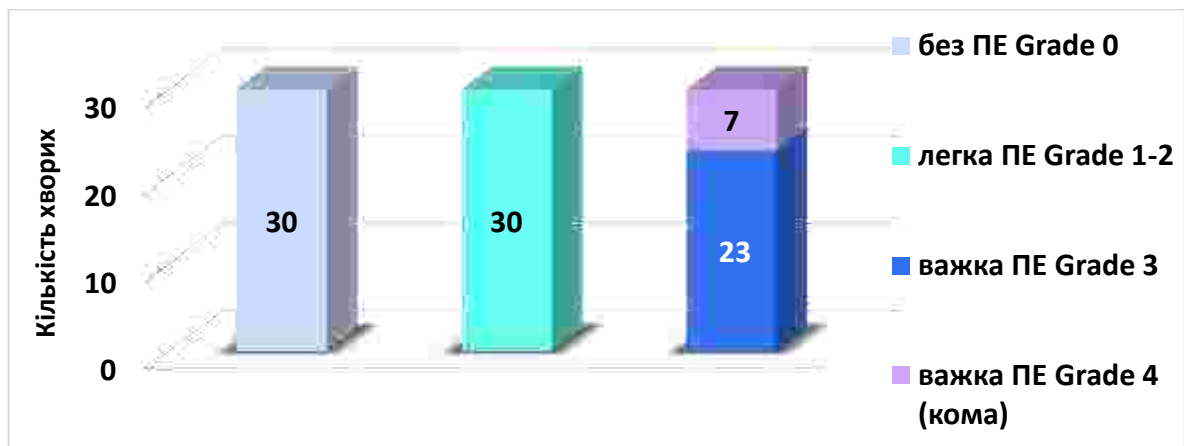


Рисунок 3.1 – Кількість випадків зареєстрованої ПЕ різного ступеню тяжкості у померлих хворих на ЦП підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» (кількість випадків /групу).

Враховуючи те, що при цирозі печінки ПЕ розвивається на тлі суттєвих системних і органних розладів, які додають свій внесок у морфогенез ПЕ, проаналізовані прижиттєві лабораторні показники стану життєзабезпечуючих систем і органів у хворих на ЦП різного ступеню тяжкості викладені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Прижиттєві лабораторні показники крові хворих при прогресуванні ЦП в підгрупах «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд», а також в групі контролю; [Me (Q1; Q3)]

	ЦПк	ЦПс	ЦПд	Контроль
Еритроцити (Rbc ; $\times 10^{12}/\text{л}$)	3.64 (3.30; 4.45)	3.55 (3.10; 3.82) *	2.93 (2.80; 3.12) *#	4.42 (4.20; 4.90)
Гемоглобін (Hb , г/л)	115.50 (110.00; 127.50)	107.50 (86.00; 120.50) *	97.00 (62.00; 110.50) *	142.50 (125.50; 152.00)
Лейкоцити (Wbc ; $\times 10^9/\text{л}$)	5.80 (5.50; 6.70)	4.30 (3.80; 5.95) *	12.20 (10.20; 16.23) *#†	6.51 (6.10; 6.85)
Тромбоцити (Plt , $\times 10^9/\text{л}$)	195.50 (165.00; 237.00)	136.00 (127.00; 153.50) *#	93.50 (54.00; 136.00) *#	256.50 (235.00; 287.00)
Протромбіновий індекс (PI , %)	78.00 (75.00; 94.00)	65.00 (51.50; 67.50) *	46.50 (39.50; 65.00) *#	95.00 (86.50; 103.00)
Загальний білок (P , г/л)	62.00 (58.50; 73.00)	56.00 (52.50; 65.00) *	58.00 (41.50; 63.00) *	74.50 (72.00; 81.00)
Альбумін (Alb , г/л)	37.00 (36.50; 45.50)	33.00 (32.50; 35.00) *#	22.00 (19.50; 31.50) *#†	43.00 (36.50; 46.50)
Загальний білірубін (Bil , мкмоль/л)	21.57 (20.65; 32.80) *	82.41 (46.80; 97.72) *#	172.12 (122.52; 315.20) *#†	11.25 (9.30; 16.50)
АСТ (мкмоль/(с*л))	0.46 (0.38; 0.55) *	0.92 (0.82; 1.34) *#	2.25 (1.72; 2.93) *#†	0.23 (0.18; 0.37)
АЛТ (мкмоль/(с*л))	0.35 (0.29; 0.71)	0.75 (0.57; 1.12) *	1.74 (1.33; 2.25) *#†	0.34 (0.20; 0.55)
Креатинін (Cre , мкмоль/л)	85.35 (73.20; 115.25)	118.60 (98.40; 146.75) *	227.10 (185.20; 329.60) *#†	74.20 (67.10; 95.15)
Сечовина (Ur , ммоль/л)	6.80 (5.40; 9.70)	8.15 (6.20; 12.85)	14.72 (10.40; 16.20) *	5.45 (4.40; 7.30)
Натрій (Na+ ; ммоль/л)	137.50 (135.00; 142.50)	145.00 (138.00; 146.50)	129.50 (126.00; 130.00) *#†	135.00 (134.00; 142.50)
Калій (K+ ; ммоль/л)	4.53 (3.52; 4.95)	4.67 (3.81; 5.15)	3.35 (3.21; 3.48) *#†	4.23 (3.74; 4.72)
ШОЕ (мм/год)	6.00 (4.00; 11.25)	14.50 (10.00; 19.00) *	23.50 (21.00; 34.00) *#†	5.00 (3.00; 9.00)
Лейкоцитарний індекс інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛІІ , у.о.)	0.65 (0.57; 1.47)	0.93 (0.74; 2.72)	3.12 (1.57; 4.97) *#	0.52 (0.34; 1.12)

Примітка. (*) – достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$); (#) – достовірні відмінності відносно групи «ЦПк» ($p < 0.05$); (†) – достовірні відмінності відносно групи «ЦПс» ($p < 0.05$).

У хворих підгрупи компенсованого ЦП «ЦПк» спостерігалася тенденція до розвитку анемії, тромбоцитопенії та коагулопатії, але рівні еритроцитів, гемоглобіну, тромбоцитів та протромбінового індексу (ПТІ) достовірно не відрізнялися від контрольних значень. У хворих підгрупи субкомпенсованого ЦП «ЦПс» рівні еритроцитів, гемоглобіну, тромбоцитів і ПТІ були достовірно нижчими ($p < 0.05$), ніж в групі контролю (на 24.51%; на 32.56%; на 88.60% і на 46.15%, відповідно) і були максимально зниженими у хворих підгрупи декомпенсованого ЦП «ЦПд»: еритроцити – на 50.85%; гемоглобін – на 46.91%; тромбоцити – в 2.7 рази; ПТІ – на 104.30% ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

Рівень лейкоцитів у хворих підгрупи «ЦПк» достовірно не відрізнявся від контрольних значень, і був достовірно ($p < 0.05$) на 51.40% зниженим відносно контролю у хворих підгрупи «ЦПс», а у хворих підгрупи «ЦПд» рівень лейкоцитів був достовірно підвищеним на 87.40% відносно контролю. Лейкоцитарний індекс інтоксикації, розрахований за формулою Я.Я. Кальфа-Халіфа, мав тенденцію до зростання у хворих підгруп «ЦПк» та «ЦПс», і у хворих підгрупи «ЦПд» був достовірно в 6 разів вищим за контрольні показники. Показники ШОЕ були достовірно підвищеними в 2.9 разів у хворих підгрупи «ЦПс» і досягли максимального підвищення в 4.7 разів у хворих підгрупи «ЦПд» ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

Визначалося прогресивне зростання рівнів загального білірубіну, АСТ і АЛТ. У хворих підгрупи «ЦПк» рівень загального білірубіну був підвищеним на 92.07% відносно контрольних значень, у хворих підгрупи «ЦПс» – підвищеним в 7.32 рази, у хворих підгрупи «ЦПд» - підвищеним в 15.29 разів ($p < 0.05$). Рівень активності АСТ був підвищеним відносно контрольних показників: у хворих підгрупи «ЦПк» – в 2 рази, у хворих підгрупи «ЦПс» – в 4 рази, у хворих підгрупи «ЦПд» – в 9.7 разів ($p < 0.05$). Рівень активності АЛТ також був перевищував показники контролю: у хворих підгрупи «ЦПс» – в 2.2 рази) у хворих підгрупи «ЦПд» – в 5 разів ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

Рівні загального білку і альбуміну плазми крові мали тенденцію ($p > 0.05$) до зниження у хворих підгрупи «ЦПк»; вони були достовірно зниженими у хворих підгрупи «ЦПс»: рівень загального білку – на 33.04 %, альбуміну – на 30.30 % ($p < 0.05$). У хворих підгрупи «ЦПд» рівень альбуміну був максимально (на 95.45%) нижчим відносно контрольних значень, а рівень загального білку був майже таким, як у хворих підгрупи «ЦПс», але на 28.45% нижчим за контрольні значення ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

Рівні креатиніну і сечовини плазми крові хворих підгрупи «ЦПк» мали тенденцію ($p > 0.05$) до зростання відносно показників контролю. У хворих підгрупи «ЦПс» рівень креатиніну був достовірно ($p < 0.05$) на 59.69% вищим відносно контролю. Хворі підгрупи «ЦПд» мали максимально підвищені рівні креатиніну (в 3 рази) і підвищені (в 2.7 рази) рівні сечовини плазми крові ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

У хворих на компенсований і субкомпенсований ЦП підгруп «ЦПк» і «ЦПс» рівні натрію і калію в плазмі крові були незначно ($p > 0.05$) підвищеними; хворі підгрупи «ЦПд» мали достовірно знижені показники рівнів натрію – на 4.25%, калію – на 26.27% ($p < 0.05$) (див. табл. 3.1; рис. 3.2).

3.1.1 Особливості поліорганної недостатності у хворих на важку ПЕ G 3-4 при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності

У хворих підгрупи «ГХПечН» на тлі швидкого розвитку асцити і/або жовтяниці, гастроінтестинальної кровотечі, запальних інфекційних ускладнень під час перебування в стаціонарі розвинулися ознаки моно- або поліорганної печінкової та позапечінкової дисфункції/недостатності (печінкової і/або ниркової, циркуляторної, легеневої, коагуляційної), а також ознаки системної запальної відповіді, в тому числі лейкоцитозу, підвищення показників ШОЕ та ЛПІ, що відповідало критеріям синдрому гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності (ГХПечН) за визначенням EASL-CLIF.

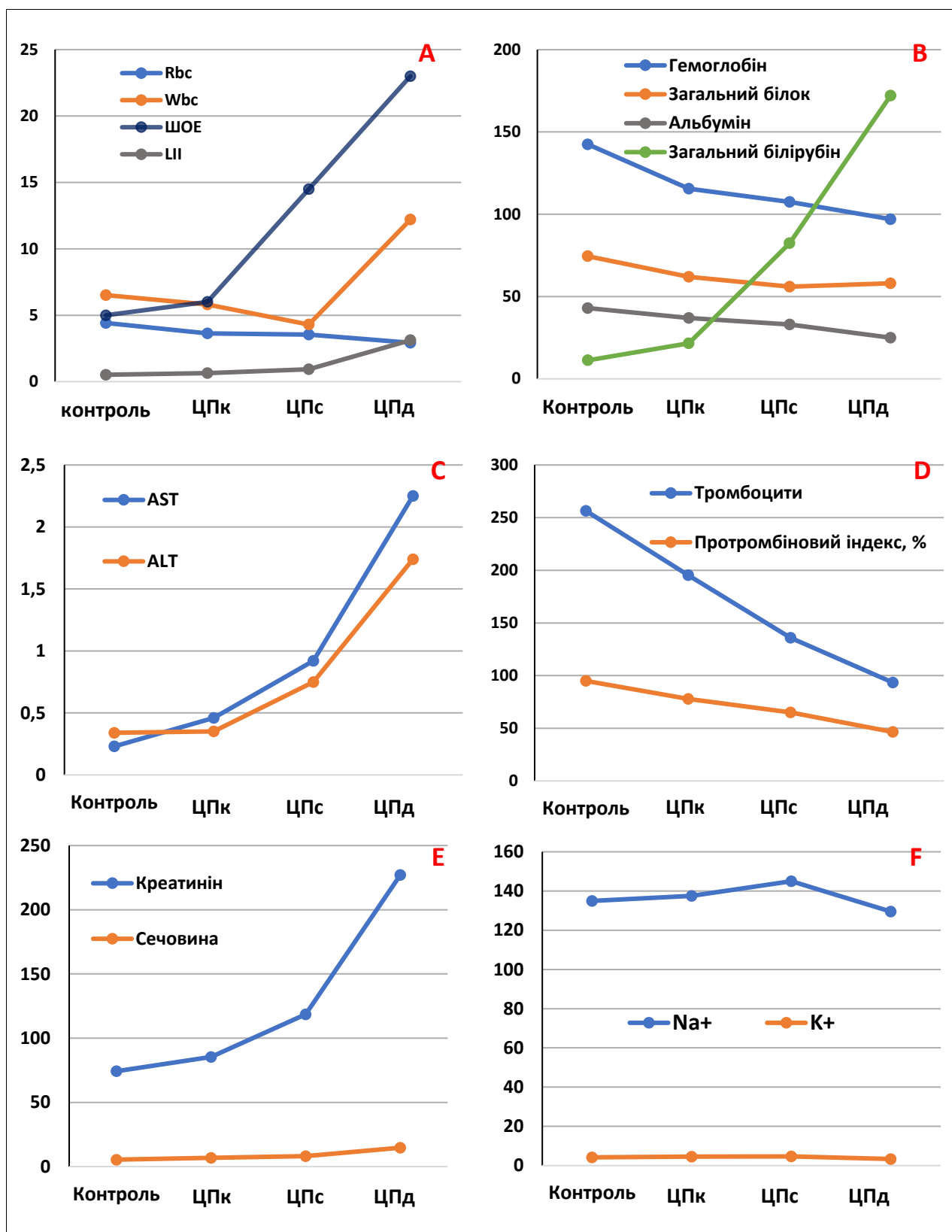


Рисунок 3.2 – Динаміка змін прижиттєвих медіанних лабораторних показників еритроцитів і системного запалення (А); білків плазми і загального білірубину (В); показників цитолізу (С); показників системи коагуляції (D); показників функції нирок (Е); електролітів крові (F) у померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з контролем.

Для оцінки внеску у розвиток важкої ПЕ печінкової і позапечінкової органної дисфункції/недостатності у хворих підгрупи «ГХПечН» були проаналізовані максимально змінені прижиттєві клініко-лабораторні показники, що відповідають критеріям шкали CLIF-C OF консорціуму CANONIC. За результатами ретроспективного клініко-лабораторного аналізу і у відповідності до зазначеної шкали визначено, що у 100.00% померлих хворих підгрупи «ЦПд» і також, відповідно, підгрупи «ГХПечН» за життя спостерігалася мозкова недостатність (ПЕ G3-G4); 9.5 (8.75;10.25) балів за ШКГ (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Показники органної дисфункції/недостатності та темп їх розвитку у хворих підгрупи «ГХПечН» у відповідності до критеріїв шкали CLIF-C OF консорціуму CANONIC

№	Органна дисфункція/недостатність					Провокуючі фактори/супутні умови					
	ЦНС (ПЕ)	Печінка	Нирки	Ц	Л	П	САП	СЗ	А	Шкк	Ж
1	Grade 3	-	-	Н	+	+	-	+	Гп	-	Пст
2	Grade 3	Д	-	Д	+	+	-	+	Пст	+	Гп
3	Grade 3	-	-	Д	-	-	+	+	Пст	+	Пст
4	Grade 3	Д	Д	Н	+	+	-	+	Гп	-	Гп
5	Grade 3	Д	Д	Н	+	-	-	+	Гп	+	Гп
6	Grade 3	-	Д	-	-	-	-	+	Гп	+	Пст
7	Grade 3	Д	Д	-	+	+	-	+	Пст	-	Пст
8	Grade 3	Н	Д	Д	+	+	-	+	Пст	-	Гп
9	Grade 3	Н	-	Д	-	-	-	+	Гп	-	Гп
10	Grade 3	Н	-	Н	+	-	-	+	Гп	-	Гп
11	Grade 3	Н	Д	Д	+	+	-	+	Пст	+	Гп
12	Grade 3	-	Д	Д	-	-	-	+	Гп	-	Пст
12	Grade 3	Д	Д	Д	-	-	+	+	Гп	-	Пст
14	Grade 3	Д	-	Д	+	+	-	+	Пст	+	Гп
15	Grade 4	Д	Н	Д	+	-	+	+	Гп	-	Пст
16	Grade 4	Н	Д	Д	+	+	+	+	Гп	+	Гп
17	Grade 4	Д	-	Н	+	+	-	+	Гп	+	Пст
18	Grade 4	Н	Н	Н	+	+	-	+	Гп	+	Гп
19	Grade 4	Д	Д	Н	+	-	+	+	Пст	-	Пст
20	Grade 4	Д	Н	Д	+	+	-	+	Гп	-	Пст
21	Grade 4	Н	Д	Н	+	+	+	+	Пст	-	Гп

Примітка. Ц – циркуляція; П – пневмонія; САП – спонтанний асцит-перитоніт; СЗ – ознаки системного запалення (лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, ЛП); А – асцит; Шкк – шлунково-кишкова кровотеча; Ж – жовтяниця; помічені сірим фоном «Д» і «Н» – дисфункція і недостатність органу (або системи) відповідно; Пст – поступовий розвиток; Гп – гострий початок.



Рисунок 3.3 – Частота окремих видів органної дисфункції/недостатності у 21 хворого з синдромом ГХПечН.

Важка ПЕ G3-4 у хворих підгрупи «ГХПечН» поєднувалася з циркуляторною дисфункцією/недостатністю у 19 (90%) осіб, з печінковою дисфункцією/недостатністю – у 17 (80%) пацієнтів, з розладами коагуляційної системи – у 17 (80%) осіб, з легеневою дисфункцією/ недостатністю – у 16 (76%) осіб, з нирковою дисфункцією/ недостатністю – в 14 (66%) випадках (див. табл. 3.2, див. рис. 3.3). Важка ПЕ найбільш часто (у 10 випадках – 47% хворих) поєднувалася з циркуляторною, легеневою, нирковою і печінковою дисфункцією/недостатністю (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Структура поліорганної дисфункції/недостатності у хворих на важку ПЕ при синдромі ГХПечН

Поєднання д/н органів	n =	ЦНС	Циркуляція	Печінка	Легені	Нирки
ПЕ+Ц+Л+Н+П	10	+	+	+	+	+
ПЕ+Ц+Л+П	4	+	+	+	+	
ПЕ+Ц+П+Н	1	+	+	+		+
ПЕ+Л+Н+П	1	+		+	+	+
ПЕ+Ц+Н	1	+	+			+
ПЕ+Ц+П	1	+	+	+		
ПЕ+Ц+Л	1	+	+		+	
ПЕ+Ц	1	+	+			
ПЕ+Н	1	+				+
Разом n =	21					

Примітка. Ц – циркуляція; Л – легені; Н – нирки; П – печінка; К – коагуляція.

3.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеню тяжкості

3.2.1 Макроскопічна характеристика головного мозку

ГМ померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» і з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» не мав суттєвих патологічних змін. М'які оболонки ГМ були прозорі, помірно повнокрівні та в окремих випадках дещо потовщені за рахунок набряку. Великі півкулі ГМ та півкулі мозочку були симетричні, без борозон вклинення мозкових структур, мали нормальний рел'єф звивин та ширину борозен. Субарахноїдальний простір і шлуночкова система містили помірну кількість спинномозкової рідини. Медіанні значення ваги ГМ достовірно не відрізнялися від показників померлих осіб групи контролю (табл. 3.4).

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» визначалися макроскопічні ознаки набряку або набряку-набухання ГМ. М'які оболонки ГМ були помірно повнокровні, потовщені через їх набряк. Великі півкулі ГМ та півкулі мозочку були симетричні, зі згладженими звивинами та звуженими борознами, а у нижніх мигдаликах мозочку визначалася странгуляційна борозна різної глибини та ширини. Тканина головного мозку м'якої консистенції, на розрізі волога, у 36% померлих хворих в таламусі, головці хвостатого ядра, мозочку визначалися (дрібнокраплинні крововиливи) кров'яні точки, що розпливалися. В субарахноїдальному просторі і в шлуночках мозку містилася прозора спинномозкова рідина. Медіанні значення ваги ГМ померлих хворих з важкою ПЕ підгрупи «ЦПд» достовірно ($p<0.05$) перевищували контрольні значення на 14.03% (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Вага ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю; Me (Q1; Q3)

	підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	Група контролю
Вага, г	1203.00 (1167.00; 1218.00)	1272.00 (1195.00; 1318.00)	1365.00 (1254.00; 1392.00) *	1197.00 (1179.00; 1210.00)

Примітка. (*) – достовірні відмінності відносно контролю ($p<0.05$).

У 73 з 90 (81%) померлих хворих усіх трьох підгруп дослідження визначався сегментарний стенозуючий (до 20-40%) неускладнений атеросклероз позачерепних та внутрішньочерепних артерій вертебро-базілярного та каротидного басейнів.

3.2.2 Загальна патогістологічна характеристика головного мозку

В мікропрепаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, у всіх 30 померлих хворих з ПЕ G0 структура ГНБК, нейропілю, периваскулярних і перицелюлярних просторів в досліджених відділах ГМ не мала достовірних відмінностей від показників групи контролю. В корі ВПГМ та мозочка, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі виявлялися одиничні гіперхромні та апоптотично змінені нейрони, зрідка – перинейрональний гліальний сателітоз. У 20 (67%) померлих хворих з ПЕ G1-2 та у 27 (90%) померлих з ПЕ G3-4 у всіх 6-ти досліджених відділах ГМ визначалося помірне повнокрів'я артеріол, капілярів, венул, а також розповсюджений помірний периваскулярний і перицелюлярний набряк (рис. 3.4-A). У всіх померлих хворих з ПЕ G3-4 в корі ВПГМ та мозочку, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі виявлялися набряклі або набряклі з каріопікнозом, гіперхромні і апоптотичні нейрони, перинейрональний гліальний сателітоз (рис. 3.4-B), а у коматозних хворих в корі ВПГМ – також вогнища ламінарного селективного некрозу нейронів. В корі ВПГМ у 5 (16%) померлих хворих з ПЕ G1-2 і у 8 (26%) померлих з ПЕ G3-4 спостерігалися вогнища запусітіння мікросудин (рис. 3.4-C) з медіанними значеннями відсотку запусітих мікросудин в корі ВПГМ/СПЗ при ПЕ G1-2 = 8.45 (5.34; 9.28)%; при ПЕ G3-4 = 12.39 (10.16; 14.61)%. В корі і білій речовині ВПГМ, таламусі, головці хвостатого ядра та мозочку у 5 (16%) померлих хворих з ПЕ G1-2 та у 11 (36%) померлих з ПЕ G3-4 визначалися дрібні вогнища периваскулярного енцефалолізису, які частіше були асоційовані з запусітими судинами МЦР. В корі, білій речовині, мозочку та таламусі у 7 (23%) померлих хворих з ПЕ G3-4 спостерігалися діapedезні крововиливи (рис. 3.4-D).

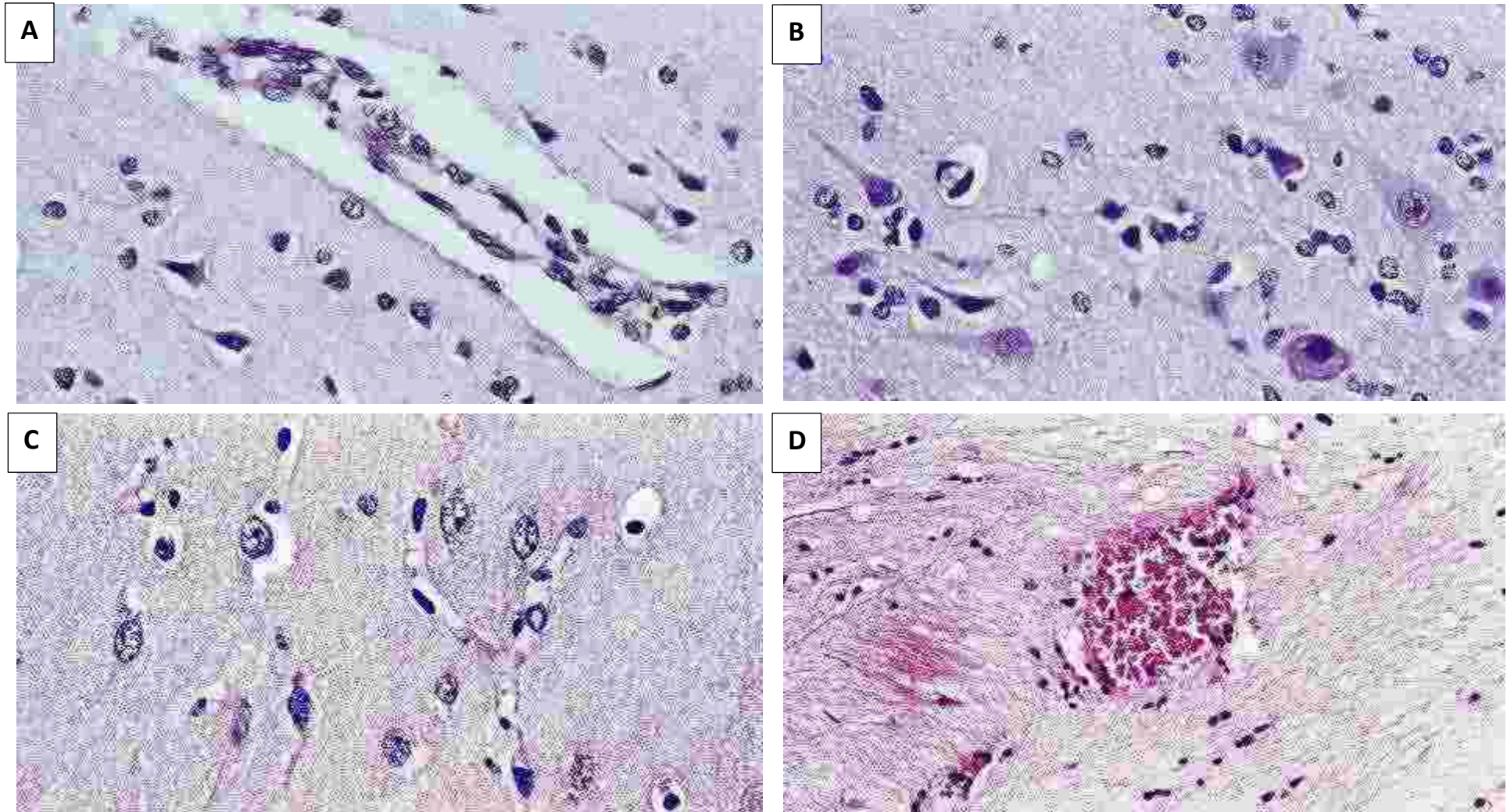


Рисунок 3.4 – Зміни нейронів і мікроциркуляції **A, B, C** – в корі ВПГМ (зб. х 400), **D** – в таламусі (зб. х 200) померлих хворих з ПЕ G1-2, G3-4. Забарвлення Г-Е.

Астроцити Альцгеймера 2 типу. При мікроскопічному аналізі мікропрепаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, в 6-ти досліджених відділах ГМ у всіх 90 померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» виявлялися астроцити Альцгеймера 2 типу (рис. 3.5, 3.6). Ці клітини мали збільшене, просвітлене, вакуолізоване ядро з помітним ядерцем біля ядерної мембрани та з крапковими скупченнями хроматину біля чіткої каріолеми. Ядра АА2 оточені малопомітним обідком цитоплазми (так звані «оголені ядра»), вони щонайменше в 2 рази перевищували розміри ядер сусідніх олігодендроцитів (рис. 3.5). АА2 частіше за все розташовувалися попарно, інколи формували потрійні клітинні скупчення («астроцитарні триплети»).

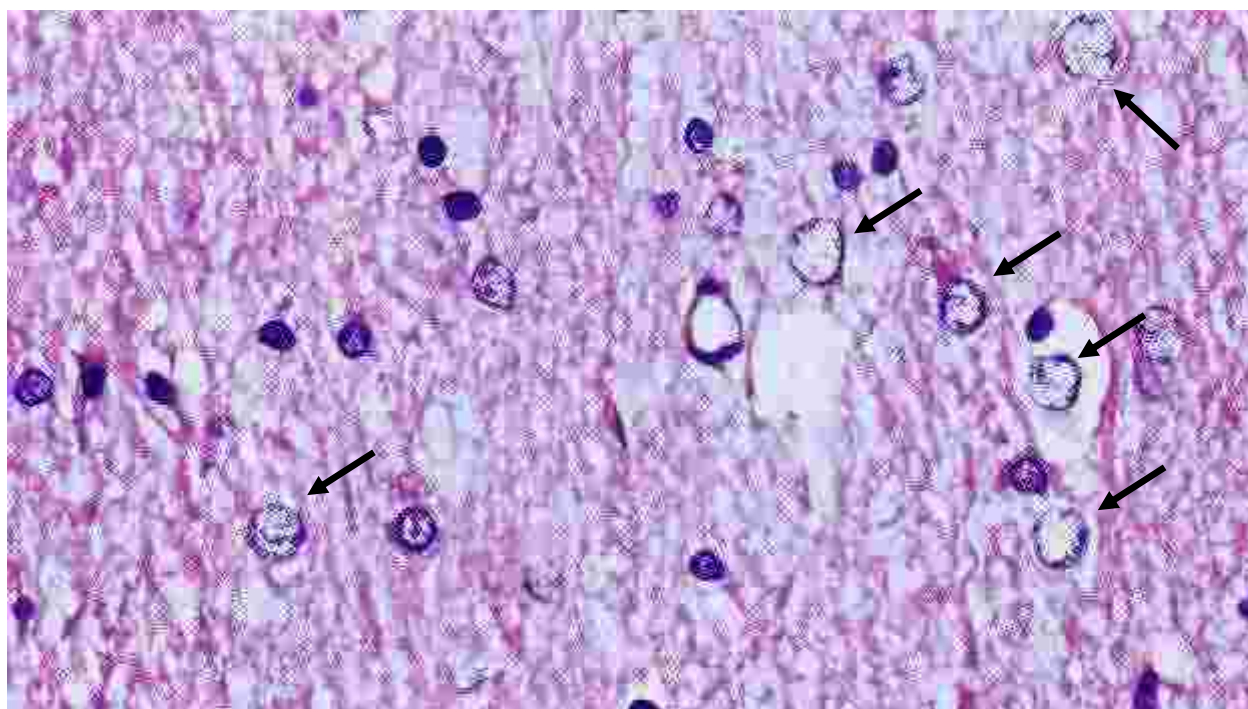


Рисунок 3.5 – Множинні АА2 (стрілки) в таламусі померлого хворого з важкою ПЕ G3 підгрупи «ЦПд». Забарвлення Г-Е. Зб. х 400.

У ГМ померлих осіб групи контролю в досліджених відділах ГМ спостерігалися одиничні АА2/ 20 СПЗ, що відповідало нульовому («0») ступеню Альцгеймер2-астроцитозу (А2-астроцитозу) за використаною нами шкалою (табл. 3.5, рис. 3.7).

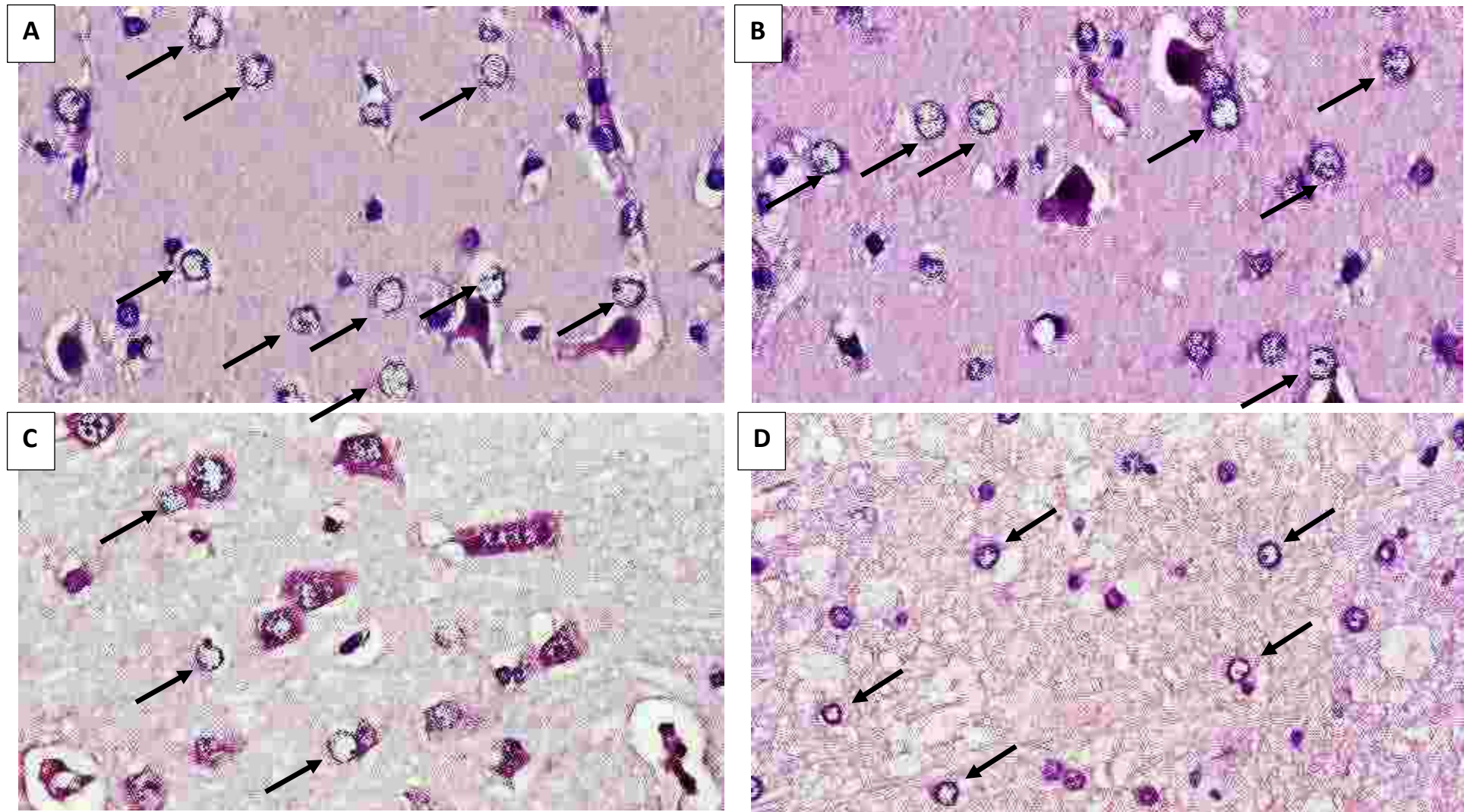


Рисунок 3.6 - Астроцити Альцгеймера 2 типу (стрілки) **A** – в таламусі, **B** – в смугастому тілі, **C** – в корі ВПГМ, **D** – в мозочку померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд». Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. x400, x400, x400, x200.

Встановлено, що у померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» збільшена кількість астроцитів Альцгеймера 2 типу у 6-ти відділах ГМ мала регіон-залежний розподіл в наступній низхідній градації: таламус, мозочок, смугасте тіло, кора ВПГМ, біла речовина ВПГМ, гіпокамп (табл. 3.5, рис. 3.7).

Вже у померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» достовірно ($p < 0.05$) вищі кількості АА2 відносно контролю виявилися в таламусі (вищі в 2.2 рази), смугастому тілі (вищі в 2.3 рази) та мозочку (вищі в 3 рази), що відповідало слабкому А2-астроцитозу I ступеня (табл. 3.5, рис. 3.7).

У померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» визначався вищий (відносно контролю) помірний А2-астроцитоз II ступеня в корі ВПГМ (вищий в 4 рази), таламусі (вищий в 3.7 рази) в мозочку (вищий в 5.3 рази). При цьому в таламусі і мозочку показники А2-астроцитозу також перевищували показники хворих на компенсований ЦП. Слабкий А2-астроцитоз I ступеня визначався у смугастому тілі (в 2.6 разів вищий, ніж в контролі); $p < 0.05$ (табл. 3.5, рис. 3.7).

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» в ГМ відзначався найвищий (відносно контролю) III ступінь А2-астроцитозу: в таламусі (вищий в 8.7 рази), мозочку (вищий в 10.6 рази), смугастому тілі (вищий в 8.3 рази) та корі ВПГМ (вищий в 7.3 рази); помірний II ступінь А2-астроцитозу мав місце у білій речовині ВПГМ (в 4.6 рази вищий, ніж в контролі); при цьому ці показники також перевищували аналогічні параметри підгруп «ЦПк» та «ЦПс» ($p < 0.05$). Слабкий I ступеня А2-астроцитоз у померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 спостерігався в гіпокампі (в 3.5 рази вищий, ніж в контролі); $p < 0.05$ (табл. 3.5, див. рис. 3.6, рис. 3.7).

Таблиця 3.5 – Кількість АА2 та ступінь А2-астроцитозу в ГМ померлих хворих при прогресуванні ЦП та в групі контролю; Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	Параметр	«ЦПк»	«ЦПс»	«ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	АА2 кількість	3.50 (2.00; 5.00)	12.00 (6.00; 14.00) *#	22.00 (20.50; 26.00) *##†	3.00 (2.00; 4.00)
	АА2 - шкала	0	II	III	0
Біла речовина ВПГМ	АА2 кількість	3.00 (2.00; 5.00)	3.00 (2.50; 5.50)	14.00 (11.00; 15.00) *##†	3.00 (1.00; 4.00)
	АА2 - шкала	0	0	II	0
Гіпокамп	АА2 кількість	2.50 (1.00; 3.00)	3.00 (2.00; 5.00)	7.00 (6.50; 9.00) *##†	2.00 (1.00; 3.00)
	АА2 - шкала	0	0	I	0
Таламус	АА2 кількість	9.00 (7.00; 10.00) *	15.00 (12.00; 19.00) *#	35.00 (21.50; 54.00) *##†	4.00 (3.00; 6.00)
	АА2 - шкала	I	II	III	0
Смугасте тіло	АА2 кількість	7.00 (6.00; 9.00) *	8.00 (6.00; 10.00) *	25.00 (22.00; 45.00) *##†	3.00 (3.00; 5.00)
	АА2 - шкала	I	I	III	0
Мозочок	АА2 кількість	9.00 (7.50; 10.00) *	16.00 (14.00; 20.00) *#	32.00 (23.00; 52.00) *##†	3.00 (4.00; 6.00)
	АА2 - шкала	I	II	III	0

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем; (#) – достовірна різниця порівняно з групою «ЦПк»; (†) достовірна різниця порівняно з підгрупою «ЦПс»; $p < 0.05$.

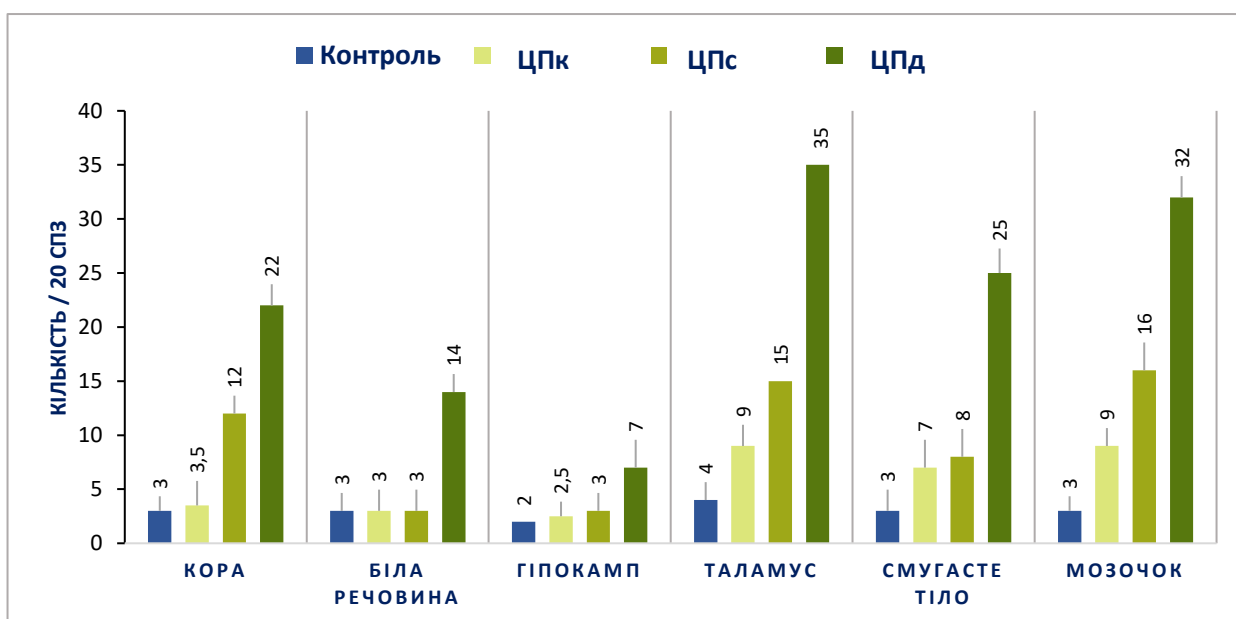


Рисунок 3.7 – Кількість астроцитів Альцгеймеру 2 типу в різних відділах ГМ померлих хворих при прогресуванні ЦП в підгрупах «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

Амілоїдні (крахмалоподібні) тільця. Амілоїдні тільця в препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином та в ШИК-реакції, мають вигляд округлих структур діаметром 4-15 мкм з гомогенним, ледь помітно концентрично-шаруватим, блідим, насичено-рожевим або фіолетовим вмістом (рис. 3.8). У померлих осіб контрольної групи віком від 60 до 81 р, а також у померлих хворих підгрупи «ЦПк» з ПЕ G0 АТ локалізувалися в невеликих кількостях (1-5 од/ 20 СПЗ, зб. х400) у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіяльних ділянках гіпокампальної формації; у периваскулярних і субвентрикулярних ділянках таламусу, хвостатого ядра, а також рідше – в субпіяльних і периваскулярних ділянках кори ВПГМ та мозочка. Рідко поодинокі АТ виявлялися у субарахноїдальному та шлуночковому просторі. В усіх 6 досліджених відділах ГМ померлих осіб контрольної групи і підгрупи «ЦПк» відносна кількість АТ була однаковою ($p>0.05$) (табл. 3.5, рис. 3.9)

У померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» в 5-ти досліджених відділах ГМ (окрім білої речовини ВПГМ) спостерігалася значне і достовірне ($p<0.05$) підвищення кількості АТ, яке набуло максимальної виразності у померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд». Так, у хворих з ПЕ G3-4 медіанна кількість АТ достовірно ($p<0.05$) підвищена відносно показників контролю: в корі ВПГМ – в 6 разів вище, в гіпокампальній формації – в 5.5 рази вище, в таламусі – в 4.5 разів вище, в смугастому тілі – в 3.2 рази вище, в мозочку – в 5 разів вище (табл. 3.5, рис. 3.9, рис. 3.8), а також достовірно ($p<0.05$) перевищувала аналогічні показники померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» і статистично не відрізнялася ($p>0.05$) від медіанних значень кількості АТ в ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» (табл. 3.5).

При легкій і важкій ПЕ підвищена кількість АТ визначалася і у померлих хворих молодше 60 років.

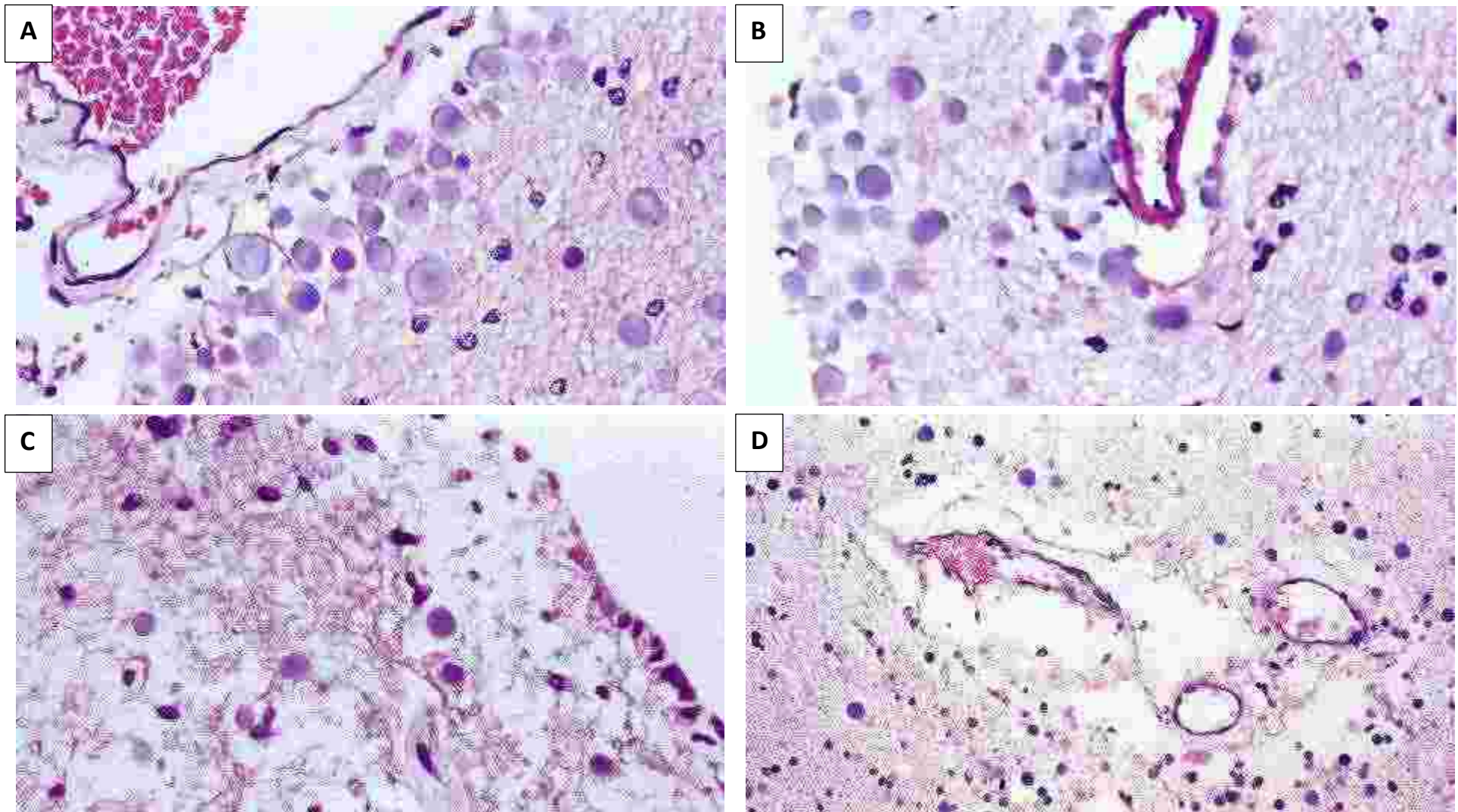
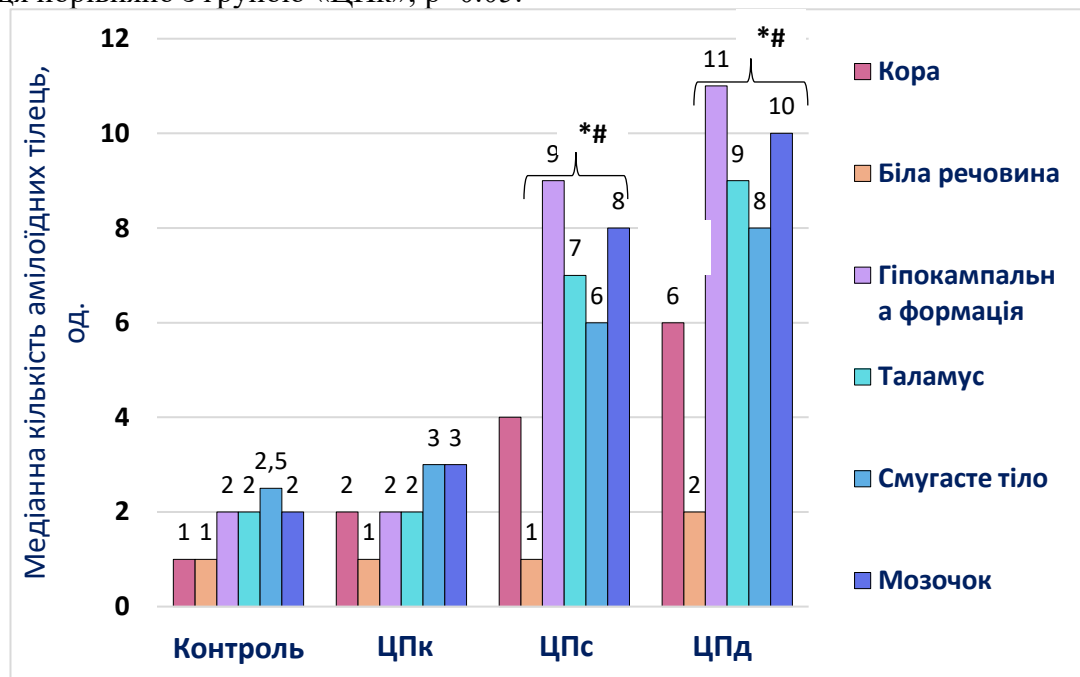


Рисунок 3.8 – Накопичення амілоїдних тілець **A** – в просторі Вірхова-Робіна гіпокампу, **B** – в периваскулярному та субпіальному просторах гіпокампу, **C** – субвентрикулярній зоні головки хвостатого ядра, **D** – в корі навколо вогнища енцефалолізису у померлих хворих з важкою G3-4 ПЕ. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. x400, x400, x400, x100.

Таблиця 3.5 – Кількість амілоїдних тілець в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю (од. у 5 СПЗ х400); Ме (Q1; Q3)

підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	Група контролю
Кора ВПГМ			
2.00 (1.00; 3.00)	4.00 (4.00; 9.50) *#	6.00 (4.50; 11.00) *#	1.00 (0.00; 2.00)
Біла речовина ВПГМ			
1.00 (0.00; 2.00)	1.00 (1.00; 3.00)	2.00 (1.00; 3.00)	1.00 (0.00; 1.00)
Гіпокампальна формація			
2.00 (1.00; 5.00)	9.00 (8.00; 11.00) *#	11.00 (6.00; 16.00) *#	2.00 (1.50; 5.00)
Таламус			
2.00 (1.00; 4.00)	7.00 (5.00; 9.50) *#	9.00 (6.00; 14.00) *#	2.00 (1.00; 3.00)
Смугасте тіло			
3.00 (1.00; 4.00)	6.00 (4.50; 9.00) *#	8.00 (6.00; 10.00) *#	2.50 (1.00; 4.00)
Мозочок			
3.00 (1.00; 5.00)	8.00 (6.50; 12.00) *#	10.00 (7.00; 15.00) *#	2.00 (1.50; 2.00)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем ($p < 0.05$); (#) – достовірна різниця порівняно з групою «ЦПк»; $p < 0.05$.



Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з групою контролю; (#) – достовірна різниця порівняно з підгрупою «ЦПк»; $p < 0.05$.

Рисунок 3.9 – Динаміка медіанної кількості амілоїдних тілець у різних відділах ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

3.2.3 Морфометричні показники площі перицелюлярних і периваскулярних просторів головного мозку у померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості

При мікроскопії ГМ померлих хворих з ПЕ різного ступеню тяжкості звертав увагу феномен розширення периваскулярних (ПВП) і перицелюлярних (ПЦП) просторів (рис. 3.10), прояви якого наростали з прогресуванням ПЕ.

За результатами морфометричного дослідження встановлено, що у померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» підвищення показників розширених ПВ і ПЦ просторів було несуттєвим і не мало статистичної різниці ($p > 0.05$) відносно групи контролю в усіх 6 відділах ГМ (табл. 3.6, рис. 3.11).

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» показники площі розширених периваскулярних, перицелюлярних і сумарних (ПВ+ПЦ) просторів в усіх 6 відділах ГМ були достовірно збільшеними відносно аналогічних показників контрольної групи та хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк». Так, у померлих з ПЕ G1-2 середня сумарна площа розширених ПВ+ПЦ просторів була вищою відносно аналогічних показників осіб контрольної групи: в корі ВПГМ – в 3.6 рази; в білій речовині ВПГМ – в 3.3 рази; в гіпокампі – в 2.4 рази; в таламусі – в 3.9 рази; в смугастому тілі – в 3.9 рази; в мозочку – в 4.1 рази; $p < 0.05$ (табл. 3.6, рис. 3.11).

У померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» показники площі розширених периваскулярних, перицелюлярних і сумарних (ПВ+ПЦ) просторів в усіх 6 відділах ГМ були достовірно вищими відносно аналогічних показників контрольної групи: в корі ВПГМ – в 8.6 рази; в білій речовині ВПГМ – в 7.9 рази; в гіпокампі – в 7.7 рази; в таламусі – в 9.7 рази; в смугастому тілі – в 9.8 рази; в мозочку – в 10 разів, а також відносно аналогічних показників померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» і померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс»; $p < 0.05$ (табл. 3.6, рис. 3.11).

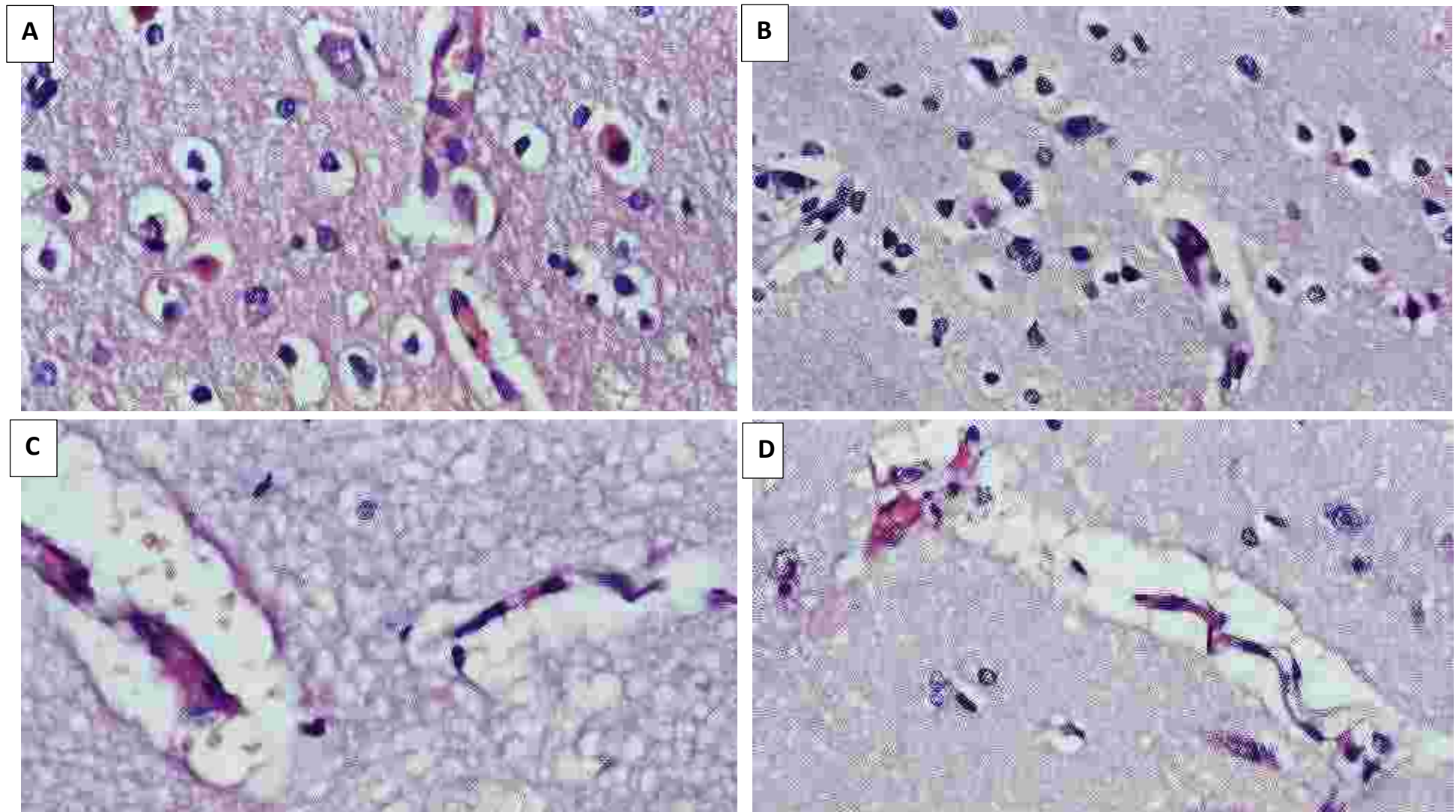
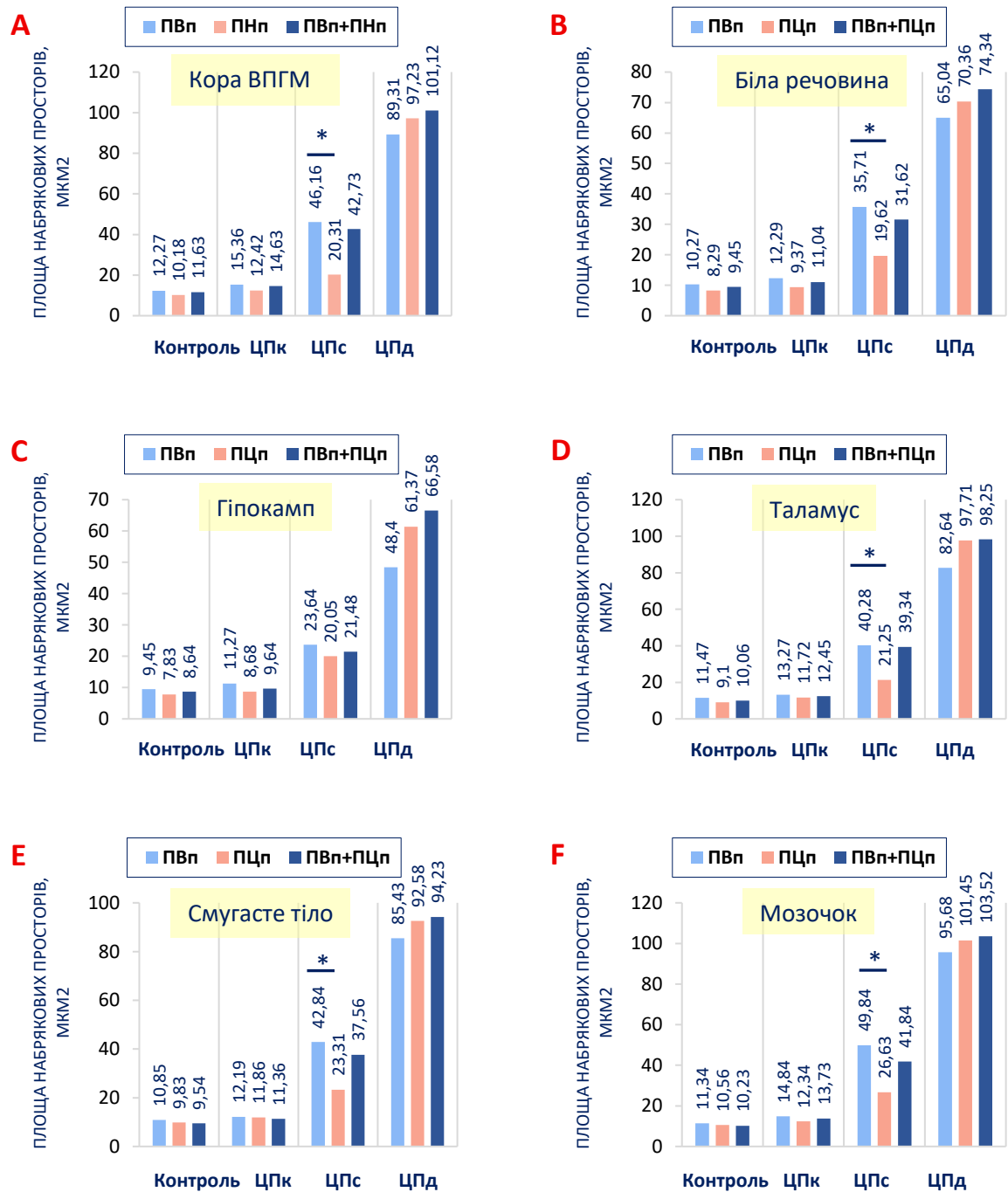


Рисунок 3.10 – Розширення перицелюлярних і периваскулярних просторів **A, B** – в корі ВПГМ, **C** – в білій речовині ВПГМ, **D** – в таламусі померлих хворих з важкою (**A**) і легкою (**B, C, D**) ПЕ. Забарвлення гематоксилін-еозином. 3б. х 400.

Таблиця 3.6 – Морфометричні показники площі (мкм²) перицелюлярних (ПЦп) і периваскулярних (ПВп) просторів в тканині ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю; Ме (Q1; Q3)

Параметр	підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	Група контролю
1	2	3	4	5
Кора ВПГМ				
ПВп	15.36 (11.26; 17.45)	46.16 (38.28; 58.45) *#P	89.31 (76.26; 94.06) *#†	12.27 (10.72; 15.69)
ПЦп	12.42 (10.31; 14.84)	20.31 (16.63; 25.96) *#P	97.23 (72.14; 103.37) *#†	10.18 (9.29; 11.47)
ПВп+ПЦп	14.63 (11.15; 16.38)	42.73 (27.45; 59.12) *#	101.12 (63.14; 103.43) *#†	11.63 (9.48; 14.25)
Біла речовина ВПГМ				
ПВп	12.29 (10.84; 14.02)	35.71 (27.65; 37.93) *#P	65.04 (49.00; 72.35) *#†	10.27 (9.23; 12.18)
ПЦп	9.37 (8.47; 12.72)	19.62 (14.91; 21.57) *#P	70.36 (53.51; 79.24) *#†	8.29 (6.86; 9.84)
ПВп+ПЦп	11.04 (9.27; 13.15)	31.62 (21.84; 35.28) *#	74.34 (65.52; 85.61) *#†	9.45 (7.24; 9.56)
Гіпокамп				
ПВп	11.27 (9.38; 12.86)	23.64 (19.76; 29.45) *#	48.40 (37.85; 64.04) *#†	9.45 (8.72; 10.36)
ПЦп	8.68 (8.06; 10.59)	20.05 (12.36; 20.65) *#	61.37 (45.88; 71.47) *#†	7.83 (5.93; 8.95)
ПВп+ПЦп	9.64 (9.14; 11.93)	21.48 (15.39; 30.49) *#	66.58 (60.47; 70.15) *#†	8.64 (6.38; 9.59)
Таламус				
ПВп	13.27 (10.39; 15.24)	40.28 (30.92; 45.12) *#P	82.64 (65.09; 93.18) *#†	11.47 (9.36; 12.02)
ПЦп	11.72 (9.83; 12.45)	21.25 (15.28; 27.53) *#P	97.71 (77.06; 105.42) *#†	9.10 (8.14; 10.35)
ПВп+ПЦп	12.45 (11.27; 14.75)	39.34 (25.92; 42.05) *#	98.25 (80.63; 100.62) *#†	10.06 (8.15; 11.45)
Смугасте тіло				
ПВп	12.19 (10.36; 16.98)	42.84 (29.83; 48.63) *#P	85.43 (79.18; 83.32) *#†	10.85 (9.78; 13.56)
ПЦп	11.86 (10.27; 15.94)	23.31 (18.95; 25.03) *#P	92.58 (86.71; 99.84) *#†	9.83 (8.85; 12.84)
ПВп+ПЦп	11.36 (10.20; 15.16)	37.56 (24.06; 47.83) *#	94.23 (74.95; 98.61) *#†	9.54 (9.32; 12.51)
Мозочок				
ПВп	14.84 (12.74; 16.56)	49.84 (45.35; 55.89) *#P	95.68 (84.15; 104.57) *#†	11.34 (10.52; 12.43)
ПЦп	12.34 (11.18; 16.54)	26.63 (20.72; 36.45) *#P	101.45 (90.76; 109.52) *#†	10.56 (9.28; 11.51)
ПВп+ПЦп	13.73 (11.59; 16.45)	41.84 (30.06; 48.34) *#	103.52 (94.83; 106.27) *#†	10.23 (9.98; 11.56)

Примітка. (*) - достовірна різниця відносно контролю ($p < 0.05$); (#) – достовірна різниця відносно групи «ЦПк» ($p < 0.05$); (P) достовірна різниця між показниками ПВп і ПЦп в межах одного відділу ГМ ($p < 0.05$); (†) достовірна різниця відносно групи «ЦПс» ($p < 0.05$).



Примітка. * - наявність достовірної ($p < 0.05$) різниці між показниками ПВп і ПЦп у померлих хворих підгрупи «ЦПс» субкомпенсованого ЦП; ПВп – периваскулярні простори; ПЦп – перинейрональні простори.

Рисунок 3.11 – Динаміка медіанних значень (Me) площі розширених тканинних просторів (в μm^2) в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), зубчастій звивині гіпокампу (С), таламусі (D), смугастому тілі (Е), корі та білій речовині мозочку (F) померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

При аналізі результатів морфометричних вимірів визначено, що при легкій ПЕ G1-2 у померлих хворих підгрупи «ЦПс» в 5-ти досліджених відділах ГМ (окрім гіпокампу) площа розширених периваскулярних просторів достовірно ($p < 0.05$) перевищувала площу розширених перицелюлярних просторів (див. табл. 3.6, див. рис. 3.11).

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» значне збільшення сумарної площі розширених ПВ+ПЦ просторів складалося з майже чотириразового зростання (відносно показників хворих з легкою ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс») площі розширених перицелюлярних просторів і тільки з дворазового збільшення площі периваскулярних просторів. Незважаючи на стрімке зростання площі розширених ПЦ просторів, при важкій ПЕ різниця між показниками площі ПВ і ПЦ просторів була статистично не достовірною ($p > 0.05$), хоча визначилася чітка тенденція ($p > 0.05$) до переважання площі розширених перицелюлярних просторів над периваскулярними (див. табл. 3.6; див. рис. 3.11).

3.2.4 Гістохімічний рівень тканинного аміаку в головному мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості

ГХ методом виявлення аміаку в нервовій тканині за методикою V. Gutiérrez-de-Juan та співавт. (2017) з використанням реактиву Неслера в тканині ГМ померлих хворих з ПЕ різного ступеня тяжкості та померлих осіб контрольної групи визначено регіон-залежну, дрібнозернисту, різної оптичної щільності експресію аміаку.

В ГМ померлих осіб контрольної групи в усіх шести досліджуваних відділах ГМ визначалися вкрай низька ГХ експресія аміаку з найбільш низькими показниками в субкортикальній білій речовині ВПГМ, а найбільш високими – в мозочку і таламусі (рис. 3.12-3.14, табл. 3.7, рис. 3.15). Відповідно до застосованої нами шкали оптичної щільності експресії аміаку, вираженої в УООЩ, ці показники відповідали «негативній експресії» («-»).

У померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» в шести досліджених відділах ГМ визначалися підвищена, регіон-залежна ГХ експресія аміаку. Вже у померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» спостерігалася слабка («+») ГХ експресія, яка була достовірно ($p < 0.05$) вища за показники померлих осіб групи контролю: в корі ВПГМ – на 49.44%; таламусі – на 38.59%; смугастому тілі – на 32.01% та мозочку – на 48.27%, між тим, в білій речовині ВПГМ та гіпокампі експресія аміаку залишалася негативною («-») і не відрізнялася від показників групи контролю ($p > 0.05$) (рис. 3.12-3.15, табл. 3.7).

У померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» помірна («++») ГХ експресія аміаку визначалася в 3-х відділах ГМ, де рівень експресії достовірно ($p < 0.05$) перевищував показники контрольної групи (в таламусі – в 3.4 рази; в смугастому тілі – в 3 рази, в мозочку – в 3.4 рази), а також показники померлих хворих з ПЕ G0. Слабка («+») ГХ експресія аміаку виявлялася в корі ВПГМ з перевищенням контрольних значень на 62.84% ($p < 0.05$) та в гіпокампі – вище показників контролю на 30.31% і вище показників хворих з ПЕ G0 ($p < 0.05$). Вкрай низька (негативна «-») ГХ експресія визначалася в білій речовині ВПГМ, медіанні значення якої не відрізнялися від показників контрольної групи ($p > 0.05$) (рис. 3.12-3.15, табл. 3.7).

У померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» ГХ експресія амонійних преципітатів в усіх 6-ти досліджених відділах ГМ значно і достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники померлих групи контролю, хворих з ПЕ G0 та хворих з ПЕ G1-2. Максимально висока («+++») експресія аміаку, що перевищувала контрольні показники, визначалася: в мозочку – вище в 6.2 рази; у таламусі – вище в 5.7 рази; у смугастому тілі – вище в 5.5 рази. Помірна («++») ГХ експресія аміаку визначалася в корі ВПГМ (вище контролю в 3.54 рази) і в гіпокампі (вище контролю в 3.21 рази). Слабка («+») ГХ експресія аміаку виявлена в білій речовині ВПГМ (вище контролю в 1.90 рази) (рис. 3.12-3.15, табл. 3.7).

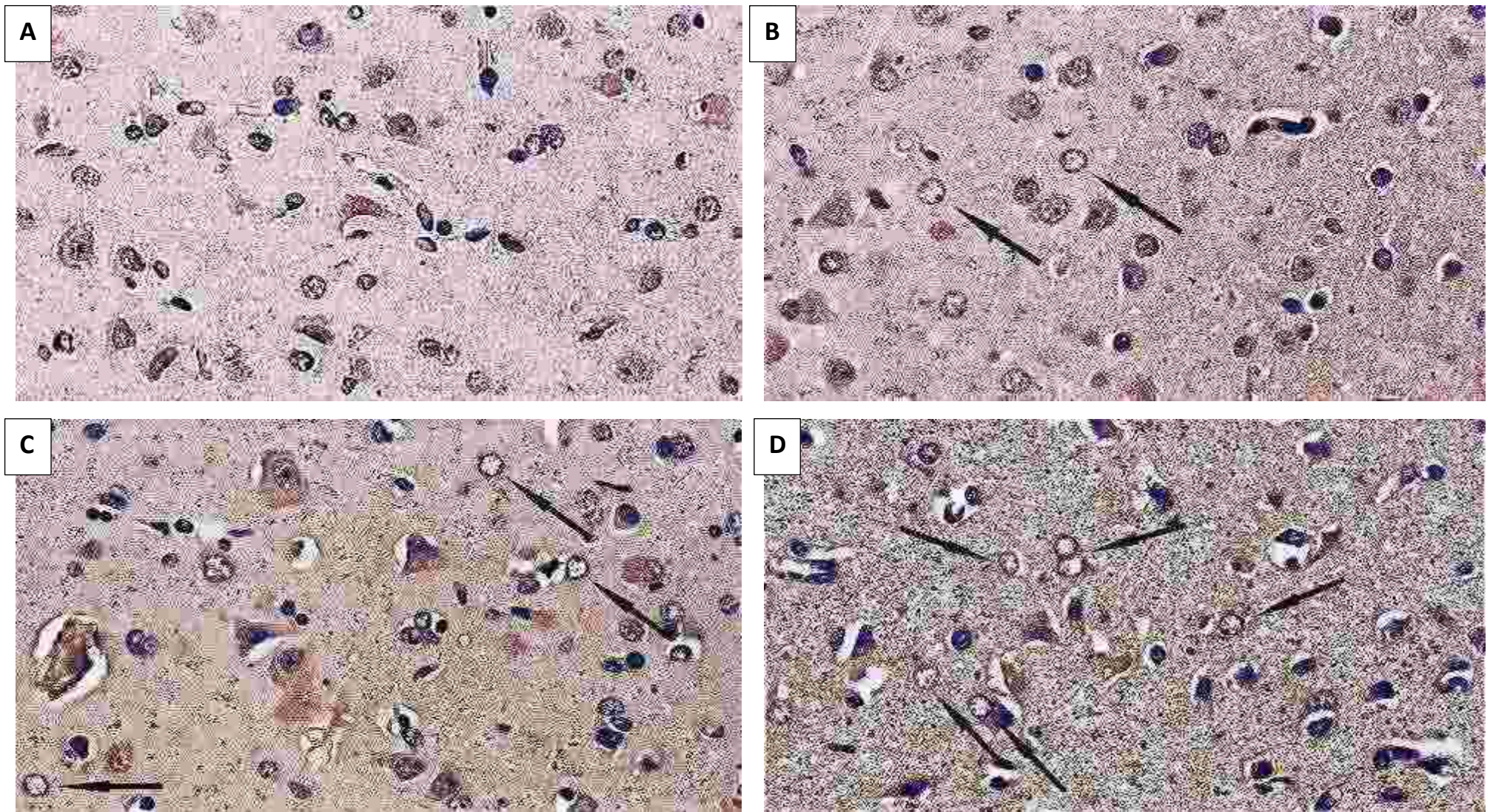


Рисунок 3.12 – А2-астроцитоз (стрілки) при відсутній («-»), слабкій («+»), помірній («++»), сильній («+++») експресії аміаку в корі ВПГМ померлих хворих групи контролю (А), підгрупи «ЦПк» (В), «ЦПс» (С) та «ЦПд» (Е) відповідно. ГХ реакція з реактивом Несслера. Зб. х 400.

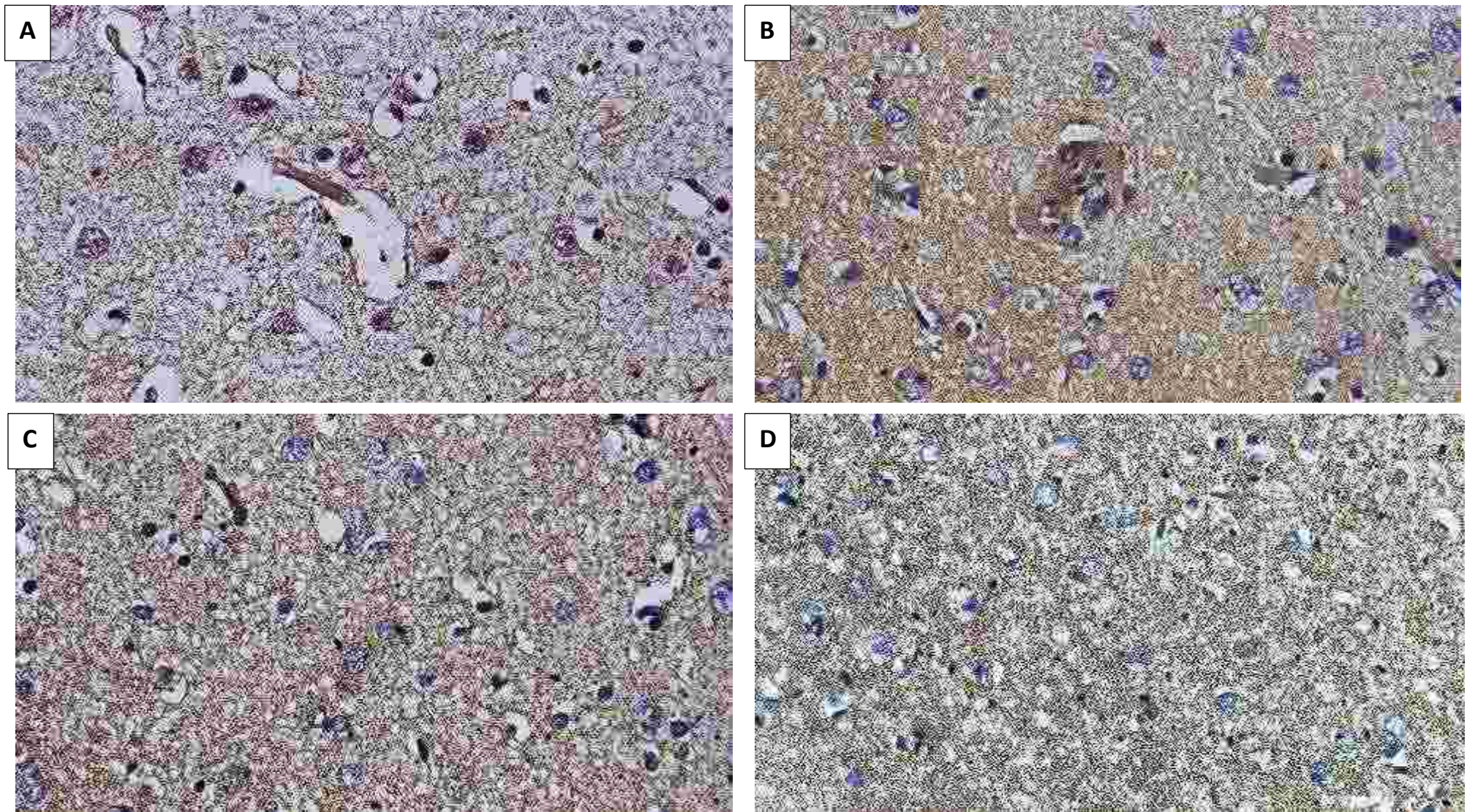


Рисунок 3.13 – Відсутня («-»), слабка («+»), помірна («++»), сильна («+++») експресія аміаку в таламусі померлих хворих групи контролю (А), підгрупи «ЦПк» (В), «ЦПс» (С) та «ЦПд» (D). ГХ реакція з реактивом Несслера. 3б. х 400.

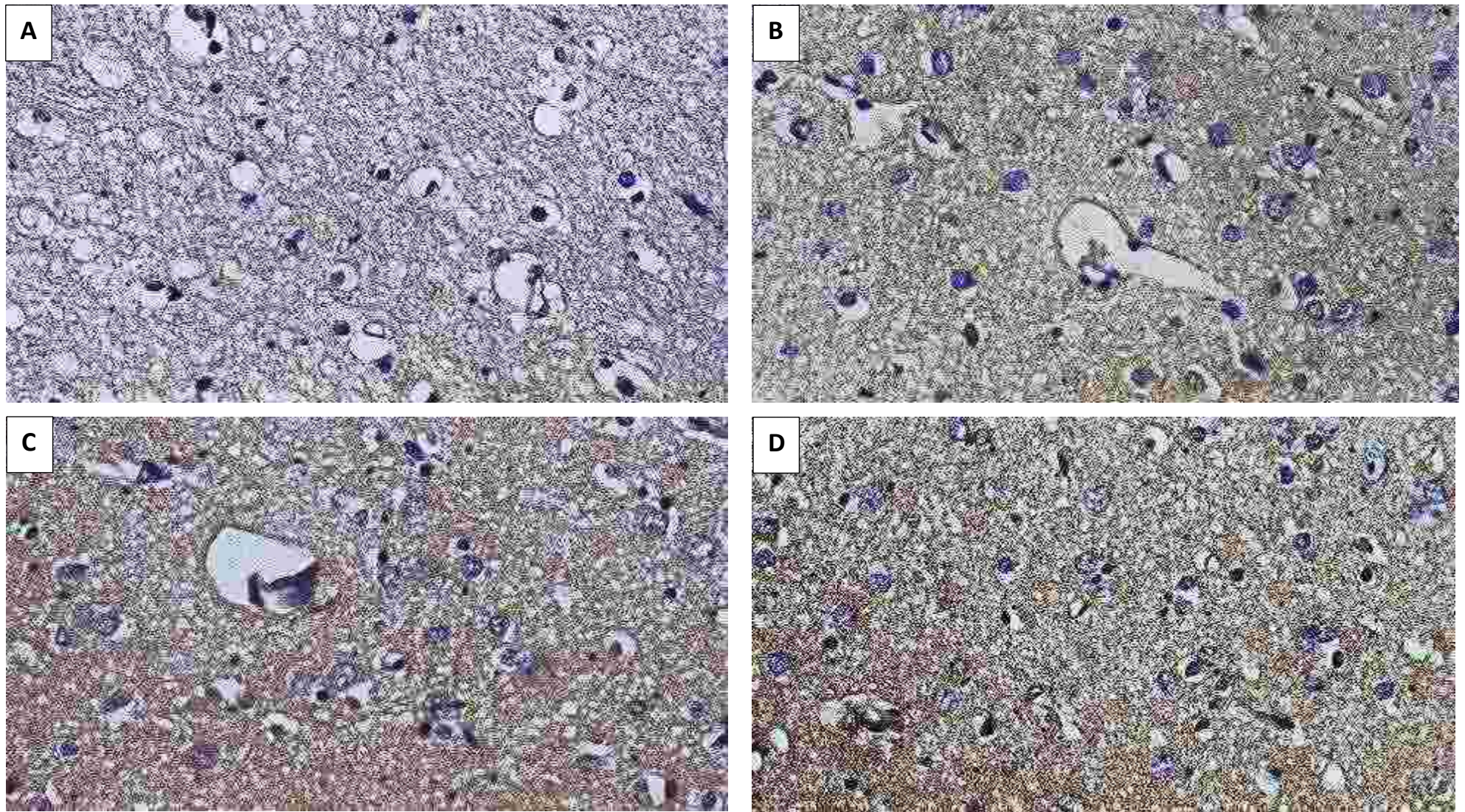


Рисунок 3.14 – Відсутня («-»), слабка («+»), помірна («++»), сильна («+++») експресія аміаку в смугастому тілі померлих хворих групи контролю (А), підгрупи «ЦПк» (В), «ЦПс» (С) та «ЦПд» (D). ГХ реакція з реактивом Несслера. Зб. х 400.

Таблиця 3.7 – Показники ГХ експресії аміаку (в УООЩ) і шкала експресії аміаку у померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю

Відділ мозку	Параметр	«ЦПк»	«ЦПс»	«ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	Експресія аміаку (УООЩ)	27.11 (23.82; 28.85) *	29.54 (24.34; 35.12) *	64.23 (53.12; 76.07) *#†	18.14 (15.26; 19.53)
	Шкала аміаку	+	+	++	-
Біла речовина ВПГМ	Експресія аміаку (УООЩ)	11.23 (10.75; 15.81)	12.47 (11.15; 16.20)	21.15 (20.22; 22.73) *#†	11.10 (10.34; 14.26)
	Шкала аміаку	-	-	+	-
Гіпокамп	Експресія аміаку (УООЩ)	18.12 (15.57; 19.37)	22.48 (21.39; 33.79) *#	55.43 (52.61; 61.48) *#†	17.25 (14.68; 18.72)
	Шкала аміаку	-	+	++	-
Таламус	Експресія аміаку (УООЩ)	26.68 (24.72; 29.35) *	65.47 (51.71; 78.89) *#	110.23 (99.22; 112.35) *#†	19.25 (16.58; 19.72)
	Шкала аміаку	+	++	+++	-
Смугасте тіло	Експресія аміаку (УООЩ)	24.37 (22.68; 26.61) *	55.52 (32.48; 65.57) *#	101.56 (100.48; 103.27) *#†	18.46 (15.69; 18.93)
	Шкала аміаку	+	++	+++	-
Мозочок	Експресія аміаку (УООЩ)	29.27 (26.48; 31.43) *	67.08 (34.29; 84.27) *#	122.16 (107.37; 131.27) *#†	19.74 (18.32; 19.83)
	Шкала аміаку	+	++	+++	-

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем ($p < 0.05$); (#) – достовірна різниця порівняно з групою «ЦПк»; (†) достовірна різниця в порівнянні з групою «ЦПс»; $p < 0.05$.

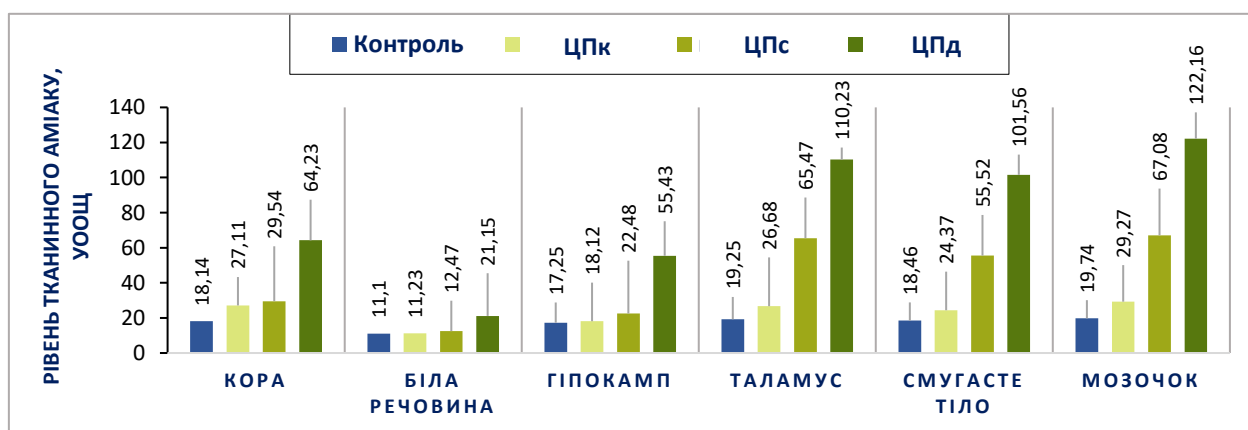


Рисунок 3.15 – Медіанні значення ГХ експресії аміаку, в ГМ померлих хворих підгрупи «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та померлих пацієнтів групи контролю.

Аналіз мікропрепаратів показав наявність взаємозв'язку між зростанням експресії аміаку та виразністю А2-астроцитозу в тканині ГМ, що було далі підтверджено кореляційним статистичним методом.

3.2.5 Імуногістохімічне дослідження гліонейроваскулярного комплексу померлих хворих на цироз печінки

3.2.5.1 Імуногістохімічна характеристика астроглії головного мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості

ІГХ аналіз виявив гетерогенні рівні експресії ключових астроцитарних білків GFAP, GS і AQP4 в різних відділах ГМ у померлих хворих з ПЕ різного ступеня тяжкості при прогресуванні цирозу печінки.

Експресія гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP). У померлих осіб групи контролю цитоплазматична експресія білку астроцитарного цитоскелету GFAP в ГМ виявилася достовірно ($p < 0.05$) найбільш виразною в білій речовині ВПГМ, а найменшою – в корі ВПГМ (Табл. 3.9, рис. 3.16). GFAP-позитивна астроглія кори ВПГМ мала типову морфологію протоплазматичних астроцитів, термінальної глії (рис. 3.17), інтерламінарних і варикозно-проекційних астроцитів, в той час як в білій речовині, зубчастій звивині гіпокампі (ЗЗГ), таламусі, смугастому тілі і мозочку спостерігалася різнотипова GFAP⁺ астрогліальна популяція з переважанням фібрилоутворюючих астроцитів з відносно більш інтенсивною експресією GFAP в їх цитоплазмі і відростках.

З прогресуванням тяжкості ПЕ і ЦП площа експресії GFAP поступово зменшувалася через зниження кількості GFAP⁺ астроцитів та значного укорочення та витончення їх GFAP⁺-відростків (рис. 3.17).

У померлих хворих підгрупи «ЦПк» з ПЕ G0 в ГМ виявлена достовірно ($p < 0.05$) знижена експресія GFAP відносно групи контролю в усіх 6 досліджених відділах ГМ: в корі ВПГМ і гіпокампі – на 75.88%; в білій речовині ВПГМ – на 61.63%; в таламусі – на 119.31%, в смугастому тілі – на 44.88%, в мозочку – на 45.57%. В ГМ померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» знижений рівень експресії GFAP відносно контролю був більш виразним: в корі ВПГМ – в 5 разів, в білій речовині ВПГМ – в 2.5 рази,

в гіпокампі – в 2.4 рази, в таламусі – в 3.7 рази, в смугастому тілі – в 2.8 рази, в мозочку – в 2.2 рази. Максимально знижена площа експресії GFAP виявлена в ГМ померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд»: в корі ВПГМ – в 6.7 рази, в білій речовині ВПГМ – в 3.4 рази, в гіпокампі – в 3 рази, в таламусі – в 6.2 рази, в смугастому тілі – в 4.6 рази, в мозочку – в 3 рази ($p < 0.05$) (табл. 3.9, рис. 3.16, рис.3.17).

Таблиця 3.9 – Відносна площа експресії GFAP в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» і групи контролю (S rel.%); (Me (Q1; Q3))

Відділ мозку	підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	контроль
Кора ВПГМ	2.57 (2.23; 3.21) *	0.88 (0.81; 1.52) *#	0.67 (0.23; 0.78) *#†	4.52 (4.23; 5.57)
Біла речовина ВПГМ	11.26 (10.70; 12.23) *	7.31 (5.41; 9.83) *#	5.25 (4.81; 5.76) *#	18.20 (17.11; 18.43)
Гіпокамп	4.05 (3.95; 4.52) *	2.95 (2.83; 3.50) *#	2.26 (1.90; 2.72) *#†	7.10 (6.58; 7.89)
Таламус	2.90 (2.57; 3.25) *	1.68 (1.22; 1.95) *#	1.02 (0.95; 1.37) *#	6.36 (5.91; 6.79)
Смугасте тіло	4.30 (3.71; 4.52) *	2.21 (1.72; 3.62) *#	1.34 (1.12; 1.67) *#†	6.23 (5.70; 7.84)
Мозочок	3.84 (3.10; 4.11) *	2.54 (2.45; 2.93) *#	1.80 (1.63; 2.11) *#†	5.59 (5.18; 5.83)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем; (#) - достовірна різниця порівняно з групою «ЦПк»; (†) - достовірна різниця порівняно з групою «ЦПс»; ($p < 0.05$).

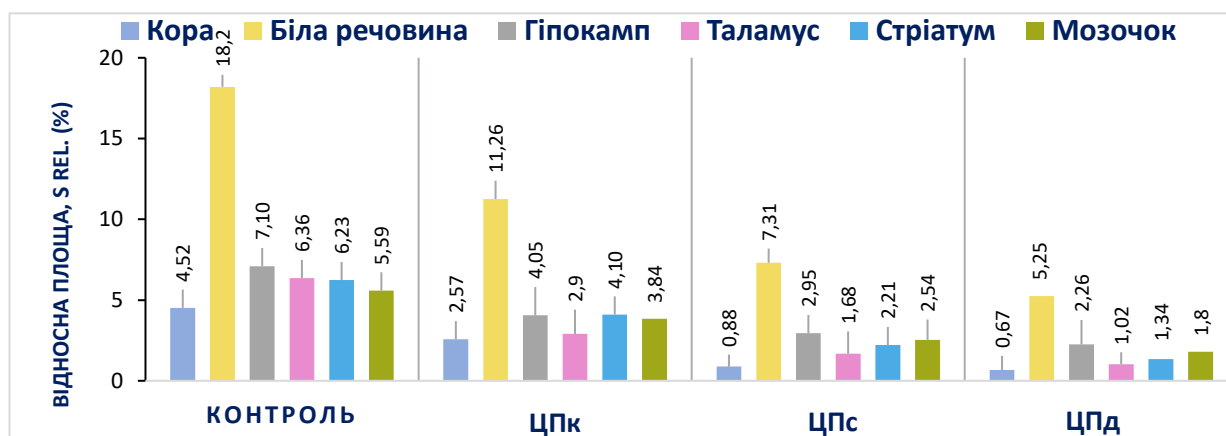
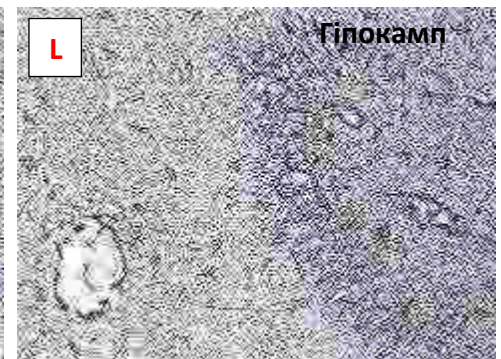
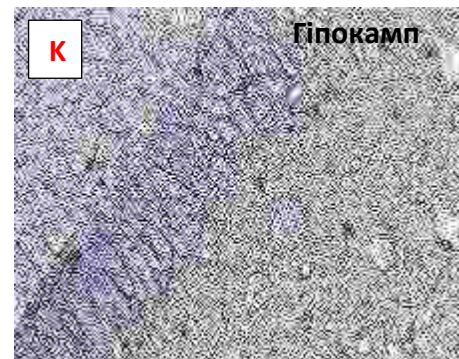
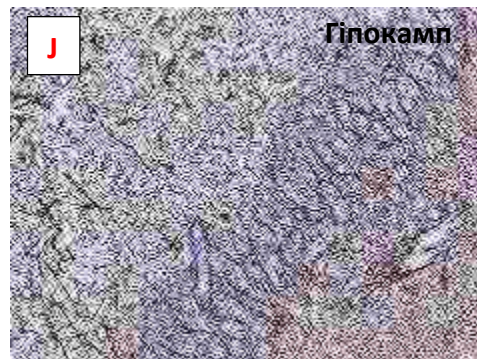
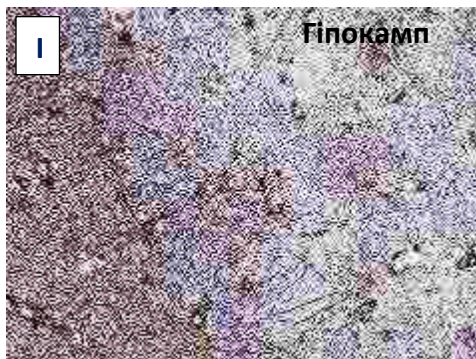
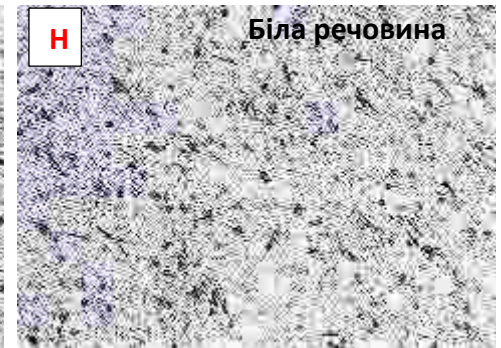
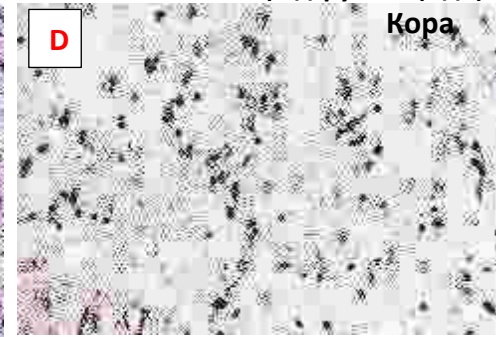
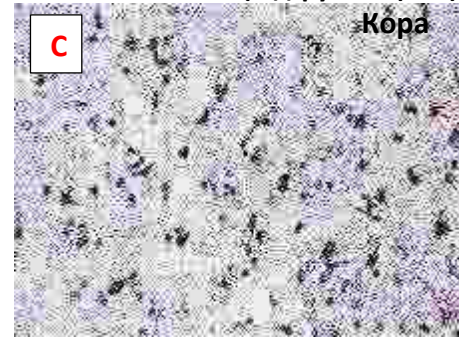
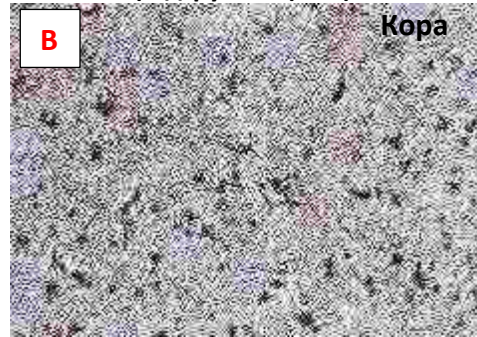
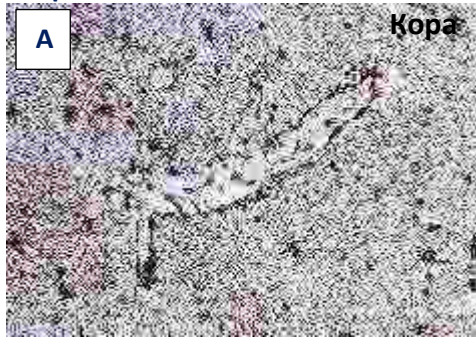


Рисунок 3.16 – Динаміка медіанних показників експресії GFAP у ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

Контроль**ПЕ Grade 0 (підгрупа «ЦПк»)****Легка ПЕ Grade 1-2 (підгрупа «ЦПс»)****Важка ПЕ Grade 3-4 (підгрупа «ЦПд»)**

Продовження рисунку 3.17

Контроль

ПЕ Grade 0 (підгрупа «ЦПк»)

Легка ПЕ Grade 1-2 (підгрупа «ЦПс»)

Важка ПЕ Grade 3-4 (підгрупа «ЦПд»)

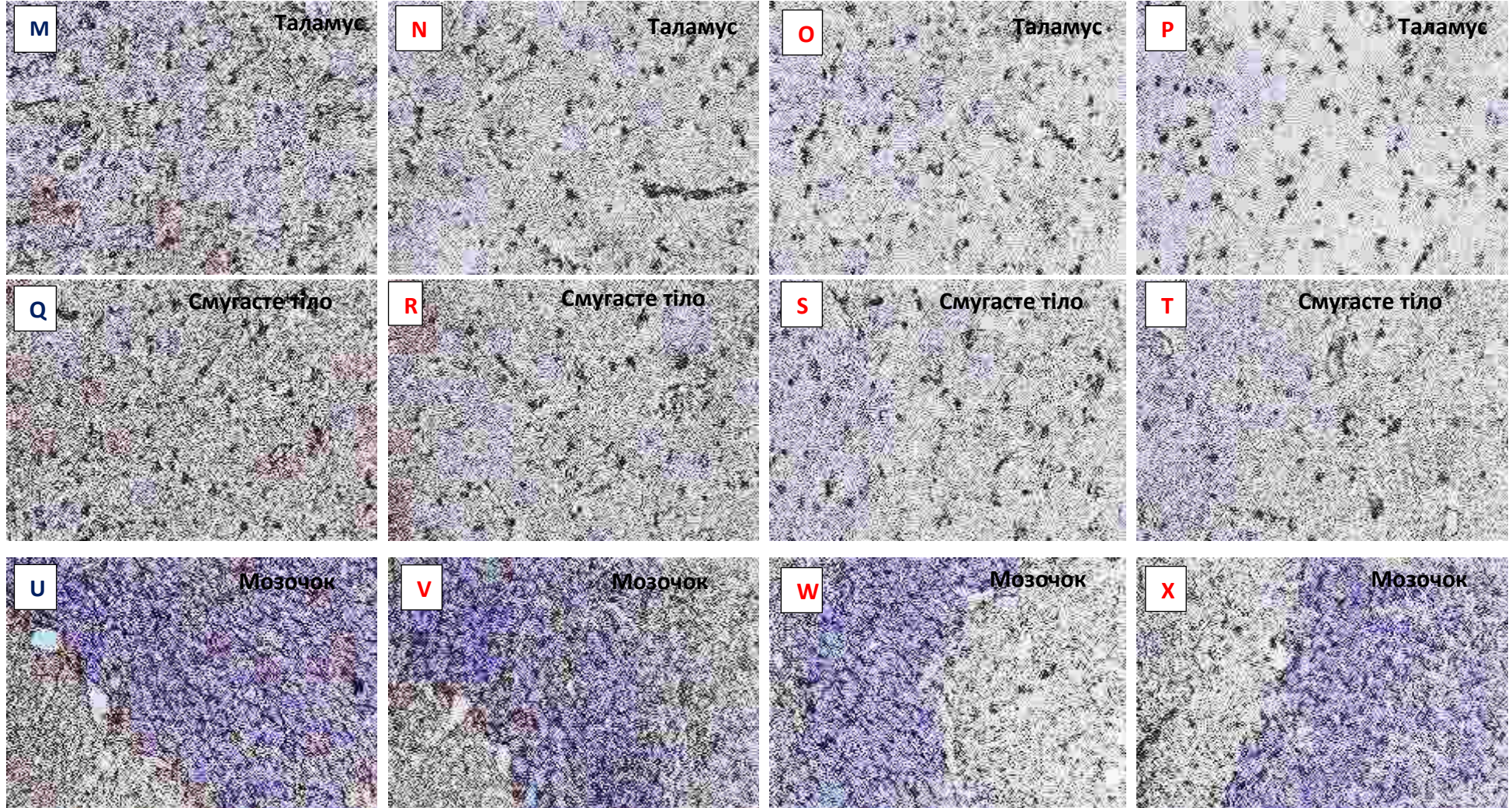


Рисунок 3.17 – Експресія GFAP у померлих хворих без ПЕ (В, F, J, N, R, V), з легкою ПЕ G1-2 (C, G, K, O, S, W) і важкою ПЕ G3-4 (D, H, L, P, T, X) підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» в порівнянні з контрольною групою (A, E, I, M, Q, U).
Mo monoclonal a-Hu GFAP Ab (Clone ASTRO6), x200.

Експресія глутамінсинтетази (GS). Показники відносної площі цитоплазматичної експресії білку-регулятору глутамат-глутамінового човника GS в астроцитах ГМ померлих пацієнтів групи контролю виявилися найвищими в корі ВПГМ та найнижчими у білій речовині ВПГМ (табл. 3.9, рис. 3.18). Експресія GS в основному реєструвалася в периваскулярних астроцитарних ніжках термінальної астроглії і рідше – в нейропільних відростках та тілах астроцитів протоплазматичного типу (рис. 3.19).

По мірі прогресуванні тяжкості ПЕ і ЦП виявлено чітке зростання площі експресії GS, зумовлене більш розповсюдженою імунореактивністю цитоплазми клітинних тіл та астрогліальних нейропільних відростків у всіх досліджених відділах ГМ (рис. 3.19).

Вже у померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» визначена достовірно ($p < 0.05$) підвищена площа експресії GS відносно показників контрольної групи у всіх досліджених відділах ГМ: в корі ВПГМ – вище на 136.36%; в білій речовині ВПГМ – на 39.62%; в гіпокампі – вище на 56.44%; в таламусі – на 96.27%, в смугастому тілі – на 86.41%; в мозочку – вище на 118.93% (табл. 3.9; рис. 3.18, рис. 3.19).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» достовірно ($p < 0.05$) підвищена площа експресії GS відносно контролю була більш суттєвою: в корі ВПГМ – збільшена в 3.6 рази; в білій речовині ВПГМ – в 2.5 рази, в гіпокампі – в 2.7 рази; в таламусі – в 3.4 рази; смугастому тілі – більша в 2 рази; в мозочку – в 2.5 рази (табл. 3.9; рис. 3.18, рис. 3.19).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» вивлена достовірно ($p < 0.05$) максимально збільшена площа експресії GS у всіх досліджених відділах ГМ відносно контролю: в корі ВПГМ – в 4.3 рази; в білій речовині ВПГМ – в 3 рази; в гіпокампі – більше в 3.5 рази; в таламусі – в 4 рази; в смугастому тілі – в 2.9 рази; в мозочку – в 2.9 рази (табл. 3.9; рис. 3.18, рис. 3.19).

Площа експресії GS достовірно підвищувалася у підгрупах послідовного зростання тяжкості ПЕ і прогресування ЦП тільки в білій речовині ВПГМ,

$p < 0.05$. У корі ВПГМ, гіпокампі і таламусі зростаючі показники експресії GS достовірно відрізнялися між підгрупами «ЦПк»/«ЦПс» та «ЦПк»/«ЦПд» ($p < 0.05$), але не між «ЦПс»/«ЦПд» ($p > 0.05$), а в смугастому тілі та мозочку експресія GS достовірно різнилася між підгрупами «ЦПк»/«ЦПд» та «ЦПс»/«ЦПд» ($p < 0.05$), але не між групами «ЦПк»/«ЦПс» ($p > 0.05$).

Таблиця 3.9 – Відносна площа експресії GS в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» і групи контролю (S rel.%); (Me (Q1; Q3))

Відділ мозку	підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	10.14 (7.11; 11.21) *	15.54 (14.71; 17.12) *#	18.66 (16.14; 19.03) *#	4.29 (2.26; 5.63)
Біла речовина ВПГМ	0.74 (0.65; 0.88) *	1.32 (1.27; 1.45) *#	1.62 (1.52; 1.88) *#†	0.53 (0.34; 0.60)
Гіпокамп	3.52 (3.28; 5.43) *	6.12 (5.58; 8.15) *#	7.88 (7.64; 8.45) *#	2.25 (0.53; 2.90)
Таламус	4.22 (4.15; 5.11) *	7.43 (6.25; 8.74) *#	9.18 (8.23; 10.40) *#	2.15 (1.73; 3.45)
Смугасте тіло	3.43 (2.72; 5.02) *	3.84 (3.07; 5.11) *	5.43 (5.27; 6.14) *#†	1.84 (1.33; 2.12)
Мозочок	5.32 (5.27; 6.72) *	6.22 (5.47; 6.86) *	7.28 (7.14; 8.67) *#†	2.43 (0.63; 2.84)

Примітка. (*) - достовірна різниця в відносно контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; (†) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПс»; $p < 0.05$.

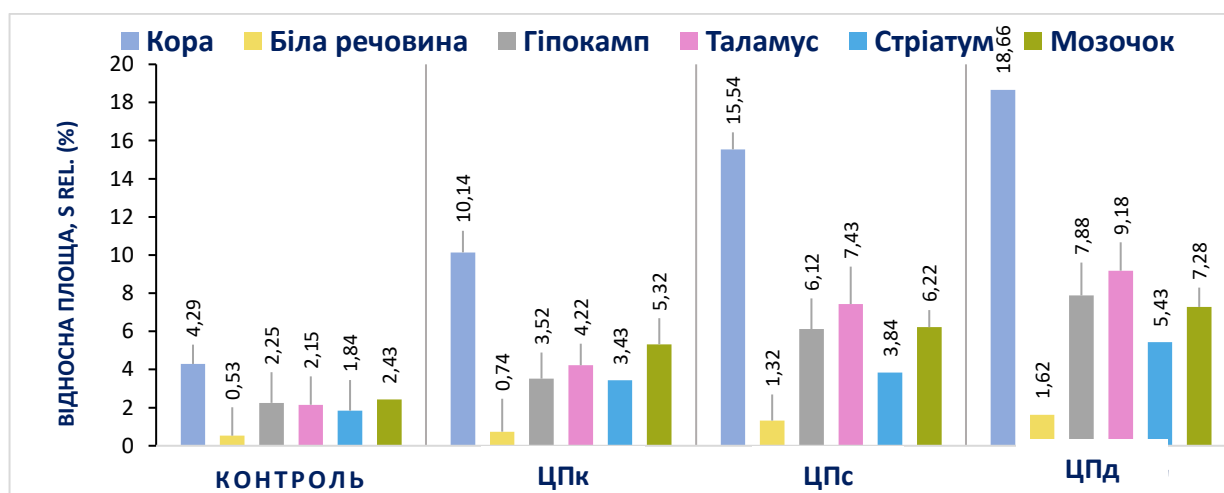
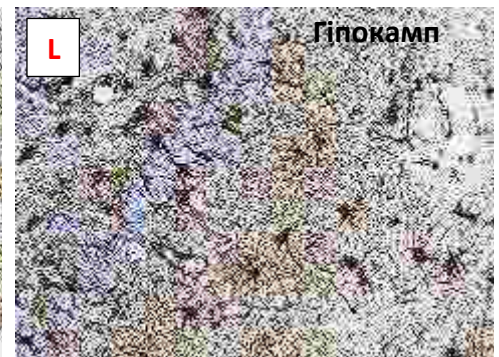
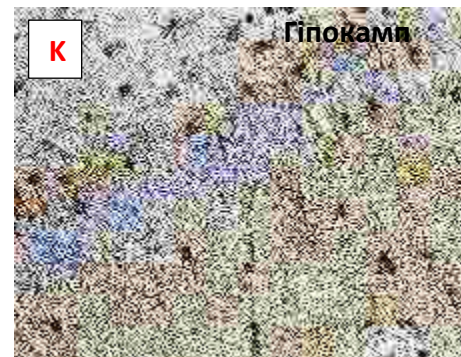
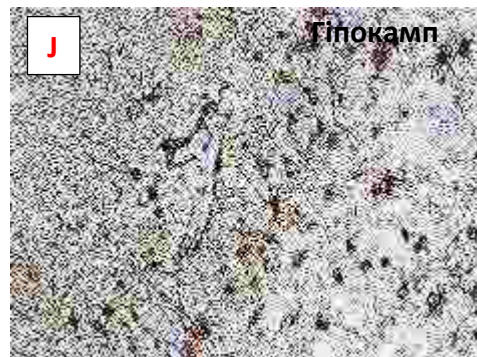
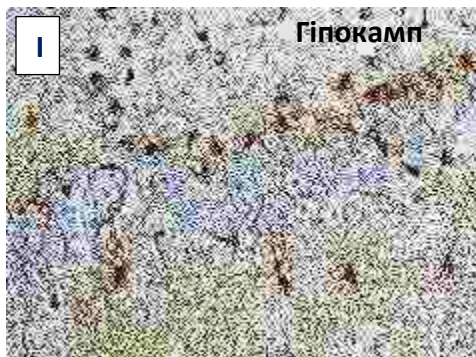
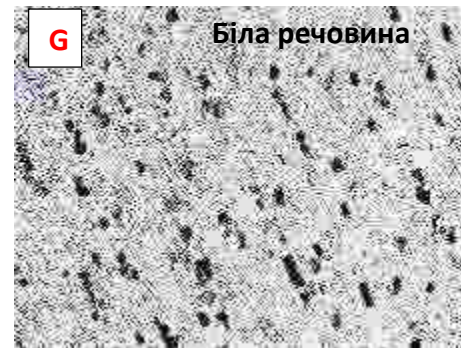
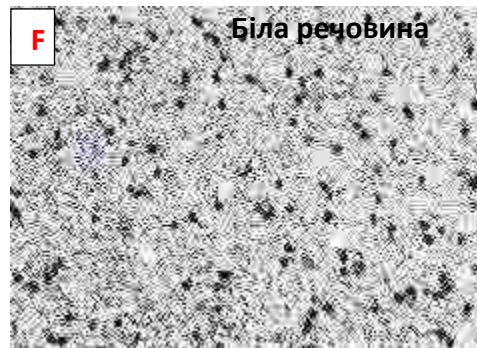
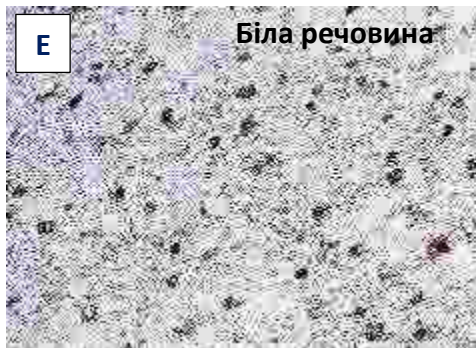
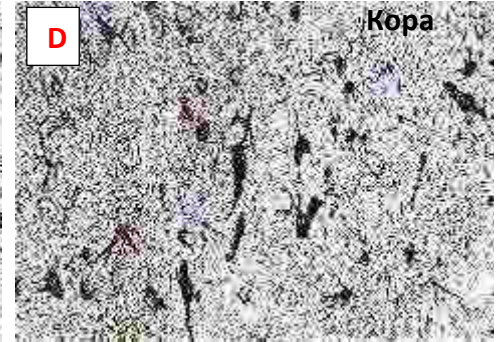
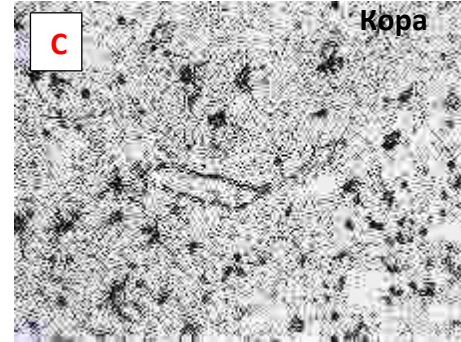
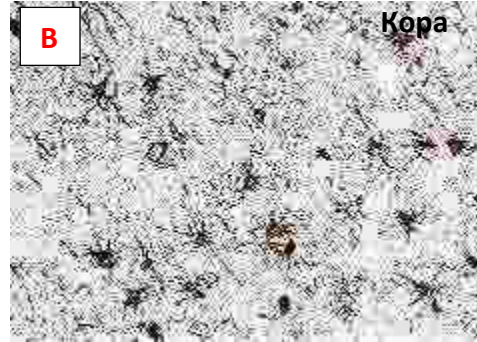
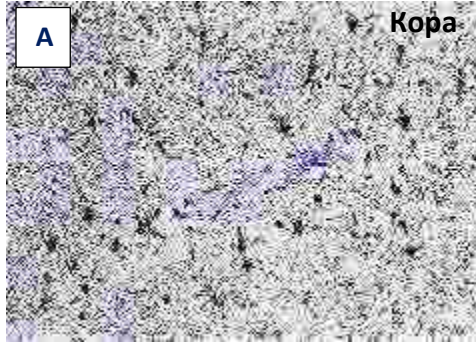


Рисунок 3.18 – Динаміка медіанних показників експресії GS у ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

Контроль**PE Grade 0 (підгрупа «ЦПк»)****Легка PE Grade 1-2 (підгрупа «ЦПс»)****Важка PE Grade 3-4 (підгрупа «ЦПд»)**

Продовження рисунку 3.19

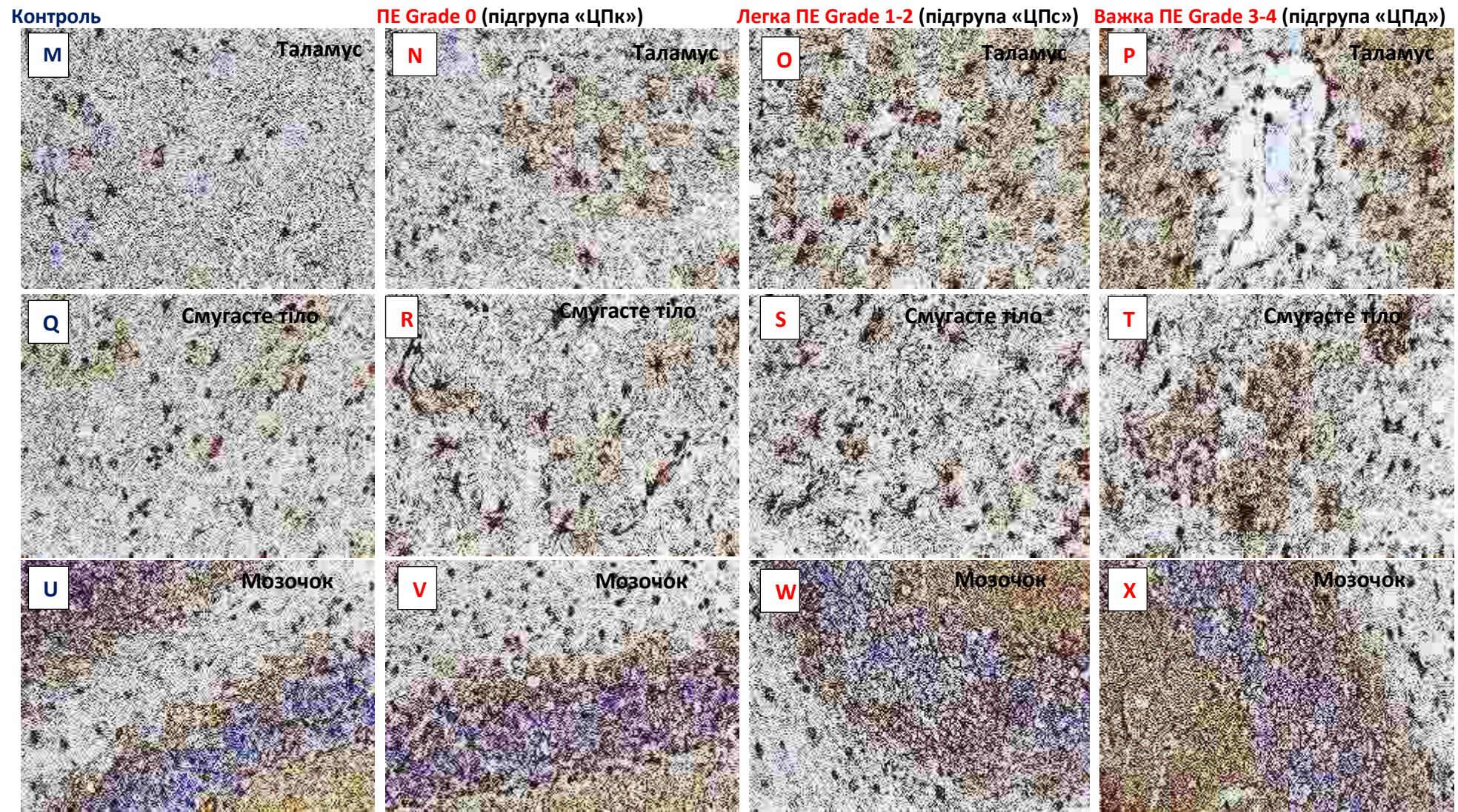


Рисунок 3.19 – Експресія GS у померлих хворих без ПЕ (B, F, J, N, R, V), з легкою ПЕ G 1-2 (C, G, K, O, S, W) і важкою ПЕ G 3-4 (D, H, L, P, T, X) підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» в порівнянні з контрольною групою (A, E, I, M, Q, U); (Rb polyclonal anti-GS Ab), x200.

Експресія аквапорину-4 (AQP4). У всіх досліджених відділах ГМ померлих осіб контрольної групи незначна дрібноглибча експресія білку водних каналів AQP4 визначалася переважно в мембранах периваскулярних, і рідше – нейропільних відростків окремих астроцитів (рис. 3.21). Відносно більша площа експресії AQP4 у цій групі померлих осіб виявилася в зубчастій звивині гіпокампальної формації і найменша – в білій речовині ВПГМ (табл. 3.10, рис. 3.20).

По мірі прогресування ПЕ і ЦП відмічене підвищення площі експресії AQP4, пов'язане зі збільшенням числа аквапоринів в плазмолемі астроцитів та зі збільшенням числа імунопозитивних клітин і їх відростків, що обумовило додаткову слабку або помірну, ніжно-зернисту імунопозитивність нейропілю (рис. 3.21).

У померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» вже встановлене достовірне ($p < 0.05$) підвищення відносно контролю площі експресії AQP4 у всіх досліджених відділах: в корі ВПГМ – на 85.88%; в білій речовині ВПГМ – на 78.4%; в гіпокампі – на 91.31%; у таламусі – на 119.58%; смугастому тілі – на 162.56%, в мозочку – на 66.14% (табл. 3.10, рис. 3.20, рис. 3.21).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» площа експресії AQP4 наростала і достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники померлих осіб групи контролю: в корі ВПГМ – в 3.4 рази; в білій речовині ВПГМ – в 2.6 рази; в гіпокампі – в 2.4 рази; в таламусі – в 3.7 рази; в смугастому тілі – в 3 рази, в мозочку – в 2.6 рази (табл. 3.10, рис. 3.20, рис. 3.21).

Максимально і достовірно ($p < 0.05$) підвищена площа експресії AQP4 спостерігалася в ГМ померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд», яка перевищувала аналогічні показники осіб контрольної групи: в корі ВПГМ – в 4.2 рази; в білій речовині ВПГМ – в 3.5 рази; в гіпокампі – в 3.2 рази; в таламусі – в 4.3 рази; в смугастому тілі – в 3.7 рази; в мозочку – в 2.9 рази (табл. 3.10, рис. 3.20, рис. 3.21).

Зростаюча площа експресії AQR4 достовірно ($p < 0.05$) відрізнялася між всіма послідовними підгрупами прогресування ЦП («ЦПк»-«ЦПс»-«ЦПд») в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку. У корі ВПГМ та гіпокампі зростаючі рівні AQR4 достовірно ($p < 0.05$) відрізнялися між підгрупами «ЦПк»/ «ЦПс» і «ЦПк»/«ЦПд», але не між «ЦПс»/«ЦПд» ($p > 0.05$) (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Відносна площа експресії AQR4 в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» і групи контролю (S rel.%); (Me (Q1; Q3))

Відділ мозку	підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	6.32 (5.48; 8.23) *	11.46 (10.18; 12.23) *#	14.45 (11.85; 14.74) *#	3.40 (3.22; 4.25)
Біла речовина ВПГМ	2.23 (2.12; 2.75) *	3.23 (2.89; 4.15) *#	4.40 (4.25; 7.61) *#†	1.25 (0.75; 1.34)
Гіпокамп	8.15 (6.25; 9.14) *	10.25 (9.33; 11.44) *#	13.84 (11.25; 14.23) *#	4.26 (4.17; 5.25)
Таламус	3.14 (2.39; 4.27) *	5.34 (4.59; 5.65) *#	6.21 (5.73; 7.45) *#†	1.43 (0.43; 1.68)
Смугасте тіло	5.12 (4.75; 5.22) *	6.23 (5.75; 6.72) *#	7.25 (6.85; 8.17) *#†	1.95 (1.65; 2.43)
Мозочок	5.25 (4.25; 7.34) *	8.27 (7.67; 8.34) *#	9.22 (8.93; 10.43) *#†	3.16 (2.47; 3.75)

Примітка. (*) - достовірна різниця в відносно контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; (†) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПс»; $p < 0.05$.

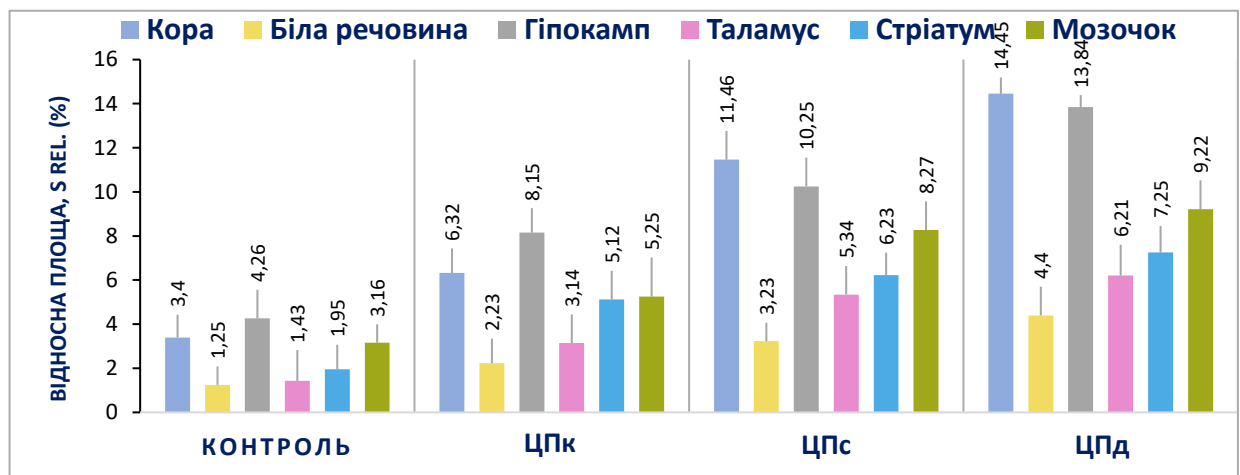
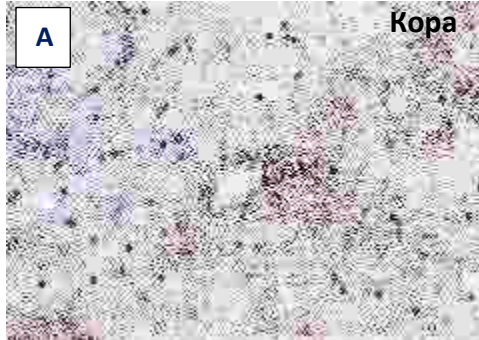
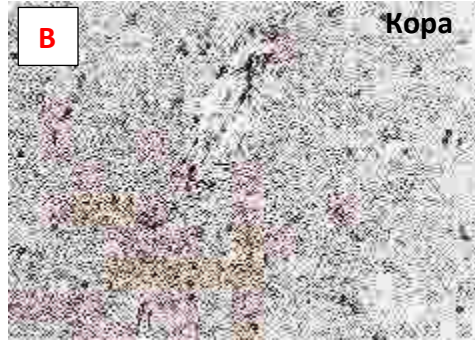
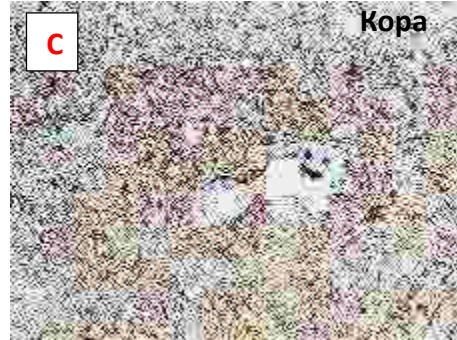
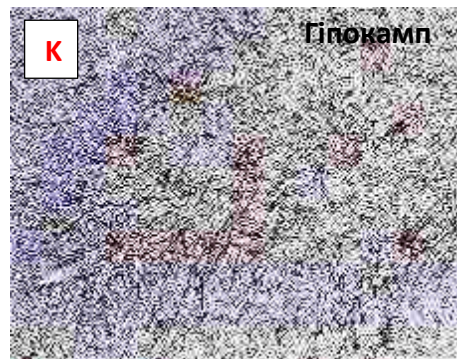
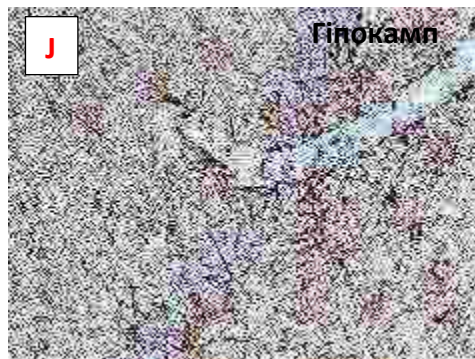
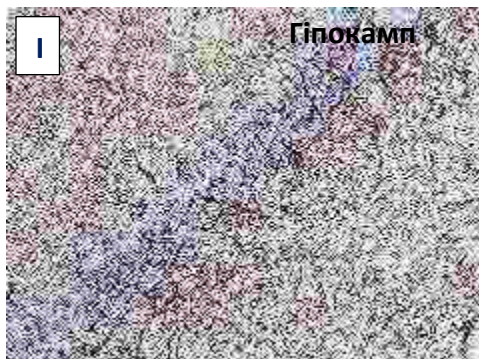
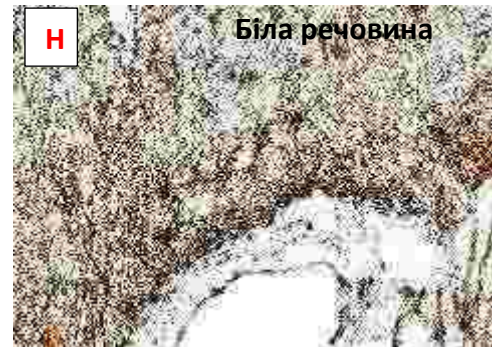
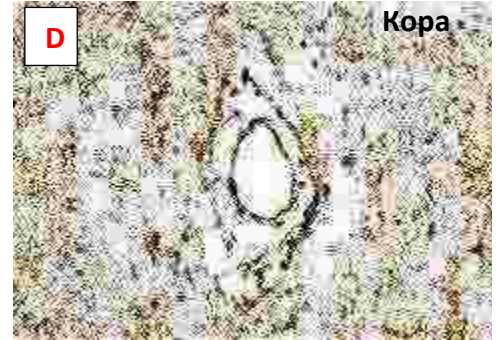


Рисунок 3.20 – Динаміка медіанних показників площі експресії AQR4 у ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.

Контроль**PE Grade 0 (підгрупа «ЦПк»)****Легка PE Grade 1-2 (підгрупа «ЦПс»)****Важка PE Grade 3-4 (підгрупа «ЦПд»)**

Продовження рисунку 3.21

Контроль

ПЕ Grade 0 (підгрупа «ЦПк»)

Легка ПЕ Grade 1-2 (підгрупа «ЦПс»)

Важка ПЕ Grade 3-4 (підгрупа «ЦПд»)

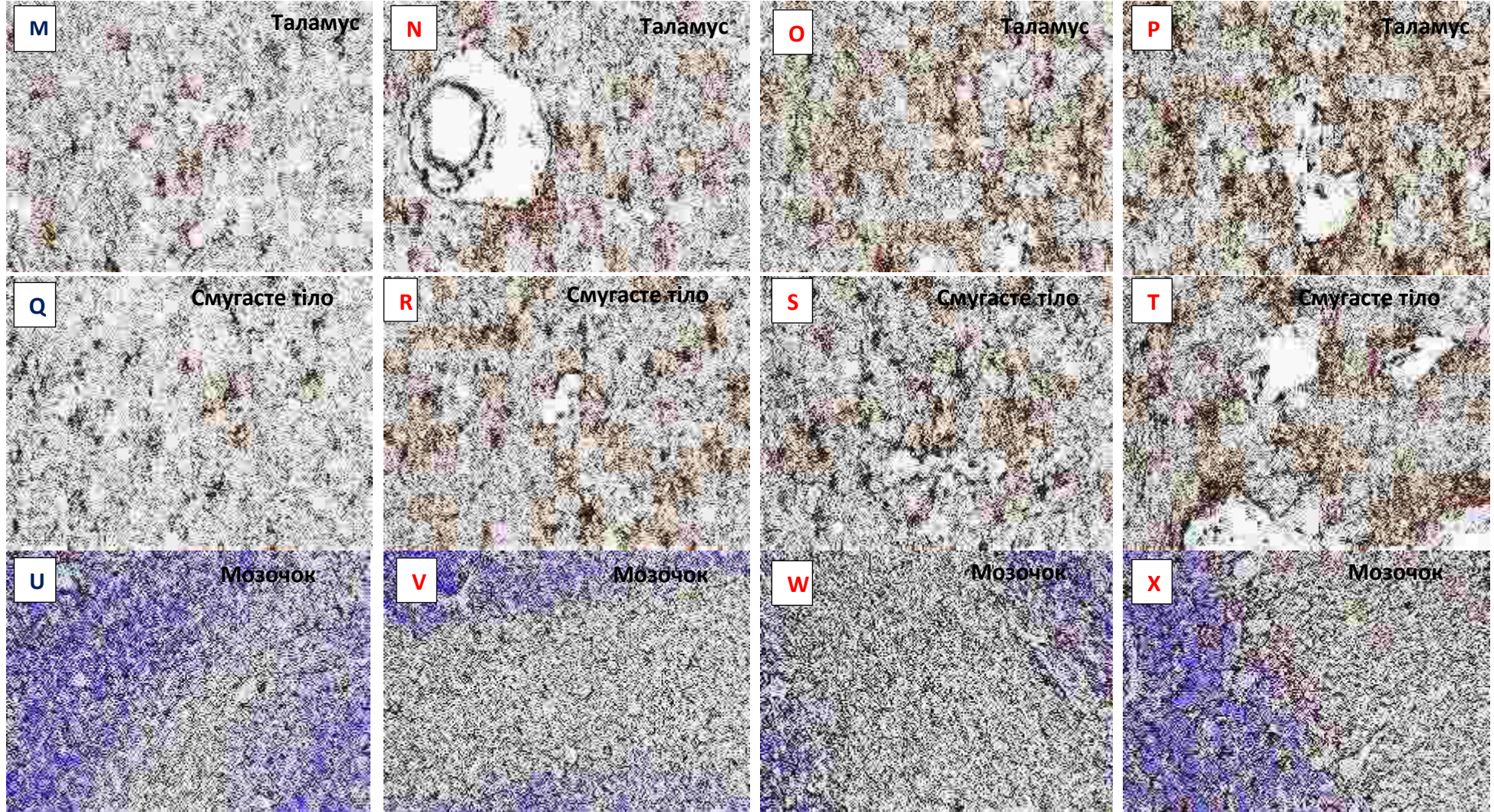


Рисунок 3.21 – Експресія AQP4 у померлих хворих без ПЕ (В, F, J, N, R, V), з легкою ПЕ G 1-2 (C, G, K, O, S, W) і важкою ПЕ G 3-4 (D, H, L, P, T, X) підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» в порівнянні з контрольною групою (A, E, I, M, Q, U); (*Rb polyclonal anti-AQP4 Ab*), x200.

3.2.5.2 Імуногістохімічна характеристика мікроглії головного мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості

Експресія мікрогліоцитами CD68. За результатами ІГХ дослідження в ГМ померлих осіб контрольної групи мембрано-цитоплазматична експресія CD68 виявлялася в мікрогліоцитах з витягнутим ядром і тілом довжиною 9-10 мкм та тонкими, гіллястими відростками, що дихотомічно поділялися («наглядові мікрогліоцити»). Визначалася також невелика кількість амебоїдних реактивних CD68⁺ мікрогліоцитів з короткими, потовщеними відростками (рис. 3.22). Окрім цього, експресія CD68 інколи спостерігалася в цитоплазмі і відростках поодиноких клітин в стінках капілярів і дрібних артеріол (найбільш ймовірно, кістковомозково-моноцитарного генезу та перицитах) та в поодиноких крупних клітинах без відростків навколо розширених периартеріолярних і перивенулярних просторів Вірхова-Робіна – так званих макрофагах периваскулярних просторів. У померлих осіб контрольної групи відносна площа CD68⁺ позасудинних наглядових і амебоїдних мікрогліоцитів та їх відростків була незначною; найбільші показники їх відносної площі визначалися в білій речовині ВПГМ та в гіпокампальній формації, найменші – в таламусі (табл. 3.14).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» вже зареєстроване достовірне ($p < 0.05$) зростання (відносно контролю) площі експресії CD68 (за рахунок зростання кількості CD68⁺ мікрогліоцитів): у білій речовині ВПГМ – на 45.41%, в таламусі – на 54.54% та в смугастому тілі – на 53.27%). В білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі і мозочку визначено достовірне ($p < 0.05$) збільшення відсоткової частки амебоїдних CD68⁺-мікрогліоцитів (на 56.59%, на 89.33%, на 94.47%, на 132.79%, відповідно), а в інших відділах ГМ – тенденція до їх збільшення (табл. 3.14).

У померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» встановлене подальше достовірне ($p < 0.05$) підвищення відносно контролю відносної площі CD68⁺-

мікрогліцитів і частки амебоїдної мікроглії у всіх відділах ГМ: в *корі ВПГМ* – на 95.36% і на 142.60% (відповідно); в білій речовині ВПГМ – на 115.13% і на 72.59% (відповідно); в гіпокампальній формації – на 109.97% і на 105.47% (відповідно); в таламусі – на 85.39% і на 254.41% (відповідно); в смугастому тілі – на 92.52% і на 53.37% (відповідно); в мозочку – на 122.46% і на 135.32% (відповідно). В білій речовині ВПГМ та гіпокампальній формації хворих з легкою ПЕ G1-2 площа експресії CD68⁺ була достовірно ($p<0.05$) вищою за аналогічний показник хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» (табл. 3.14). В ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 також виявлялися CD68⁺ макрофаги в периваскулярних просторах (рис. 3.23). Тенденція до найбільшої відсоткової частки амебоїдної мікроглії спостерігалася в білій речовині ВПГМ, гіпокампальній формації та мозочку.

В ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» у всіх досліджених відділах ГМ визначено достовірне ($p<0.05$) перевищення (в порівнянні з показниками групи контролю) площі CD68⁺-мікрогліоцитів та відсоткової частки CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів: в *корі ВПГМ* – на 117.97% і на 127.53% (відповідно); в білій речовині ВПГМ – на 89.22% і на 40.44% (відповідно); в гіпокампальній формації – на 49.63% і на 103.46% (відповідно); в таламусі – на 50.13% і на 173.16% (відповідно); в смугастому тілі – на 57.00% і на 61.65% (відповідно); в мозочку – на 74.76% і на 116.97% (відповідно). Але ці високі показники площі експресії CD68 мікроглією у більшості досліджених відділів ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» достовірно не відрізнялися від аналогічних показників померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» (табл. 3.14). У померлих хворих з ПЕ G3-4 зберігалася тенденція до більшої відсоткової частки амебоїдних мікрогліоцитів в білій речовині ВПГМ, в субпіяльній та субвентрикулярній зонах гіпокампальній формації та в мозочку (серед інших відділів ГМ), але одночасно з цим була помітна тенденція до зниження кількості амебоїдної CD68⁺-мікроглії порівняно з показниками померлих хворих з ПЕ G1-2 в *корі ВПГМ*, білій речовині, гіпокампальній формації та мозочку, а в таламусі і смугастому тілі таке

зниження (на 29.74% і на 56.73% відповідно) було статистично достовірним ($p < 0.05$).

Також у хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» найбільш часто (відносно інших підгруп) визначалася експресія CD68 в крупних мікрогліюцитах з великим ядром і перикаріоном та короткими вугловатими товстими відростками (так званих гіпертрофічно-подібних мікрогліюцитах), що розташовувалися біля нейронів, а також в крупних макрофагах периваскулярних просторів і клітинах стінок дрібних артеріол і капілярів (рис. 3.24, рис. 3.25).

Репрезентативна динаміка змін відносної площі позасудинних CD68⁺-мікрогліюцитів та відсотка CD68⁺ амебоїдного морфотипу в різних відділах ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» відносно контролю представлена на рисунках 3.26, 3.27.

Таблиця 3.14 – Відносна площа позасудинної CD68⁺ мікроглії в СПЗ мікроскопу [Me (Q1; Q3) Srel.%]; частка амебоїдних форм серед загальної кількості CD68⁺мікрогліоцитів на групу спостереження (п/п); відсоток амебоїдних форм серед CD68⁺-мікрогліоцитів у СПЗ мікроскопу [Me (Q1; Q3)%] в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю

	підгрупа «ЦПк», ПЕ G0		підгрупа «ЦПс», ПЕ G1-2		підгрупа «ЦПд», ПЕ G3-4		Контроль	
	Відносна площа експресії CD68, Srel.%	Кількість амеб. М. /заг. кількості CD68 ⁺ М. в групі	Відносна площа експресії CD68, Srel.%	Кількість амеб. М. /заг. кількості CD68 ⁺ М. в групі	Відносна площа експресії CD68, Srel.%	Кількість амеб. М. /заг. кількості CD68 ⁺ М. в групі	Відносна площа експресії CD68, Srel.%	Кількість амеб. М. /заг. кількості CD68 ⁺ М. в групі
		% амеб. М. / СПЗ		% амеб. М. / СПЗ		% амеб. М. / СПЗ		% амеб. М. / СПЗ
Кора ВПГМ	4.52 (3.48; 6.25)	39/534	6.74 (5.65; 7.63) *	116/1248	7.52 (7.34; 8.45) *#	75/869	3.45 (2.37; 4.68)	15/405
		6.36 (4.12; 8.52)		8.37 (6.37; 10.86)*		7.85 (5.12; 8.45)*		3.45 (3.14; 4.26)
Біла речовина ВПГМ	6.34 (5.45; 7.56) *	86/815	9.38 (8.23; 10.57) *#	196/1729	8.25 (5.46; 9.62) *	143/1354	4.36 (2.54; 5.12)	47/642
		10.57 (8.92; 11.28)*		11.65 (9.38; 12.14)*		9.48 (8.95; 11.69)*		6.75 (4.48; 8.37)
Гіпокамп альна формація	4.28 (3.52; 6.10)	89/797	8.63 (7.26; 9.05) *#	206/1483	6.15 (5.35; 7.42) *	141/1127	4.11 (2.65; 4.86)	39/563
		10.84 (9.14; 11.12)		11.26 (10.86; 14.74)*		11.15 (10.36; 12.62)*		5.48 (4.73; 7.29)
Таламус	5.61 (4.14; 6.36)*	41/638	6.73 (4.35; 7.05)*	150/1536	5.45 (4.72; 6.31)*	100/1268	3.63 (2.12; 3.97)	10/357
		5.15 (3.84; 7.69)*		9.64 (8.57; 10.14)*#		7.43 (6.86; 8.04)*†		2.72 (2.54; 3.69)
Смугасте тіло	4.92 (4.63; 5.76)*	45/579	6.18 (4.41; 6.37)*	141/1694	5.04 (4.46; 5.73)*	84/1308	3.21 (2.67; 4.14)	15/412
		6.34 (4.45; 8.12)*		8.26 (7.64; 9.37)*		5.27 (4.79; 7.14)*†		3.26 (2.46; 4.07)
Мозочок	5.57 (3.16; 6.24)	71/594	7.23 (5.47; 8.65)*	198/1845	5.68 (5.04; 6.56)*	164/1643	3.25 (2.44; 4.34)	22/465
		10.15 (9.16; 11.75)*		10.26 (9.28; 10.79)*		9.46 (8.35; 10.09)*		4.36 (3.64; 4.83)

Примітка. (*) - достовірна різниця відносно контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; (†) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПс» (p<0.05). Скорочення: М. – мікроглія, амеб. М. – амебоїдна мікроглія.

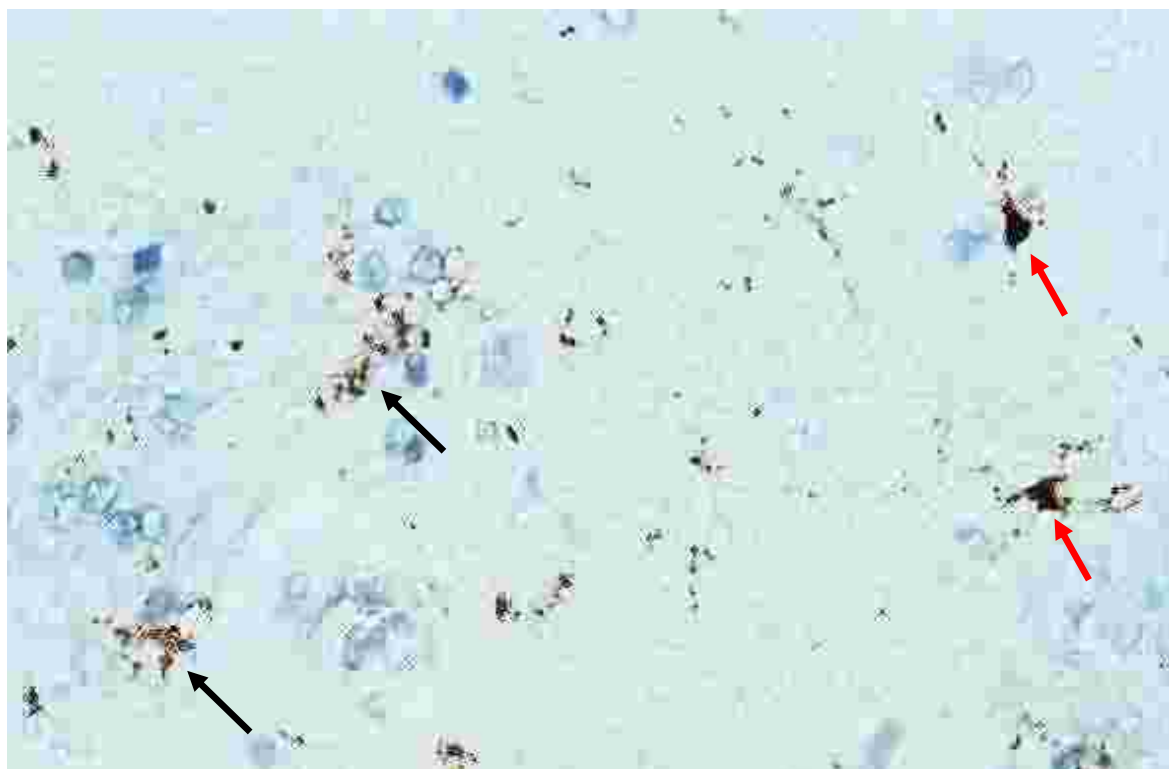


Рисунок 3.22 – Експресія CD68 в «наглядових» мікрогліюцитах (чорні стрілки) і в амебоїдних реактивних мікрогліюцитах (червоні стрілки) білої речовини ВПГМ померлого пацієнта контрольної групи (*Mo anti-CD68, clone PG-M1*). 36. x 400.

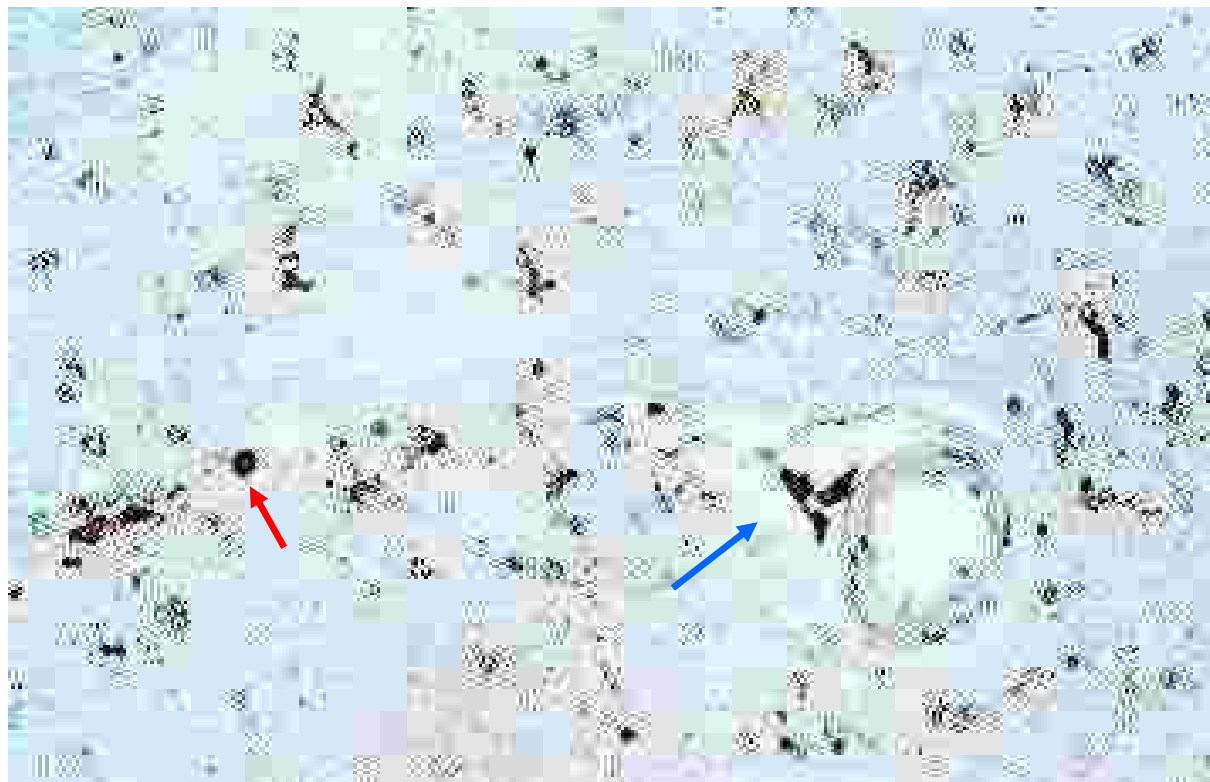


Рисунок 3.23 – Експресія CD68 в амебоїдному мікрогліюциті (червона стрілка) і в периваскулярних макрофагах (блакитна стрілка) в корі ВПГМ у померлого хворого з легкою ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» (*Mo anti-CD68, clone PG-M1*). 36. x200.

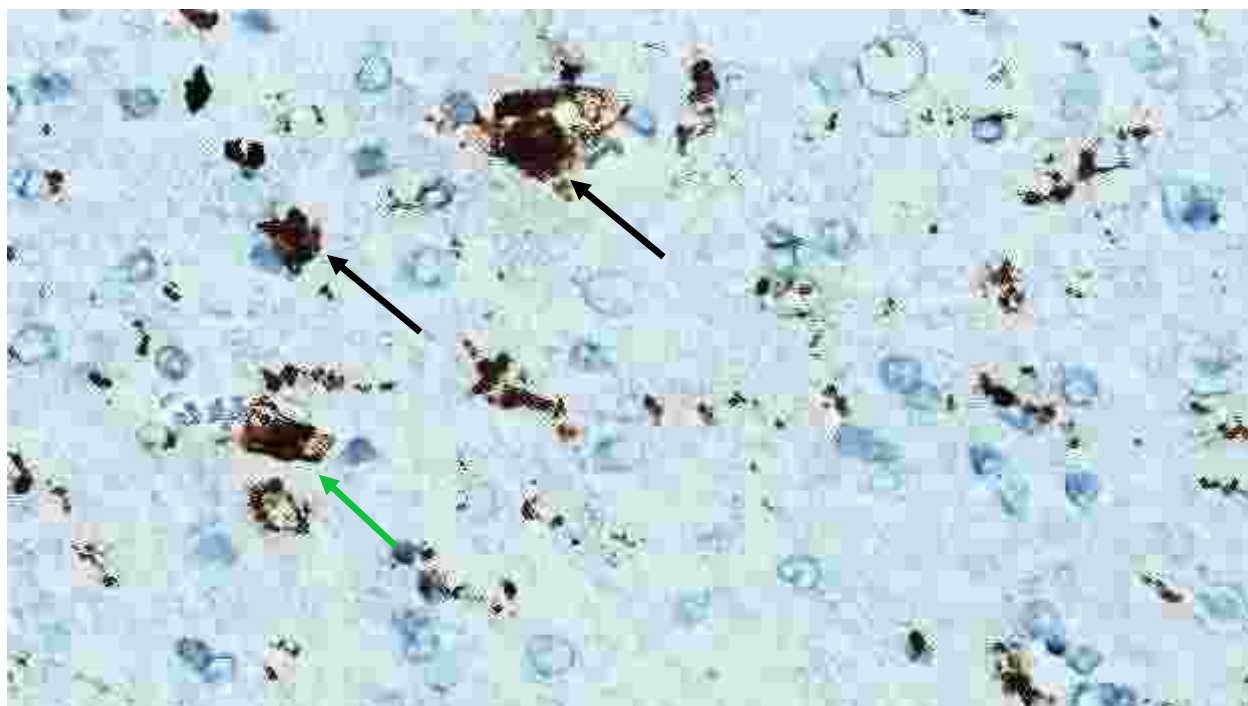


Рисунок 3.24 – Експресія CD68 в гіпертрофічно-подібних мікрогліоцитах біля нейронів (чорні стрілки) і в периваскулярному макрофазі (зелена стрілка) в корі ВПГМ померлого хворого з важкою ПЕ G3 підгрупи «ЦПд» (*Mo anti-CD68, clone PG-M1*). 3б. x400.

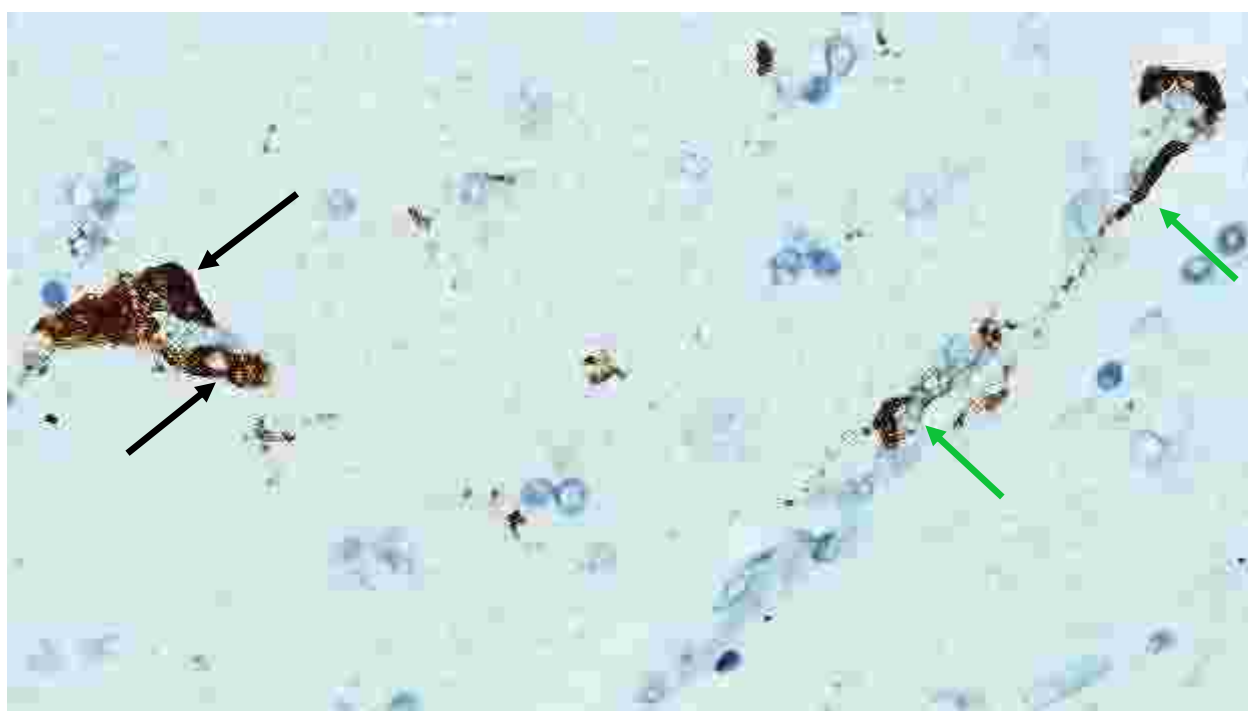
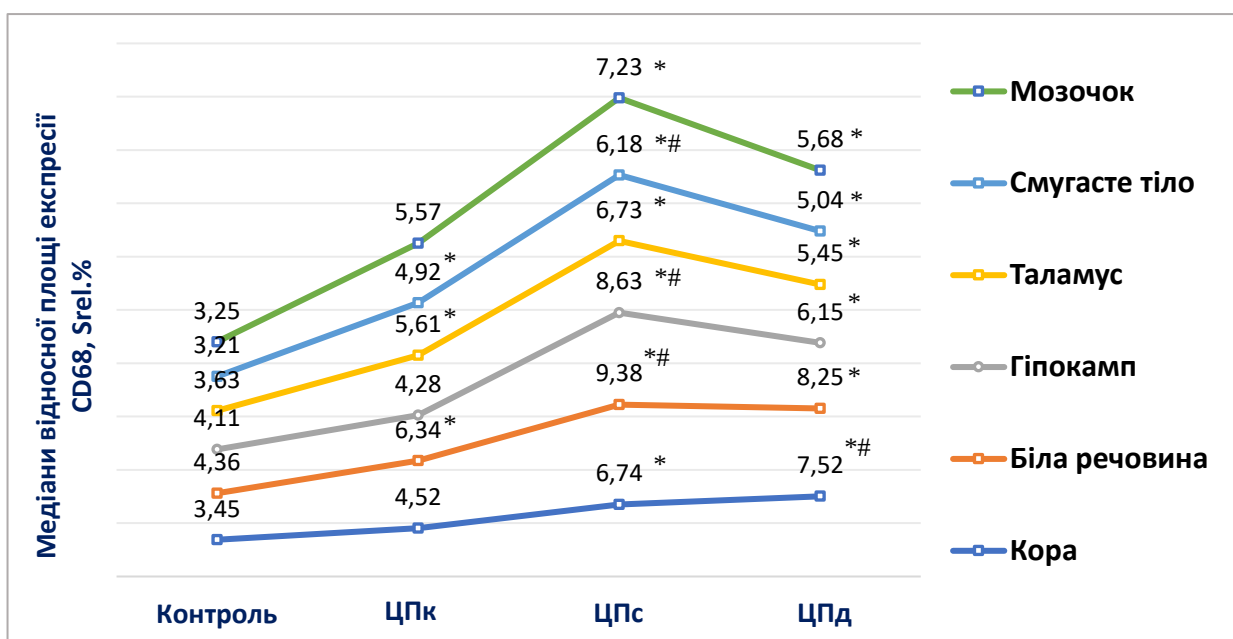
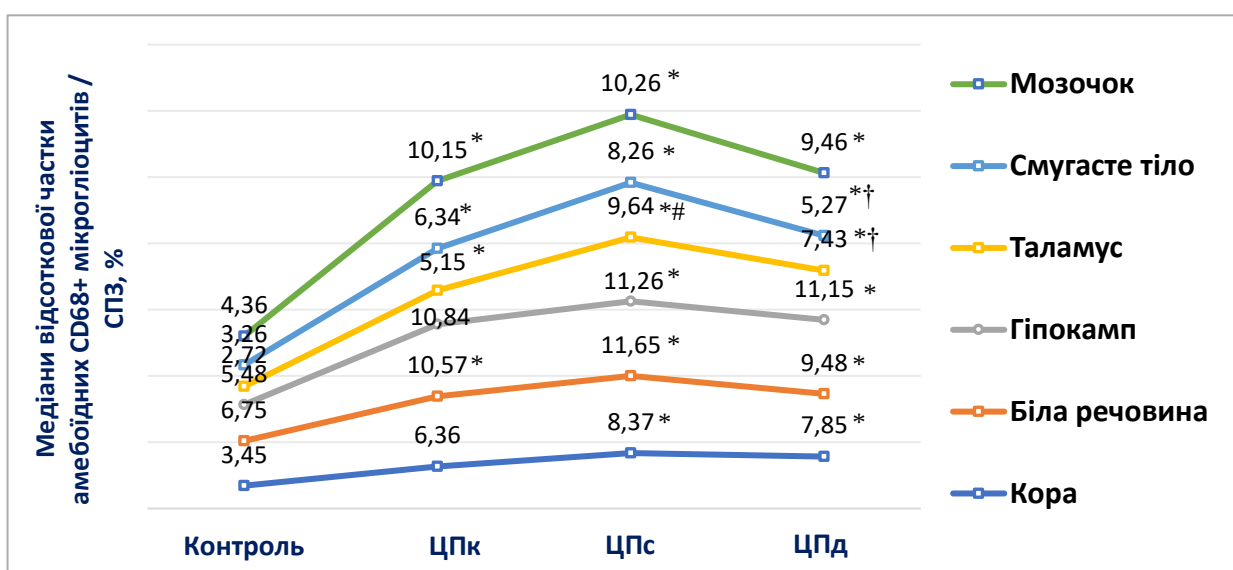


Рисунок 3.25 – Експресія CD68 в макрофагах біля нейронів (чорні стрілки) та в клітинах стінки мікросудини (зелені стрілки) в корі ВПГМ померлого хворого з важкою ПЕ G3 підгрупи «ЦПд» (*Mo anti-CD68, clone PG-M1*). 3б. x400.



Примітка. (*) - достовірна різниця відносно групи контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; $p < 0.05$.

Рисунок 3.26 – Динаміка медіан відносної площі $CD68^+$ -мікрогліоцитів в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» порівняно з групою контролю.



Примітка. (*) - достовірна різниця відносно групи контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; (†) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПс»; $p < 0.05$.

Рисунок 3.27 – Динаміка змін відсоткової частки $CD68^+$ амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» відносно групи контролю.

3.2.5.3 Імуногістохімічна характеристика нейронів головного мозку померлих хворих на цироз печінки з печінковою енцефалопатією різного ступеня тяжкості

Експресія каспази-3 (Casp3) в нейронах головного мозку. ІГХ дослідження довели, що у померлих осіб групи контролю та у померлих хворих з ПЕ різного ступеню тяжкості в певній кількості нейронів кори ВПГМ, зубчастої звивини гіпокампу (ЗЗГ), таламуса, смугастого тіла та мозочка ГМ в цитоплазмі визначається дрібногранулярна експресія Casp3 (рис. 3.28). У хворих на ПЕ при ЦП навколо Casp3⁺-нейронів інколи визначалися невеликі вогнища дрібногранулярного імуномічення нейропілю, що могло вказувати на позитивну експресію Casp3 в аксонах та дендритах, а також у відростках перинейрональних гліоцитів.

В ГМ померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» відзначено статистично недостовірну ($p > 0.05$) тенденцію до підвищення відсотку Casp3⁺-нейронів в усіх досліджених відділах ГМ відносно показників померлих осіб контрольної групи (табл. 3.16, рис. 3.29, 3.28).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» зафіксоване достовірне ($p < 0.05$) підвищення відсотку Casp3⁺-нейронів відносно показників контрольної групи: в корі ВПГМ – в 2.2 рази; в гіпокампі – в 2.4 рази; в таламусі – в 2 рази; в смугастому тілі – в 1.4 рази; в мозочку – в 1.5 рази (табл. 3.16, рис. 3.29, 3.28).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» відсоткова частка Casp3⁺-нейронів була достовірно ($p < 0.05$) і максимально збільшеною (відносно показників контролю): в корі ВПГМ – в 2.5 рази; в гіпокампі – в 3 рази; в таламусі – в 4 рази; в смугастому тілі – в 2.3 рази; в мозочку – в 2.3 рази, та одночасно перевищувала показники померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк» ($p < 0.05$) (табл. 3.16, рис. 3.29, 3.28).

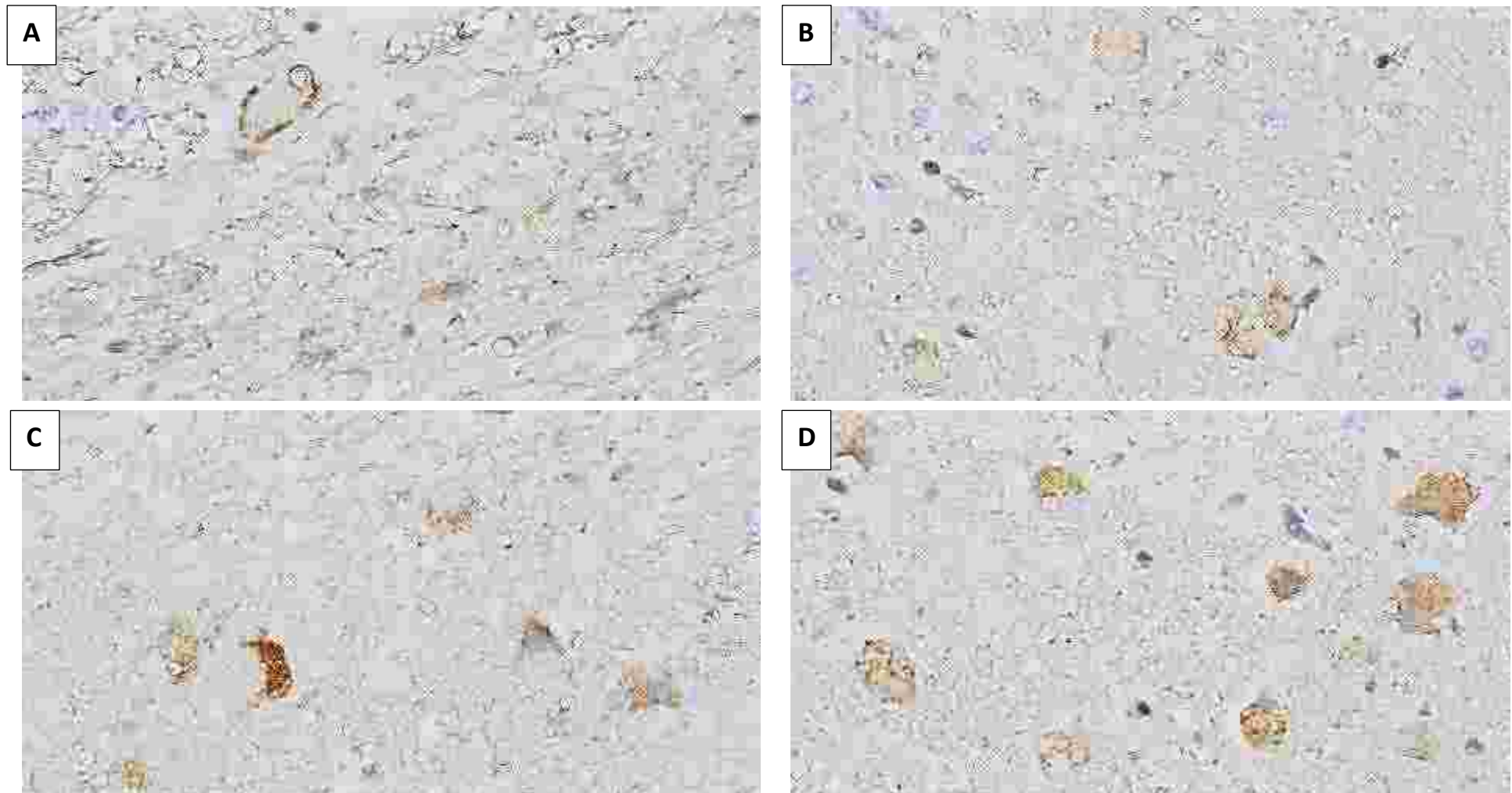
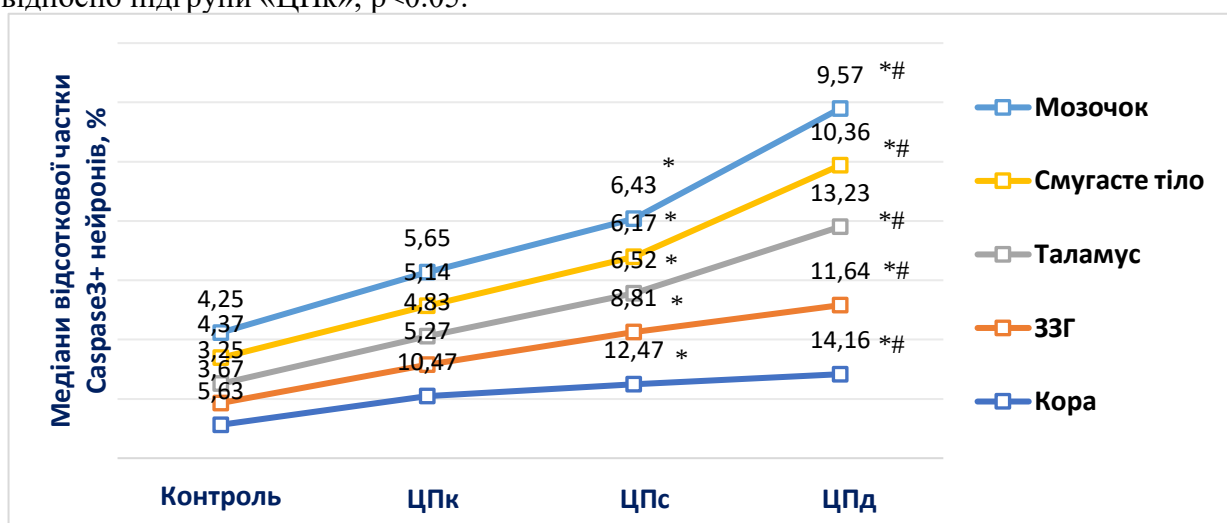


Рисунок 3.28 – Експресія Caspase3: **(А)** в нейронах таламусу померлого хворого з ПЕ G0; **(В, С)** в нейронах смугастого тіла і таламусу померлих хворих з легкою ПЕ G 1-2; **(D)** в нейронах смугастого тіла померлого хворого з важкою ПЕ G 3-4 (*Caspase 3 (CPP32)*, *Clone 3CSP03*). Зб. x400.

Таблиця 3.16 – Загальний і середній відсоток Casp-3⁺-нейронів у ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю, [n (%); Me (Q1; Q3)]

Відділ ГМ	Параметр	«ЦПк»	«ЦПс»	«ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	Загальний % Casp3 ⁺ клітин у групі	135/1789 (7.55%)	153/1747 (8.76%)	172/1698 (10.12%)	72/1754 (4.10%)
	Середній % Casp3 ⁺ клітин/ СПЗ	10.47 (5.22; 12.36)	12.47 (9.28; 14.18)*	14.16 (13.86; 16.57)*#	5.63 (3.29; 8.68)
Гіпокамп	Загальний % Casp3 ⁺ клітин у групі	325/8245 (3.94%)	362/8094 (4.47%)	494/7425 (6.65%)	256/8453 (3.03%)
	Середній % Casp3 ⁺ клітин/ СПЗ	5.27 (3.54; 8.29)	8.81 (6.85; 12.75)*	11.64 (9.73; 14.18)*#	3.67 (2.83; 5.36)
Таламус	Загальний % Casp3 ⁺ клітин у групі	198/4474 (4.43%)	217/4154 (5.22%)	267/4019 (6.64%)	145/4650 (3.12%)
	Середній % Casp3 ⁺ клітин/ СПЗ	4.83 (3.81; 6.36)	6.52 (5.23; 8.69)*	13.23 (6.97; 14.26)*#	3.25 (2.74; 4.67)
Смугасте тіло	Загальний % Casp3 ⁺ клітин у групі	165/4356 (3.78%)	198/4067 (4.86%)	265/3956 (6.69%)	131/4528 (2.89%)
	Середній % Casp3 ⁺ клітин/ СПЗ	5.14 (4.95; 6.45)	6.17 (5.96; 7.28)*	10.36 (7.12; 11.65)*#	4.37 (3.19; 5.72)
Мозочок	Загальний % Casp3 ⁺ клітин у групі	128/3125 (4.09%)	157/3016 (5.20%)	143/2615 (5.47%)	97/3225 (3.01%)
	Середній % Casp3 ⁺ клітин/ СПЗ	5.65 (3.83; 6.45)	6.43 (5.57; 8.64)*	9.57 (6.64; 10.52)*#	4.25 (2.16; 5.24)

Примітка. (*) - достовірна різниця відносно групи контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; p<0.05.



Примітка. (*) - достовірна різниця відносно контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; p<0.05.

Рисунок 3.29 – Динаміка змін середньої відсоткової частки (%) Casp3⁺ нейронів в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» відносно групи контролю.

Експресія синаптофізину (Syn) в міжнейронних синапсах. Виконані ІГХ дослідження показали, що у померлих осіб групи контролю та хворих на ПЕ різного ступеню тяжкості при ЦП в корі ВПГМ, ЗЗГ, таламусі, смугастому тілі та мозочку визначається дрібногранулярна експресія синаптофізину в пресинаптичних терміналях аксо-соматичних, аксо-дентридних, аксо-аксональних синапсів на мембранах поздовжніх і поперечних профілів тіл нейронів та їх відростків (рис. 3.30). За наявною експресією синаптофізину нерідко добре контурувалися тіла і апікальні дендрити нейронів (рис. 3.30), гранулярна експресія синаптофізину різної інтенсивності визначалася також в нейропілі, в якому локалізувалися аксо-дендритні і аксо-аксональні синапси. У вищеназваних відділах ГМ померлих пацієнтів контрольної групи виявлено статистично однаковий, помірний рівень експресії синаптофізину, виражений в УООЩ (табл. 3.17; рис. 3.31).

У померлих хворих з ПЕ G0 відзначено тенденцію ($p>0.05$) до зниженої експресії синаптофізину відносно показників ГМ померлих осіб групи контролю в усіх вищевказаних відділах ГМ (табл. 3.17; рис. 3.31, рис. 3.30).

В ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2 експресія синаптофізину була вже достовірно ($p<0.05$) зниженою відносно контрольних значень: в корі ВПГМ – на 26.46%; в гіпокампі – на 36.29 %; таламусі – на 33.54%; смугастому тілі – на 18.52%; мозочку – на 15.12%; і відповідала низькому рівню за шкалою УООЩ (табл. 3.17; рис. 3.31, рис. 3.30)

В ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 експресія синаптофізину була достовірно ($p<0.05$) максимально зниженою відносно контрольних показників: в корі ВПГМ – на 68.77%; в гіпокампі – на 54.80%; в таламусі – на 93.41%; в смугастому тілі – на 46.47%; в мозочку – на 33.05%. Експресія синаптофізину відповідала низькому рівню за оцінкою по шкалі в УООЩ, а в багаточисельних дрібних ділянках ГМ вона не визначалася зовсім (рис. 3.30). При цьому рівні експресії синаптофізину в усіх досліджених відділах ГМ при ПЕ G3-4 були також достовірно ($p<0.05$) нижчими, ніж у померлих хворих з ПЕ G0 та померлих хворих з ПЕ G1-2 (табл. 3.17; рис. 3.31).

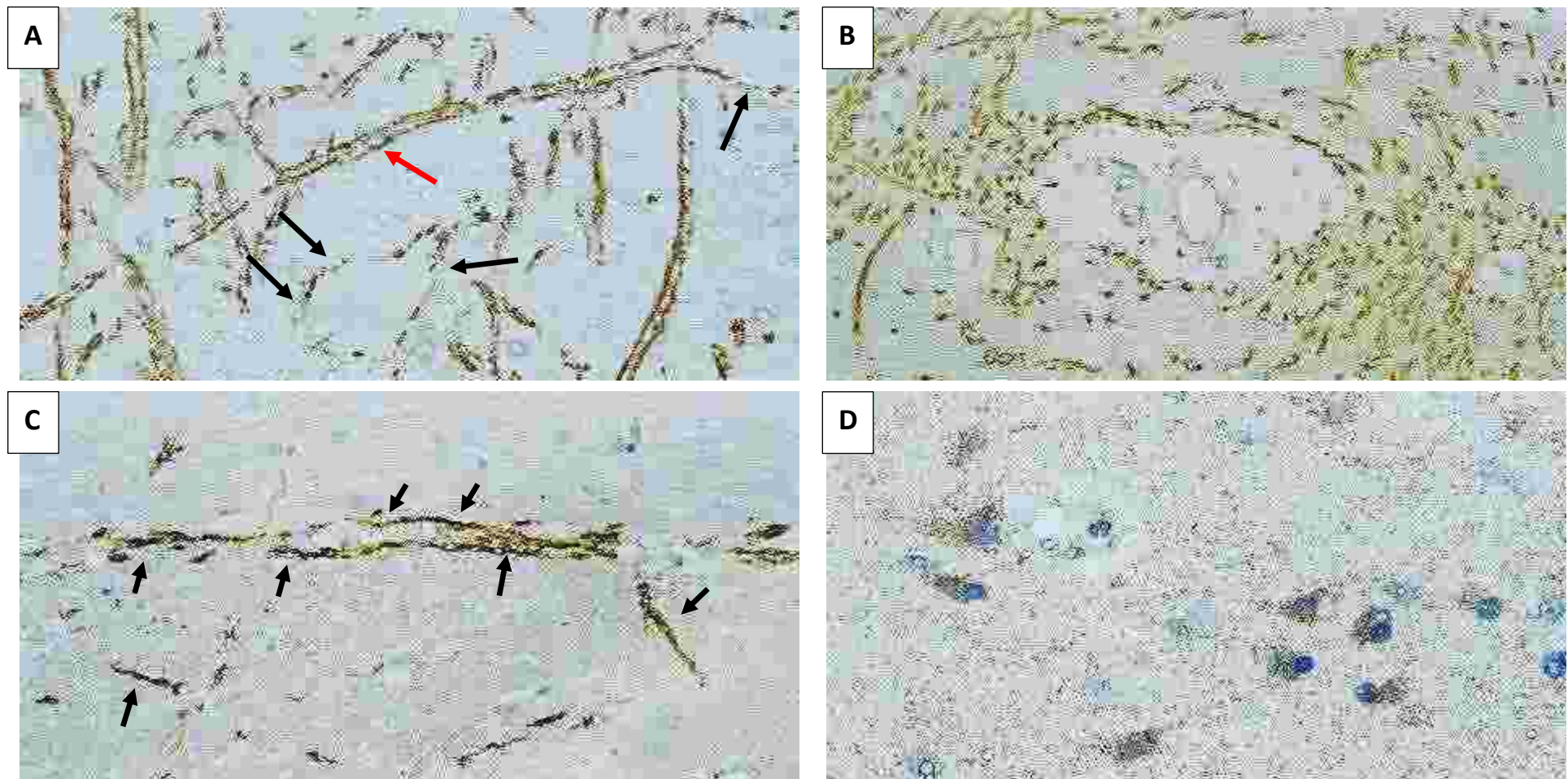
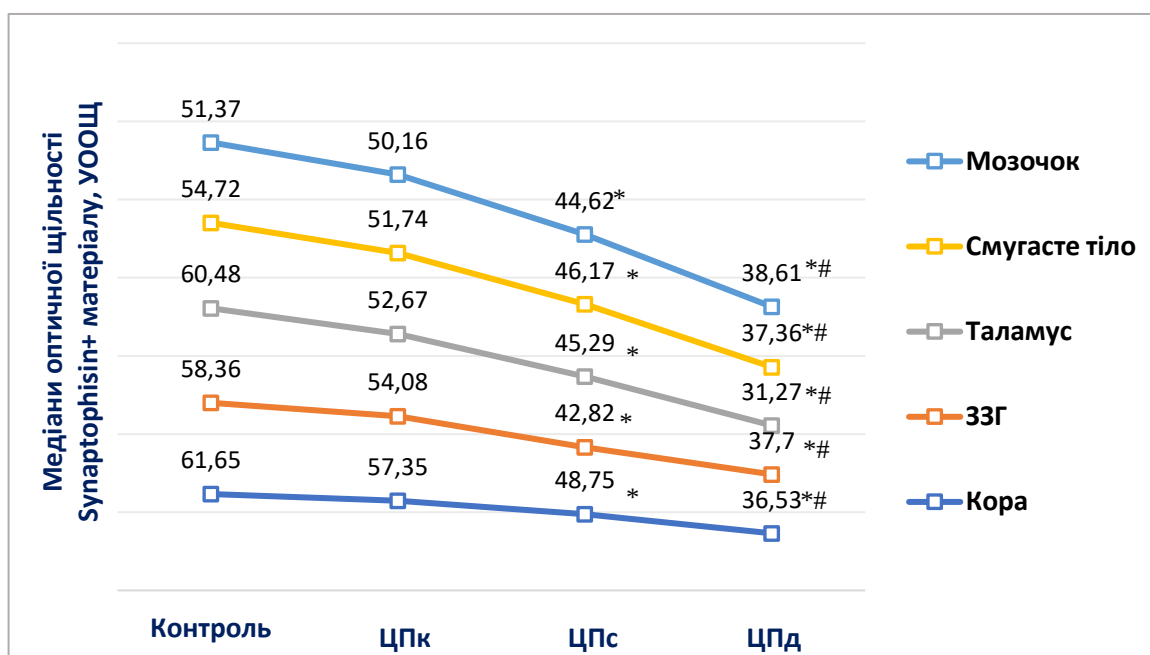


Рисунок 3.30 – **(А)** Помірна експресія Syn в синапсах на апікальному дендриті (червона стрілка) і на поверхні тіл нейронів (чорні стрілки) в таламусі померлого пацієнта групи контролю; **(В)** нерівномірна і слабка експресія Syn в синапсах на поздовжніх і поперечних профілях відростків нейронів в таламусі померлого хворого з ПЕ G1-2; **(С)** Експресія Syn лише на окремих профілях відростків нейронів (чорні стрілки) та ділянки без експресії Syn в таламусі померлого в комі хворого з ПЕ G4; **(D)** Вкрай низький рівень експресії Syn в корі ВПГМ померлого в комі хворого з ПЕ G4 (Mo anti- Synaptophysin, clone SY38). 36. x 400, 200, 400, 200.

Таблиця 3.17 – Експресія Syn (в УООЩ) в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та групи контролю; [Me (Q1; Q3)]

Відділ мозку	«ЦПк»	«ЦПс»	«ЦПд»	Контроль
Кора ВПГМ	57.35 (52.23; 63.21)	48.75 (45.27; 55.92)*	36.53 (31.68; 41.54) *#†	61.65 (56.23; 71.34)
Гіпокамп	54.08 (49.37; 59.62)	42.82 (40.79; 50.51)*	37.70 (35.91; 39.73) *#†	58.36 (55.83; 63.14)
Таламус	52.67 (50.56; 58.43)	45.29 (41.65; 51.73)*	31.27 (29.73; 35.65) *#†	60.48 (57.92; 65.35)
Смугасте тіло	51.74 (48.38; 55.27)	46.17 (43.61; 47.29)*	37.36 (31.29; 40.47) *#†	54.72 (51.12; 58.63)
Мозочок	50.16 (45.86; 52.62)	44.62 (42.84; 45.34)*	38.61 (36.72; 43.97) *#†	51.37 (48.63; 53.92)

Примітка. (*) - достовірна різниця відносно контролю, (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк», (†) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПс», (p<0.05). УООЩ 0-20 – негативна реакція; УООЩ 21-50 – низький рівень експресії; УООЩ 51-100 – помірний рівень експресії; УООЩ більше 100 – високий рівень експресії.



Примітка. (*) - достовірна різниця в тому ж відділі мозку відносно контролю; (#) - достовірна різниця відносно підгрупи «ЦПк»; p<0.05.

Рисунок 3.31 – Динаміка змін оптичної щільності Syn⁺ матеріалу в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» відносно групи контролю.

3.3 Патоморфологічні параметри важкої G3-4 печінкової енцефалопатії при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності у померлих хворих на гостро декомпенсований цироз печінки

У померлих хворих на гостро декомпенсований ЦП з синдромом гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності патоморфологічні прояви важкої G3-4 печінкової енцефалопатії були максимальними. Середні показники ваги ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН» були достовірно ($p < 0.05$) на 15.78% більшими через набряк ГМ відносно аналогічних показників осіб групи контролю: 1386.00 (1352.00; 1437.00) і 1197.00 (1179.00; 1210.00) гр відповідно.

В ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН» визначалося суттєве розповсюдження запусілих судин МЦР в усіх шести досліджених відділах ГМ. Достовірно ($p < 0.05$) частіше серед цих хворих (за χ^2) спостерігалось явище запусілих судин МЦР в корі ВПГМ з достовірно ($p < 0.05$) більшим в 4 рази (відносно контролю) відсотком запусілих судин МЦР/СПЗ в корі ВПГМ. Також відзначена достовірно ($p < 0.05$) більша частота (за χ^2) наявності мікрокрововиливів і дрібних фокусів енцефалолізису в корі та білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку серед померлих хворих підгрупи «ГХПечН» (табл. 3.18).

Таблиця 3.18 – Порівняння патогістологічних параметрів ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН» з показниками групи контролю

	Група «ГХПечН»	Контрольна група	χ^2	p
Частота наявності запусілих судин МЦР в корі ВПГМ серед хворих	8/21 (38%)	4/30 (13%)	4.21	<0.05
Відсоток запусілих судин МЦР/ СПЗ в корі ВПГМ, зб. х400 (%)	12.39 (10.16; 14.61)	3.10 (2.25; 3.50)		<0.05
Частота наявності мікрокрововиливів (в корі і білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку) серед хворих	7/21 (33%)	2/30 (6%)	6.04	<0.05
Частота наявних дрібних вогнищ енцефалолізису (в корі і білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку) серед хворих	10/21 (47%)	1/30 (3%)	14.32	<0.05

В ГМ померлих хворих з важкою ПЕ підгрупи «ГХПечН», в порівнянні з групою контролю, були достовірно ($p < 0.05$) перевищеними наступні параметри (табл. 3.19, табл. 3.20, рис. 3.32):

1. ГХ експресія тканинного аміаку була вищою в корі ВПГМ – в 4 рази; в білій речовині ВПГМ – в 2.2 рази; в гіпокампі – в 3.5 рази; в таламусі – в 5.8 рази; в смугастому тілі – в 5.6 рази; в мозочку – в 6 разів. За шкалою аміаку, сильна «+++» експресія виявлялася в таламусі, смугастому тілі та мозочку, помірна «++» – в корі ВПГМ та гіпокампі, слабка «+» – в білій речовині.
2. Вищою була кількість АА2: в корі ВПГМ – в 8.33 разів, білій речовині ВПГМ – 4.66 разів, гіпокампі – в 4 рази, таламусі – в 9.25 разів, смугастому тілі – в 9 разів, мозочку – в 11 разів. Тому, на відміну від групи контролю, де не було А2-астроцитозу, у померлих підгрупи «ГХПечН» слабкий А2-астроцитоз визначався в гіпокампі, помірний – в білій речовині ВПГМ та виразний – в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку.

Таблиця 3.19 – Частота підвищеної експресії аміаку та А2-астроцитозу в таламусі серед померлих хворих підгрупи «ГХПечН» в порівнянні з показниками групи контролю

	підгрупа «ГХПечН»	Контрольна група
Частота підвищеної ГХ експресії тканинного аміаку в таламусі серед хворих	18/21 (86%) хворих	Не виявлено
Частота наявного А2-астроцитозу в таламусі серед хворих	19/21 (90%) хворих	Не виявлено

3. Площа експресії GS перевищувала показники контролю: в корі ВПГМ – в 3.7 рази, білій речовині ВПГМ – в 2.3 рази, гіпокампі – в 2.8 рази, таламусі – в 3.5 рази, смугастому тілі – в 2.9 рази, мозочку – в 3 рази.
4. Площа експресії AQR4 була більшою за контрольні показники: в корі ВПГМ – в 4.6 рази, білій речовині ВПГМ – в 4.5 рази, гіпокампі – в 3.4 рази, таламусі – в 5.8 рази, смугастому тілі – в 4.2 рази, мозочку – в 3 рази.
5. Площа позасудинної експресії CD68 перевищувала контрольні показники: в корі ВПГМ – в 2 рази, білій речовині ВПГМ – в 1.9 рази, гіпокампі

– в 1.6 рази, таламусі – в 1.5 рази, смугастому тілі – в 1.7 рази, мозочку – в 1.9 рази.

6. Відсоток CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів був більшим, ніж в контролі: в корі ВПГМ – в 1.7 рази, білій речовині ВПГМ – в 1.4 рази, гіпокампі – в 1.5 рази, таламусі – в 1.6 рази, смугастому тілі – в 1.3 рази, мозочку – в 1.4 рази.

7. Відсоток Caspase3+ нейронів перевищує значення групи контролю: в корі ВПГМ – в 2.3 рази; 3ЗГ – в 2.8 рази, таламусі – в 3 рази, смугастому тілі – в 2.4 рази, мозочку – в 2.6 рази.

8. Площа ПВп+ПЦп перевищувала показники контролю: в корі ВПГМ – в 8.8 рази; білій речовині ВПГМ – 8 разів; в гіпокампі – 7.5 рази; таламусі – в 9.6 рази; смугастому тілі – в 9.8 рази; мозочку – в 9.9 рази. Мала місце тенденція ($p > 0.05$) до переважання показників перичелюлярного набряку над периваскулярним.

9. Кількість АТ вище, ніж в групі контролю: в корі ВПГМ – в 5 разів, білій речовині – в 2 рази, гіпокампі – в 4 рази, таламусі – в 3.5 разів, смугастому тілі – в 2.4 рази, мозочку – в 3.5 разів.

При важкій ПЕ в підгрупі «ГХПечН», в порівнянні з контролем, достовірно ($p < 0.05$) нижчими були наступні морфологічні показники:

1) Експресія GFAP: в корі ВПГМ – на 264.51%, білій речовині ВПГМ – в 3.56 рази, гіпокампі – в 2.77 рази, таламусі – в 3.65 рази, смугастому тілі – в 3.96 рази, мозочку – в 2.97 рази;

2) Експресія Syn: в корі ВПГМ – на 89.98%, в 3ЗГ – на 63.84%, в таламусі – на 119.60%, в смугастому тілі – на 84.42%, в мозочку – на 36.47%.

Таблиця 3.20 – Порівняння ГМ при ГХПечН та в групі контролю

Показники	«ГХПечН»	Контроль
1	2	3
Кора ВПГМ		
ГХ експресія аміаку (A _{уоош})	72.15 (69.32; 77.45)*	18.14(15.26; 19.53)
Шкала аміаку	++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	25.00 (21.50; 26.00)*	3.00 (2.00; 4.00)
Шкала AA2	III	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	1.24 (0.42; 1.38)*	4.52 (4.23; 5.57)

Продовження таблиці 3.20

1	2	3
ІГХ Експресія GS, S rel. %	16.27 (14.31; 18.43)*	4.29 (2.26; 5.63)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	15.64 (12.63; 17.12)*	3.40 (3.22; 4.25)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	7.41 (6.56; 7.83)*	3.45 (2.37; 4.68)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	6.12 (4.45; 7.24)*	3.56 (3.14; 4.26)
% Casp3+ нейронів	13.02 (11.37; 14.56)*	5.63 (3.29; 8.68)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	32.45 (30.97; 35.51)*	61.65(56.23; 71.34)
ПВП+ПЦП, мкм ²	102.64 (81.69; 105.68)*	11.63 (9.48; 14.25)
ПЦП, мкм ²	100.52 (85.64; 105.14)*	10.18 (9.29; 11.47)
ПВП, мкм ²	96.34 (81.12; 99.51)*	12.27(10.72; 15.69)
Кількість АТ, од.	5.00 (4.00; 6.00)*	1.00 (0.00; 2.00)
Біла речовина ВПГМ		
ІГХ експресія аміаку (АуООЩ)	24.35 (23.41; 25.65)*	11.10(10.34; 14.26)
Шкала аміаку	+	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	14.00 (13.00; 16.00)*	3.00 (1.00; 4.00)
Шкала AA2	II	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	5.11 (4.74; 6.34)*	18.20(17.11; 18.43)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	1.22 (1.12; 1.67)*	0.53 (0.34; 0.60)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	5.62 (4.75; 8.21)*	1.25 (0.75; 1.34)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	8.69 (6.48; 9.39)*	4.36 (2.54; 5.12)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	9.35 (9.12; 12.05)*	6.75 (4.48; 8.37)
% Casp3+ нейронів	-	-
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	-	-
ПВП+ПЦП, мкм ²	76.57 (69.41; 81.35)*	9.45 (7.24; 9.56)
ПЦП, мкм ²	73.27 (61.26; 80.58)*	8.29 (6.86; 9.84)
ПВП, мкм ²	67.29 (57.32; 75.06)*	10.27 (9.23; 12.18)
Кількість АТ, од.	2.00 (2.00; 3.00)	1.00 (0.00; 1.00)
Гіпокамп		
ІГХ експресія аміаку (АуООЩ)	59.53 (55.72; 63.47) *	17.25(14.68; 18.72)
Шкала аміаку	++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	8.00 (7.00; 9.00)*	2.00 (1.00; 3.00)
Шкала AA2	I	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	2.56 (2.28; 3.61)*	7.10 (6.58; 7.89)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	6.43 (6.27; 9.32)*	2.25 (0.53; 3.90)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	14.57 (13.52; 15.37) *	4.26 (4.17; 5.25)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	6.45 (5.58; 7.37)*	4.11 (2.65; 4.86)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	8.35 (7.28; 13.26)*	5.48 (4.73; 7.29)
% Casp3+ нейронів	10.46 (9.24; 13.58)*	3.67 (2.83; 5.36)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	35.62 (33.69; 37.59)*	58.36(55.83; 63.14)
ПВП+ПЦП, мкм ²	65.23 (61.37; 68.24)*	8.64 (6.38; 9.59)
ПЦП, мкм ²	63.11 (54.64; 70.26)*	7.83 (5.93; 8.95)
ПВП, мкм ²	57.37 (46.18; 67.12)*	9.45 (8.72; 10.36)
Кількість АТ, од.	8.00 (6.00; 9.00) *	2.00 (1.50; 5.00)
Таламус		
ІГХ експресія аміаку (АуООЩ)	112.04 (106.74; 115.25)*	19.25(16.58; 19.72)
Шкала аміаку	+++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	37.00 (22.50; 56.00)*	4.00 (3.00; 6.00)

Продовження таблиці 3.20

1	2	3
Шкала AA2	III	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	1.74 (1.06; 1.86)*	6.36 (5.91; 6.79)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	7.59 (5.75; 9.51)*	2.15 (1.73; 3.45)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	8.32 (7.57; 9.37)*	1.43 (0.43; 1.68)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	5.69 (4.47; 6.14)*	3.63 (2.12; 3.97)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	4.50 (4.15; 9.42)*	2.72 (2.54; 3.69)
% Casp3+ нейронів	10.26 (7.45; 12.04)*	3.25 (2.74; 4.67)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	27.54 (25.68; 34.56)*	60.48 (57.92; 65.35)
ПВП+ПЦп, мкм ²	97.42 (85.12; 102.45)*	10.06 (8.15; 11.45)
ПЦп, мкм ²	102.62 (81.79; 103.34)*	9.10 (8.14; 10.35)
ПВП, мкм ²	93.74 (71.45; 97.20)*	11.47 (9.36; 12.02)
Кількість АТ, од.	7.00 (6.00; 9.00)*	2.00 (1.00; 3.00)
Смугасте тіло		
ГХ експресія аміаку (А _{УООЩ})	103.46 (101.12; 107.29)*	18.46 (15.69; 18.93)
Шкала аміаку	+++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	27.00 (24.50; 47.00)*	3.00 (3.00; 5.00)
Шкала AA2	III	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	1.57 (1.05; 1.77)*	6.23 (5.70; 7.84)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	5.37 (5.18; 6.53)*	1.84 (1.33; 2.12)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	8.17 (6.86; 8.59)*	1.95 (1.65; 2.43)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	5.47 (4.86; 5.89)*	3.21 (2.67; 4.14)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	4.25 (4.12; 7.86)*	3.26 (2.46; 4.07)
% Casp3+ нейронів	10.48 (7.46; 11.72)*	4.37 (3.19; 5.72)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	29.67 (27.51; 38.48)*	54.72 (51.12; 58.63)
ПВП+ПЦп, мкм ²	93.55 (81.36; 99.39)*	9.54 (9.32; 12.51)
ПЦп, мкм ²	97.25 (80.38; 101.62)*	9.83 (8.85; 12.84)
ПВП, мкм ²	87.12 (74.26; 93.16)*	10.85 (9.78; 13.56)
Кількість АТ, од.	6.00 (5.50; 8.00)*	2.50 (1.00; 4.00)
Мозочок		
ГХ експресія аміаку (А _{УООЩ})	118.45 (110.29; 121.62)*	19.74 (18.32; 19.83)
Шкала аміаку	+++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (AA2)	33.00 (28.00; 54.00)*	3.00 (4.00; 6.00)
Шкала AA2	III	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	1.88 (1.75; 2.03)*	5.59 (5.18; 5.83)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	7.32 (6.56; 9.25)*	2.43 (0.63; 2.84)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	9.75 (8.84; 11.93)*	3.16 (2.47; 3.75)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	6.37 (5.59; 6.85)*	3.25 (2.44; 4.34)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	6.23 (5.68; 11.45)*	4.36 (3.64; 4.83)
% Casp3+ нейронів	9.26 (7.48; 10.36)*	4.25 (2.16; 5.24)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	37.64 (32.54; 41.83)*	51.37 (48.63; 53.92)
ПВП+ПЦп, мкм ²	101.36 (98.43; 110.15)*	10.23 (9.98; 11.56)
ПЦп, мкм ²	100.61 (96.24; 110.05)*	10.56 (9.28; 11.51)
ПВП, мкм ²	97.14 (89.35; 107.24)*	11.34 (10.52; 12.43)
Кількість АТ, од.	7.00 (6.50; 10.00)*	2.00 (1.50; 2.00)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем (p<0,05).

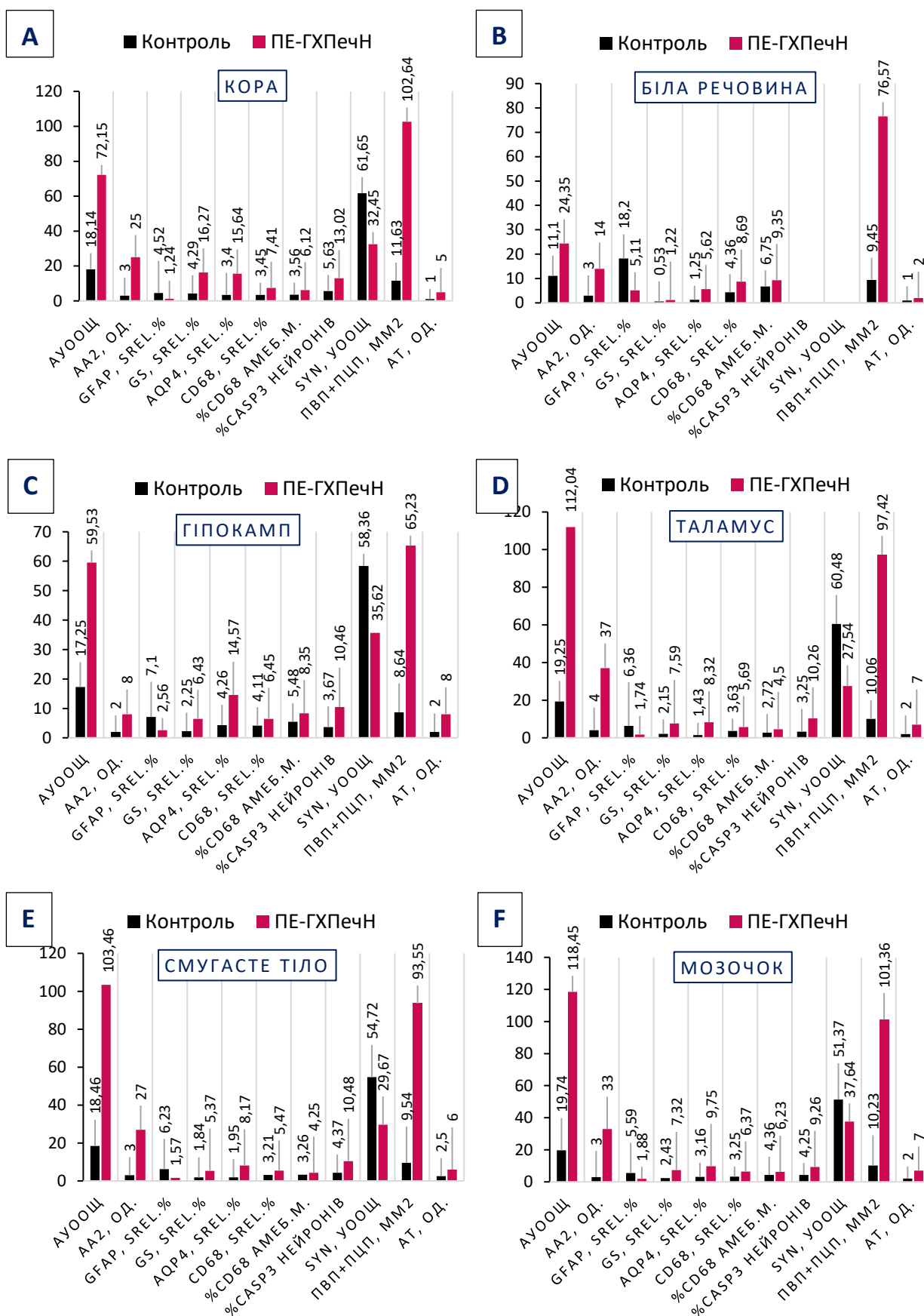


Рисунок 3.32 – Медіанні показники патоморфологічних параметрів кори ВПГМ (А), білої речовини (В), гіпокампу (С), таламусу (D), стріатуму (Е), мозочку (F) померлих хворих підгрупи «ГХПечН» і групи контролю.

Резюме

Ретроспективний аналіз клінічних проявів печінкової енцефалопатії у померлих хворих на ЦП різного ступеню тяжкості, які лікувалися в загальнотерапевтичних (не в спеціалізованих психоневрологічних) відділеннях, показав, що у всіх хворих на компенсований ЦП згадки про клінічні прояви ПЕ в історіях хвороби були відсутні. Зважаючи також на відсутність в історіях хвороби психометричних тестів на приховану форму ПЕ, всі померлі цієї підгрупи були розцінені як ПЕ-клінічно негативні (компенсований ЦП без ПЕ; або умовно з ПЕ Grade 0). У померлих хворих на субкомпенсований ЦП за життя були ознаки астериксису, поведінкові і когнітивні розлади, зниження пам'яті, уваги, дезорієнтації у часі – тобто, клінічні прояви легкої ПЕ G1-2. У померлих хворих на декомпенсований ЦП за життя діагностовано важку ПЕ G3 у 23 осіб та важку ПЕ G4 (кома) – у 7 осіб.

За результатами аналізу прижиттєвих клініко-лабораторних даних померлих осіб визначено, що у хворих на ЦП печінкова енцефалопатія розвивається на тлі печінкової або поліорганної дисфункції/недостатності, і тяжкість ПЕ зростає з декомпенсацією ЦП. У хворих з гострою декомпенсацією ЦП та синдромом ГХПечН на тлі швидкого розвитку асцити і/або жовтяниці, гастроінтестинальної кровотечі, запальних інфекційних ускладнень розвинулися ознаки моно- або поліорганної дисфункції/недостатності (мозкової, печінкової і/або ниркової, циркуляторної, легеневої, коагуляційної), а також ознаки синдрому системної запальної відповіді. За шкалою CLIF-C OF консорціуму CANONIC у 100% померлих хворих підгруп «ЦПд» і «ГХПечН» за життя спостерігалася мозкова недостатність (ПЕ G3-G4). При синдромі ГХПечН остання частіше за все поєднувалася з печінковою, циркуляторною, легеневою і нирковою недостатністю.

По мірі зростання тяжкості ЦП і ПЕ у хворих підвищувалися рівні загального білірубіну, АСТ і АЛТ, прогресували гіпопротеїнемія,

гіпоальбумінемія, анемія, тромбоцитопенія, коагулопатія, гіпонатріємія, гіпокаліємія, лейкопенія змінювалася на лейкоцитоз та зростав лейкоцитарний індекс інтоксикації та ШОЕ, підвищувались рівні креатиніну і сечовини плазми крові.

Макроскопічні зміни ГМ найбільш виразно визначалися у померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 - ознаки набряку або набряку-набухання з наявністю у нижніх мигдаликах мозочку симетричної странгуляційної борозни різної глибини та ширини. Тканина ГМ була м'якої консистенції, вологою на розрізах, на поверхні яких у 37 % померлих хворих визначалися кров'яні точки, що розпливалися. Вага ГМ померлих хворих з важкою ПЕ на 14.03% перевищувала контрольні значення. В корі, білій речовині, мозочку та таламусі у 23% померлих хворих з важкою ПЕ спостерігалися дрібні периваскулярні діapedезні крововиливи. В корі ВПГМ і білій речовині ВПГМ, таламусі, головці хвостатого ядра та мозочку у 16% померлих хворих з ПЕ G1-2 і у 36% померлих хворих з ПЕ G3-4 спостерігалися вогнища запустіння мікросудин, асоційовані з дрібними фокусами периваскулярного енцефалолізису.

Найбільш суттєвою мікроскопічною ознакою ПЕ було виявлення ГХ методом V. Gutiérrez-de-Juan та співавт. (2017) з використанням реактиву Неслера в тканині ГМ померлих хворих дрібнозернистих преципітатів аміаку підвищеної оптичної щільності в залежності від тяжкості ПЕ та дослідженого відділу ГМ. Встановлено, що вперше підвищена експресія аміаку з'являлася в таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі ВПГМ померлих хворих ще на стадії клінічно прихованої ПЕ G0 і посилювалася по мірі зростання тяжкості ПЕ, сягаючи максимуму при важкій ПЕ G3-4, коли показники оптичної щільності амонійних преципітатів в усіх 6-ти досліджених відділах ГМ значно перевищували показники групи контролю: в мозочку – в 6.2 рази; у таламусі – в 5.7 рази; у смугастому тілі – в 5.5 рази; в корі ВПГМ – в 3.5 рази; в гіпокампі – в 3.2 рази і в білій речовині ВПГМ – в 1.9 рази.

Наростання рівня тканинного аміаку в ГМ асоційовано з морфологічними змінами компонентів гліонейроваскулярного комплексу вже починаючи зі стадії клінічно прихованої ПЕ G0. За результатами ІГХ і мікроскопічних досліджень ПЕ різного ступеня тяжкості характеризується складним адаптивним ремоделюванням астроглії. В мікропрепаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, в досліджених відділах ГМ виявлялася збільшена кількість астроцитів Альцгеймера 2 типу. На відміну від померлих групи контролю, в ГМ яких спостерігалися одиничні AA2/ 20 СПЗ (або нульовий «0» ступінь A2-астроцитозу), у померлих хворих з ПЕ G0 вже визначався слабкий A2-астроцитоз I ступеня в таламусі, смугастому тілі та мозочку. У померлих хворих з ПЕ G1-2 визначався помірний A2-астроцитоз II ступеня в корі ВПГМ, таламусі, в мозочку, та слабкий A2-астроцитоз I ступеня у смугастому тілі. У померлих з ПЕ G3-4 визначався найбільш виразний (в 8.3-10.6 разів вищий, ніж в контролі) III ступінь A2-астроцитозу: в таламусі, мозочку, смугастому тілі та корі ВПГМ; помірний II ступінь A2-астроцитозу у білій речовині ВПГМ і слабкий I ступеня A2-астроцитоз в гіпокампі.

У померлих хворих з ПЕ в усіх досліджених відділах ГМ спостерігалось суттєве розширення периваскулярних і перицелюлярних просторів через набряк відростків астроцитів. Вперше достовірне зростання показників сумарної площі розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів було зафіксовано у всіх досліджених відділах ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2, де вони перевищували показники контрольної групи від 2.5 разів – в гіпокампі до 4 разів – у мозочку. При ПЕ G1-2 площа розширених периваскулярних просторів перевищувала показники перицелюлярних просторів. При ПЕ G3-4 площа розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів збільшувалася максимально (переважно за рахунок чотириразового зростання площі перицелюлярних просторів) і перевищувала показники контрольної групи: в корі ВПГМ – в 8.7 рази; в білій речовині ВПГМ – в 7.9 рази; в гіпокампі – в 7.7 рази; в таламусі – в 9.8 рази; в смугастому тілі – в 9.9 рази; в мозочку – в 10 разів.

ІГХ дослідження довели, що GFAP⁺ астроглія кори ВПГМ мала типову морфологію протоплазматичних астроцитів, термінальної глії, інтерламінарних і варикозно-проекційних астроцитів, в той час як в білій речовині, зубчастій звивині гіпокампу, таламусі, смугастому тілі і мозочку спостерігалася різнотипова GFAP⁺ астрогліальна популяція з переважанням фібрилоутворюючих астроцитів з більш інтенсивною експресією GFAP у їх цитоплазмі і відростках. З прогресуванням тяжкості ПЕ площа експресії GFAP поступово зменшувалася через зниження кількості GFAP⁺ астроцитів та укорочення та витончення їх GFAP⁺-відростків. Вже на стадії ПЕ G0 відбувалося зниження площі експресії GFAP відносно контролю в усіх 6 досліджених відділах ГМ: від 1.4 рази – в смугастому тілі до 2.2 рази – в таламусі. При ПЕ G1-2 реєструвалося подальше зниження експресії GFAP відносно контролю: від 2.2 рази – в мозочку до 5 разів – в корі ВПГМ. Максимально знижена площа експресії GFAP при ПЕ G3-4: в корі ВПГМ – в 6.7 рази, в таламусі – в 6.2 рази, в білій речовині ВПГМ – в 3.5 рази, в гіпокампі – в 3 рази, в смугастому тілі – в 4.6 рази, в мозочку – в 3 рази.

По мірі прогресуванні тяжкості ПЕ збільшувалася площа експресії GS, що було зумовлено більшою розповсюдженістю GS⁺ тіл астроцитів та їх нейропільних відростків. Вже при ПЕ G0 в усіх досліджених відділах ГМ площа експресії GS збільшувалася: від 1.39 разів – в білій речовині ВПГМ до 2.36 разів – в корі ВПГМ. При ПЕ G1-2 підвищена експресія GS (відносно контролю) мала місце в корі ВПГМ, білій речовині ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку (зі збільшенням площі в 3.62, 2.49, 2.72, 3.45, 2.08, 2.55 разів, відповідно); при ПЕ G3-4 збільшення площі експресії GS у тих же відділах ГМ було максимальним і сягало 4.34, 3.05, 3.50, 4.26, 2.95 і 2.99 разів (відповідно).

Прогресування ПЕ було асоційоване з підвищенням площі експресії AQP4, пов'язане зі зростанням числа аквапоринів в плазмолемі астроцитів та зі збільшенням кількості імунопозитивних астроцитів, а також їх периваскулярних і нейропільних відростків зі слабкою або помірною,

ніжнозернистою імунопозитивністю нейропілю. При ПЕ G0 в усіх досліджених відділах ГМ площа експресії AQP4 перевищувала показники контролю від 1.66 разів – в мозочку до 2.62 разів – смугастому тілі. При ПЕ G1-2 площа експресії AQP4 ще більш істотно перевищувала показники контролю: від 2.58 разів – в білій речовині ВПГМ до 3.73 разів – в таламусі. Максимально підвищена площа експресії AQP4 спостерігалася при ПЕ G3-4, що перевищувала показники контролю в корі ВПГМ, білій речовині ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку в 4.25, 3.52, 3.24, 4.34, 3.71, 2.91 разів (відповідно).

Починаючи з легкої ПЕ G1-2 в 5-ти досліджених відділах ГМ (окрім білої речовини ВПГМ) навіть у померлих хворих молодше 60 років спостерігалася підвищення кількості АТ. Максимальну виразність це набуло при ПЕ G3-4, коли медіанна кількість АТ була вищою (відносно контролю) в корі ВПГМ – в 6 разів, в гіпокампі – в 5.5 разів, в таламусі – в 4.5 разів, в смугастому тілі – в 3.2 рази, в мозочку – в 5 разів. АТ локалізувалися у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках гіпокампальної формації, таламусу, смугастого тіла, кори ВПГМ та мозочка.

В мікропрепаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, у померлих хворих з ПЕ в усіх досліджених відділах ГМ виявлялися набряклі нейрони, набряклі нейрони з каріопікнозом, гіперхромні і апоптотичні нейрони, нейрони з перинейрональним гліальним сателітозом, а у хворих, що померли в комі, в корі ВПГМ також спостерігалися вогнища ламінарного селективного некрозу нейронів. Починаючи з ПЕ G1-2 в ГМ померлих хворих зафіксоване підвищення відсотку Casp3⁺-нейронів відносно показників контролю: від 1.4 разів – в смугастому тілі до 2.4 разів – в гіпокампі. При ПЕ G3-4 відсоткова частка Casp3⁺-нейронів була максимально збільшеною відносно контролю: в корі ВПГМ – в 2.5 рази; в гіпокампі – в 3 рази; в таламусі – в 4.1 рази; в смугастому тілі – в 2.4 рази; в мозочку – в 2.3 рази.

За рівнем експресії Syn, у всіх досліджених відділах ГМ померлих хворих з ПЕ визначені ознаки зниження міжнейронної синаптичної передачі.

Починаючи з легкої ПЕ G1-2 експресія Synaptophysin відповідала низькому рівню за шкалою УООЩ і була зниженою (відносно значень контролю): від 1.15 разів – в мозочку до 1.36 разів – в гіпокампі. В ГМ померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 експресія Syn була максимально зниженою відносно значень контрольної групи: в 1.68 разів – в корі ВПГМ; в 1.54 разів – в гіпокампі; в 1.93 рази – в таламусі; в 1.46 рази – в смугастому тілі; в 1.33 рази – в мозочку; а в багаточисельних дрібних ділянках ГМ експресія Syn не визначалася зовсім.

Позасудинна експресія CD68 в ГМ померлих хворих виявлялася в «наглядних», в реактивних амебоїдних та в гіпертрофічно-подібних крупних мікрогліюцитах. У померлих осіб контрольної групи площа CD68⁺ позасудинних мікрогліюцитів та відсоток серед них амебоїдних форм були найменшими. В ГМ померлих хворих з ПЕ G0 зареєстроване підвищення (відносно контролю) площі позасудинної CD68⁺ мікроглії у білій речовині ВПГМ, в таламусі та в смугастому тілі, а в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі і мозочку – ще і збільшення відсотку амебоїдних CD68⁺ форм. У померлих хворих з ПЕ G1-2 відзначалося подальше збільшення площі CD68⁺ мікрогліюцитів і відсотку амебоїдних форм у всіх відділах ГМ: найбільше – в 2.22 рази і в 2.35 рази (відповідно) – в мозочку, найменше – в 1.92 рази і в 1.53 рази (відповідно) – в смугастому тілі. Незважаючи на те, що площа позасудинної CD68⁺ мікроглії і відсоток амебоїдних форм при важкій ПЕ G3-4 у всіх досліджених відділах ГМ перевищували показники групи контролю, відзначено тенденцію до зниження цих параметрів відносно легкої ПЕ G1-2, а в таламусі і смугастому тілі це зниження було достовірним. Також при важкій ПЕ G3-4 найбільш часто спостерігалася експресія CD68 в гіпертрофічно-подібних мікрогліюцитах біля нейронів.

При важкій ПЕ G3-4 у померлих хворих з синдромом ГХПечН, у яких печінкова недостатність частіше поєднувалася з циркуляторною, легеневою та нирковою дисфункцією/недостатністю, патоморфологічні прояви ПЕ були максимальними. Вага ГМ померлих хворих через набряк на 15.78% перевищувала контрольні показники. Частіше (за χ^2) порівняно з контролем

спостерігалися запусілі судини МЦР в корі ВПГМ з більшим в 4 рази відсотком запусілих судин МЦР/стандартизоване поле зору мікроскопу в корі ВПГМ; відзначена більша частота (за χ^2) мікрокрововиливів і дрібних фокусів енцефалолізису в корі та білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку. У ГМ виявився до 6 разів вищий, ніж в контрольній групі, рівень тканинного аміаку, підвищена до 3.2 разів кількість Casp3-апоптотичних нейронів та знижена до 2.2 разів експресія Syn, підвищена до 3.5 разів експресія GS і до 5.8 разів – експресія AQP4 та знижена до 3.9 разів експресія GFAP в астроцитах, підвищена до 11 разів кількість AA2, до 9.9 разів розширені периваскулярні і перицелюлярні простори, підвищена до 5 разів кількість амілоїдних тілець, підвищена до 2.14 разів площа CD68⁺ мікрогліоцитів та збільшений до 1.71 разів відсоток CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів.

Отримані дані свідчать про те, що починаючи зі стадії клінічно прихованої ПЕ в таламусі, смугастому тілі, мозочку, корі ВПГМ і в меншій мірі в гіпокампі та білій речовині ВПГМ підвищується рівень тканинного аміаку, що ініціює комплекс змін ГНБК, які наростають з декомпенсацією ЦП і обумовлюють тяжкість ПЕ. Психоневрологічні прояви ПЕ G1-4 обумовлені аміак-асоційованими набряком ГМ, зниженням синаптичної передачі, апоптозом нейронів з реактивацією CD68⁺ мікроглії на тлі ремоделювання астроцитів з гіперекспресією GS та AQP4, зниженням експресії GFAP, дисфункцією глімфатичної системи з накопиченням амілоїдних тілець.

Результати даного розділу було опубліковано в наступних роботах [119-128].

РОЗДІЛ 4

КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН ПАРАМЕТРІВ ГЛІОНЕЙРОВАСКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ В АСОЦІАЦІЇ З ПРИЖИТТЄВИМИ ЛАБОРАТОРНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ОРГАННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ТА ОБГРУНТУВАННЯ РЕКОМЕНДАЦІЙ ДЛЯ ДОКАЗОВОЇ КЛІНІКО-ПАТОЛОГОАНАТОМІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ПЕЧІНКОВОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПРИ ЦИРОЗІ ПЕЧІНКИ

Для визначення морфогенетичних взаємозв'язків між описаними змінами параметрів ГНБК, а також асоціації цих змін з підвищенням рівня тканинного аміаку в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-4 проведено кореляційний аналіз з визначенням коефіцієнту кореляції рангу Спірмена (r).

4.1 Кореляційний аналіз зв'язків між рівнями імуногістохімічної експресії астроцитарних GFAP, GS, AQP4 в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-G4

За результатами кореляційного аналізу визначено, що у померлих хворих з ПЕ типу С різного ступеня тяжкості зростаючі площі експресії астроцитарних маркерів GS і AQP4 були пов'язані між собою прямими кореляційними зв'язками ($p < 0.05$), в той час як між зниженням площі експресії маркера гліофібрилярного білка астроцитів GFAP та зростанням площ експресії GS і AQP4 мав місце зворотній зв'язок різної сили (табл. 4.1), яка зміцнювалась з тяжкістю ПЕ.

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»):

- Між площами експресії GS/AQP4 визначено прямий помірний зв'язок в білій речовині ВПГМ, таламусі, мозочку, $p < 0.05$.

- Між площами експресії GS/GFAP мав місце зворотній помірний зв'язок в корі ВПГМ, $p < 0.05$.

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПС»):

- Між площами експресії GS/AQP4 прямий помірний зв'язок виявлено в корі та в білій речовині ВПГМ, в 33Г, таламусі, смугастому тілі, мозочку, $p < 0.05$.
- Між площами експресії GS/GFAP визначено зворотній помірний зв'язок в корі ВПГМ, в білій речовині ВПГМ, в 33Г, таламусі, $p < 0.05$.
- Між площами експресії AQP4/GFAP мав місце зворотній помірний зв'язок в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку, а зворотній сильний зв'язок виявлено в корі ВПГМ, $p < 0.05$.

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»):

- Між площами експресії GS/AQP4 прямий сильний зв'язок виявлено в білій речовині ВПГМ, смугастому тілі, $p < 0.05$; а прямий помірний зв'язок визначено в корі ВПГМ, в 33Г, таламусі, мозочку, $p < 0.05$.
- Між площами експресії GS/GFAP мав місце зворотній сильний зв'язок в корі і в білій речовині ВПГМ, в 33Г, таламусі, смугастому тілі, $p < 0.05$; а в мозочку виявлено зворотній помірний зв'язок, $p < 0.05$.
- Між площами експресії AQP4/GFAP визначено зворотній помірний зв'язок – в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку; а в корі ВПГМ і в 33Г мав місце зворотній сильний зв'язок, $p < 0.05$.

Таблиця 4.1 - Кореляції між експресією GFAP, GS і AQP4 в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-4 підгруп «ЦПк», «ЦПс» та «ЦПд». Дані представлені в значеннях коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r)

Відділ ГМ	підгрупа «ЦПк», ПЕ G0				підгрупа «ЦПс», ПЕ G1-2				підгрупа «ЦПд», ПЕ G3-4			
Кора ВПГМ		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.45*	-0.32	GFAP	1.00	-0.62*	-0.72*	GFAP	1.00	-0.83*	-0.73*
	GS	-0.45*	1.00	0.23	GS	-0.62*	1.00	0.57*	GS	-0.83*	1.00	0.64*
	AQP4	-0.32	0.23	1.00	AQP4	-0.72*	0.57*	1.00	AQP4	-0.73*	0.64*	1.00
Біла речовина ВПГМ		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.23	-0.27	GFAP	1.00	-0.53*	-0.65*	GFAP	1.00	-0.86*	-0.63*
	GS	-0.23	1.00	0.35*	GS	-0.53*	1.00	0.52*	GS	-0.86*	1.00	0.77*
	AQP4	-0.27	0.35*	1.00	AQP4	-0.65*	0.52*	1.00	AQP4	-0.63*	0.77*	1.00
Гіпокамп (33Г)		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.21	-0.28	GFAP	1.00	-0.32*	-0.29	GFAP	1.00	-0.84*	-0.73*
	GS	-0.21	1.00	0.31	GS	-0.32*	1.00	0.42*	GS	-0.84*	1.00	0.68*
	AQP4	-0.28	0.31	1.00	AQP4	-0.29	0.42*	1.00	AQP4	-0.73*	0.68*	1.00
Таламус		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.22	-0.27	GFAP	1.00	-0.36*	-0.41*	GFAP	1.00	-0.79*	-0.61*
	GS	-0.22	1.00	0.30*	GS	-0.36*	1.00	0.51*	GS	-0.79*	1.00	0.67*
	AQP4	-0.27	0.30*	1.00	AQP4	-0.41*	0.51*	1.00	AQP4	-0.61*	0.67*	1.00
Смугасте тіло		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.25	-0.31*	GFAP	1.00	-0.30	-0.48*	GFAP	1.00	-0.81*	-0.65*
	GS	-0.25	1.00	0.26	GS	-0.30	1.00	0.37*	GS	-0.81*	1.00	0.71*
	AQP4	-0.31*	0.26	1.00	AQP4	-0.48*	0.37*	1.00	AQP4	-0.65*	0.71*	1.00
Мозочок		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
	GFAP	1.00	-0.22	-0.29	GFAP	1.00	-0.31	-0.36*	GFAP	1.00	-0.45*	-0.48*
	GS	-0.22	1.00	0.32*	GS	-0.31	1.00	0.41*	GS	-0.45*	1.00	0.61*
	AQP4	-0.29	0.32*	1.00	AQP4	-0.36*	0.41*	1.00	AQP4	-0.48*	0.61*	1.00

Примітка. (*) достовірна кореляція між експресією білків в межах одного відділу ГМ в кожній з досліджуваних підгруп ($p < 0.05$). Значення коефіцієнту r 0,01–0,29 - слабкий прямий (позитивний) зв'язок; 0,30–0,69 – помірний прямий (позитивний) зв'язок; 0,70–1,00 – сильний прямий (позитивний) зв'язок; -0,01≤-0,29 – слабкий зворотній (негативний) зв'язок, -0,30≤-0,69 – помірний зворотній (негативний) зв'язок, -0,70≤-1,00 – сильний зворотній (негативний) зв'язок.

4.2 Кореляційний аналіз зв'язків між рівнем гістохімічної експресії тканинного аміаку та виразністю А2-астроцитозу в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-G4

Кореляційний аналіз показав наявність достовірного ($p < 0.05$) помірного і сильного позитивного зв'язку між підвищенням рівня ГХ експресії аміаку і зростаючою кількістю А2-астроцитів в усіх 6 досліджених відділах ГМ померлих хворих з ПЕ G0 підгрупи «ЦПк», померлих хворих з ПЕ G1-2 підгрупи «ЦПс» та померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд».

Так, при ПЕ G0 і ПЕ G1-2 достовірний ($p < 0.05$) помірний прямий зв'язок між кількістю А2-астроцитів і показниками ГХ експресії тканинного аміаку виявлено в корі та білій речовині ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, і сильний прямий зв'язок виявлено у мозочку.

У померлих хворих з ПЕ G3-4 підгрупи «ЦПд» помірної сили прямий зв'язок виявлено в корі та білій речовині ВПГМ, гіпокампі; сильний прямий зв'язок виявлено в таламусі, смугастому тілі та мозочку (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Кореляційні взаємозв'язки між рівнем ГХ експресії аміаку та А2-астроцитозом в ГМ померлих хворих з ПЕ G0-4 підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» (виражені в коефіцієнті рангової кореляції Спірмена, r)

		підгрупа «ЦПк» ПЕ G0	підгрупа «ЦПс» ПЕ G1-2	підгрупа «ЦПд» ПЕ G3-4
		Рівень тканинного аміаку (УООЩ)		
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 типу /20 СПЗ, од.	Кора ВПГМ	0.63*	0.48*	0.47*
	Біла речовина ВПГМ	0.51*	0.52*	0.39*
	Гіпокамп	0.41*	0.65*	0.43*
	Таламус	0.52*	0.68*	0.92*
	Смугасте тіло	0.47*	0.61*	0.79*
	Мозочок	0.75*	0.86*	0.93*

Примітка. (*) - достовірний зв'язок між показниками всередині кожної групи ($p < 0.05$). Значення коефіцієнту r 0.01-0.29 - слабкий прямий (позитивний) зв'язок; 0.30-0.69 – помірний прямий (позитивний) зв'язок; 0.70-1.00 – сильний прямий (позитивний) зв'язок; -0.01≤-0.29 – слабкий зворотній (негативний) зв'язок, -0.30≤-0.69 – помірний зворотній (негативний) зв'язок, -0.70≤-1.00 – сильний зворотній (негативний) зв'язок.

4.3 Кореляційний аналіз зв'язків між рівнями імуногістохімічної експресії астроцитарних GFAP, GS, AQP4 та рівнем гістохімічної експресії тканинного аміаку, виразністю A2-астроцитозу, кількістю амілоїдних тілець в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-G4

Кореляційний аналіз показав, що по мірі прогресування ПЕ між рівнем ГХ експресії аміаку, кількістю AA2, амілоїдних тілець з одного боку та експресією астроцитарного цитоскелетного білку GFAP з іншого визначено достовірний ($p < 0.05$) зворотній зв'язок, сила якого, а також кількість відділів ГМ, де він виявлявся, зростали з наростанням тяжкості ПЕ. В той же час, кореляційні взаємовідносини вказаних параметрів з експресією астроцитарних GS і AQP4 характеризувалися достовірною ($p < 0.05$) позитивною зростаючою силою (табл. 4.3). В білій речовині ВПГМ кореляційні зв'язки ставали достовірними тільки при тяжкій ПЕ G3-4 і спостерігалися тільки між рівнем аміаку та експресією GFAP, GS AQP4, адже A2-астроцитоз і амілоїдні тільця майже не характерні для білої речовини ВПГМ.

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»): Зворотній помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}/GFAP$ – в таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками AA2, AT/GFAP – в гіпокампі. Прямий помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}/GS$ – в таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}/AQP4$ – в мозочку; між показниками AT/AQP4 – в гіпокампі.

У померлих хворих з ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПс»): Зворотній помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}/GFAP$ – у корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками AA2, AT/GFAP – таламусі, смугастому тілі, мозочку. Прямий помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}$, AA2, AT/GS – у всіх досліджених відділах ГМ окрім білої речовини; між показниками $A_{y_{00\text{ш}}}$, AA2, AT/AQP4 – в корі, таламусі, смугастому тілі, мозочку.

У померлих хворих з ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»): Зворотній помірний і сильний зв'язок виявлено між показниками А_{уоощ}, АА2, АТ/GFAP – в усіх відділах ГМ окрім білої речовини, де був наявний зв'язок тільки між А_{уоощ}/GFAP. Прямий помірний і сильний зв'язок виявлено між показниками А_{уоощ}, АА2, АТ /GS, AQP4 – у всіх досліджених відділах ГМ окрім білої речовини, де експресія GS і AQP4 прямо корелювала лише з рівнем тканинного аміаку.

Таблиця 4.3 – Взаємозв'язки між ГХ експресією аміаку, А2-астроцитозом, кількістю амیلотидних тілець та ІГХ експресією GFAP, GS та AQP4 в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» (виражені в коефіцієнті рангової кореляції Спірмена, r)

підгрупа «ЦПк», ПЕ G0				підгрупа «ЦПс», ПЕ G1-2				підгрупа «ЦПд», ПЕ G3-4			
Кора ВПГМ											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.30	0.29	0.20	Ауоощ	-0.45*	0.52*	0.34*	Ауоощ	-0.63*	0.71*	0.47*
АА2	-0.23	0.21	0.19	АА2	-0.29	0.38*	0.33*	АА2	-0.56*	0.59*	0.33*
АТ	-0.18	0.24	0.26	АТ	-0.20	0.32*	0.35*	АТ	-0.45*	0.53*	0.45*
Біла речовина ВПГМ											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.19	0.25	0.23	Ауоощ	-0.29	0.30	0.26	Ауоощ	-0.37*	0.32*	0.40*
АА2	-0.23	0.18	0.24	АА2	-0.25	0.31	0.27	АА2	-0.23	0.28	0.29
АТ	-0.10	0.09	0.12	АТ	-0.19	0.24	0.20	АТ	-0.27	0.23	0.25
Гіпокамп											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.20	0.25	0.28	Ауоощ	-0.43*	0.52*	0.30	Ауоощ	-0.63*	0.71*	0.47*
АА2	-0.32*	0.29	0.18	АА2	-0.29	0.38*	0.25	АА2	-0.56*	0.59*	0.33*
АТ	-0.37*	0.27	0.34*	АТ	-0.20	0.32*	0.28	АТ	-0.45*	0.53*	0.45*
Таламус											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.34*	0.37*	0.28	Ауоощ	-0.63*	0.60*	0.42*	Ауоощ	-0.93*	0.86*	0.75*
АА2	-0.29	0.25	0.26	АА2	-0.50*	0.55*	0.45*	АА2	-0.72*	0.65*	0.56*
АТ	-0.23	0.24	0.30	АТ	-0.43	0.40*	0.39*	АТ	-0.45*	0.53*	0.45*
Смугасте тіло											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.36*	0.41*	0.30	Ауоощ	-0.45*	0.61*	0.53*	Ауоощ	-0.88*	0.73*	0.62*
АА2	-0.27	0.25	0.28	АА2	-0.37*	0.46*	0.57*	АА2	-0.70*	0.69*	0.72*
АТ	-0.26	0.29	0.24	АТ	-0.50*	0.46*	0.43*	АТ	-0.50*	0.55*	0.62*
Мозочок											
	GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4		GFAP	GS	AQP4
Ауоощ	-0.40*	0.34*	0.36*	Ауоощ	-0.50*	0.57*	0.48*	Ауоощ	-0.90*	0.81*	0.71*
АА2	-0.25	0.30	0.24	АА2	-0.39*	0.40*	0.43*	АА2	-0.65*	0.64*	0.83*
АТ	-0.27	0.23	0.28	АТ	-0.53*	0.44*	0.41*	АТ	-0.60*	0.63*	0.57*

Примітка. (*) - достовірний зв'язок між показниками всередині кожної підгрупи (p < 0.05).

4.4 Кореляційний аналіз взаємозв'язків між площею розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів, кількістю амілоїдних тілець та рівнем тканинного аміаку, виразністю А2-астроцитозу, ІГХ експресією АQR4 в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-G4

Для визначення взаємозв'язків між аміак-асоційованою астрогліальною дистрофією і дисфункцією, гіперекспресією АQR4 та розвитком недостатності глімфатичної системи, а також набряковими змінами мозкової тканини проведено статистичне порівняння напрямків цих змін в динаміці прогресування ПЕ.

За результатами кореляційного аналізу встановлено наявність статистично значущих ($p < 0.05$) прямих взаємозв'язків між кількістю амілоїдних тілець і показниками сумарної площі розширених периваскулярних і перицелюлярних тканинних просторів (ПВп+ПЦп) з одного боку та рівнями ІГХ експресії аміаку, виразністю А2-астроцитозу і експресією АQR4 в ГМ померлих хворих з ПЕ різного ступеня тяжкості – з іншого (табл. 4.4).

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»):

➤ Прямий помірний зв'язок виявлено між показниками ПВп+ПЦп/АQR4 – в смугастому тілі та мозочку.

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПс»):

➤ Прямий помірний зв'язок виявлено між показниками АТ/А_{уооц}, АА2, АQR4, а також між показниками ПВп+ПЦп/А_{уооц}, АА2, АТ, АQR4 – у корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками ПВп+ПЦп/АQR4 – у білій речовині ВПГМ;

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»):

➤ Прямий помірний і сильний зв'язок виявлено між показниками АТ/А_{уооц}, АА2, АQR4, а також ПВп+ПЦп/А_{уооц}, АА2, АТ, АQR4 – у корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками ПВп+ПЦп/А_{уооц}, АQR4 – у білій речовині ВПГМ.

Таблиця 4.4 – Кореляційні зв'язки між кількістю амілоїдних тілець, площею розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів (ПВп+ПЦп) та рівнем ГХ експресії аміаку, виразністю А2-астроцитозу, площею ГХ експресії AQP4 в ГМ померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» (коефіцієнт кореляції Спірмена, r)

	«ЦПК», ПЕ G0		«ЦПС», ПЕ G1-2		«ЦПД», ПЕ G3-4	
Кора ВПГМ						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.23	0.26	0.33*	0.55*	0.42*	0.72*
АА2	0.15	0.24	0.31*	0.47*	0.35*	0.73*
АТ	1	0.21	1	0.35*	1	0.41*
AQP4	0.28	0.20	0.42*	0.38*	0.51*	0.55*
Біла речовина ВПГМ						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.12	0.11	0.15	0.29	0.24	0.37*
АА2	0.9	0.10	0.17	0.21	0.20	0.25
АТ	1	0.14	1	0.26	1	0.30
AQP4	0.16	0.21	0.10	0.37*	0.25	0.47*
Гіпокамп						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.13	0.21	0.59*	0.35*	0.52*	0.68*
АА2	0.10	0.22	0.44*	0.34*	0.42*	0.65*
АТ	1	0.19	1	0.48*	1	0.43*
AQP4	0.17	0.30	0.42*	0.36*	0.56*	0.66*
Таламус						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.25	0.29	0.53*	0.63*	0.43*	0.93*
АА2	0.19	0.27	0.43*	0.55*	0.40*	0.97*
АТ	1	0.20	1	0.32*	1	0.59*
AQP4	0.28	0.26	0.53*	0.71*	0.59*	1
Смугасте тіло						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.24	0.30	0.51*	0.61*	0.40*	0.77*
АА2	0.11	0.25	0.48*	0.52*	0.35*	0.71*
АТ	1	0.23	1	0.31*	1	0.39*
AQP4	0.26	0.33*	0.53*	0.55*	0.43*	0.74*
Мозочок						
	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп	АТ	ПВп+ПЦп
Ауооц	0.25	0.31	0.59*	0.65*	0.52*	0.72*
АА2	0.14	0.27	0.45*	0.57*	0.47*	0.68*
АТ	1	0.26	1	0.48*	1	0.54*
AQP4	0.29	0.36*	0.69*	0.59*	0.63*	0.77*

Примітка. (*) достовірна ($p < 0.05$) кореляція між показниками в межах одного відділу ГМ. Значення коефіцієнту $r=0,01-0,29$ - слабкий прямий (позитивний) зв'язок; $0,30-0,69$ - середньої сили прямий (позитивний) зв'язок; $0,70-1,00$ - сильний прямий (позитивний) зв'язок; $-0,01 \leq -0,29$ - слабкий зворотній (негативний) зв'язок, $-0,30 \leq -0,69$ - середньої сили зворотній (негативний) зв'язок, $-0,70 \leq -1,00$ - сильний зворотній (негативний) зв'язок.

4.5 Кореляційний аналіз зв'язків між рівнем аміаку та експресією CD68⁺ мікроглії і відсотком CD68⁺ амебоїдної мікроглії при ПЕ G0-G4

Для визначення асоціації між підвищенням експресії аміаку та особливостями мікрогліальної реактивності при ПЕ проведено кореляційний аналіз зв'язків між ними. При прогресуванні ПЕ від G0 до G1-2 між рівнями аміаку з одного боку та площею експресії CD68 (S rel.%) і відсотком CD68⁺ амебоїдної мікроглії (а.м.%) з іншого боку встановлювалися прямі кореляційні зв'язки ($p < 0.05$), в той час як при ПЕ G3-4 при декомпенсованому ЦП напрямок кореляції змінювався на зворотній (табл. 4.5).

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»): Прямий помірний зв'язок між показниками $A_{yoo\psi}/S\ rel.CD68$ – в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками $A_{yoo\psi}/a.m.\%$ – в таламусі, мозочку.

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПс»): Прямий помірний зв'язок між показниками $A_{yoo\psi}/Srel.CD68$ та $A_{yoo\psi}/a.m.\%$ – у всіх досліджених відділках ГМ.

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»): Зворотній помірний зв'язок між показниками $A_{yoo\psi}/Srel.CD68$ – в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі, мозочку; між показниками $A_{yoo\psi}/a.m.\%$ – в таламусі.

Таблиця 4.5 – Взаємозв'язки між ГХ експресією аміаку та площею експресії CD68 і відсотком амебоїдних мікрогліоцитів (коефіцієнт Спірмена, r)

		підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»
		Рівень тканинного аміаку (УООЩ)		
Площа експресії CD68, S rel. %	Кора ВПГМ	0.24	0.45*	-0.37*
	Біла речовина ВПГМ	0.35*	0.50*	-0.22
	Гіпокамп	0.30	0.63*	-0.33*
	Таламус	0.38*	0.61*	-0.40*
	Смугасте тіло	0.40*	0.52*	-0.36*
	Мозочок	0.32*	0.53*	-0.34*
Відсоток амебоїдних мікрогліоцитів, %	Кора ВПГМ	0.15	0.36*	-0.23
	Біла речовина ВПГМ	0.29	0.45*	-0.30
	Гіпокамп	0.26	0.37*	-0.25
	Таламус	0.34*	0.42*	-0.32*
	Смугасте тіло	0.27	0.36*	-0.24
	Мозочок	0.38*	0.43*	-0.28

Примітка. (*) - достовірний зв'язок між показниками всередині кожної групи ($p < 0.05$).

4.6 Кореляційний аналіз взаємозв'язків між рівнем тканинного аміаку, кількістю амілоїдних тілець та нейрональними змінами в головному мозку померлих хворих з ПЕ G0-G4

Для визначення асоціації між підвищенням рівнів тканинного аміаку, накопиченням амілоїдних тілець та нейрональними змінами в динаміці ПЕ було проведено статистичне дослідження зв'язків між цими параметрами.

Кореляційний аналіз показав, що при прогресуванні тяжкості ПЕ рівень тканинного аміаку і кількість амілоїдних тілець прямо і достовірно корелювали з відсотком Casp3⁺-нейронів і були зворотно пов'язані з показниками оптичної щільності експресії синаптофізину (Syn) в нейрональних синапсах (табл. 4.6).

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»):

➤ Зворотній помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00щ}}/Syn$ – в таламусі ($p < 0.05$).

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПс»):

➤ Прямий помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00щ}}/Casp3^+$ – в корі, таламусі, смугастому тілі; між показниками $AT/Casp3^+$ – в таламусі. Зворотній помірний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00щ}}/Syn$ – у всіх досліджених відділах ГМ ($p < 0.05$)

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»):

➤ Прямий помірний і сильний зв'язок виявлено між показниками $A_{y_{00щ}}$, $AT/Casp3^+$, а також зворотній помірний і сильний зв'язок між показниками $A_{y_{00щ}}/Syn$ – у всіх досліджених відділах ГМ ($p < 0.05$)

Таблиця 4.6 – Зв'язки між рівнем аміаку, кількістю АТ, відсотком Casp3⁺-нейронів, експресією синаптофізину в підгрупах «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» (коефіцієнт r)

		підгрупа «ЦПк»	підгрупа «ЦПс»	підгрупа «ЦПд»
Рівень тканинного аміаку (УООЩ)				
Відсоток Casp3 ⁺ -нейронів, %	Кора ВПГМ	0.10	0.35*	-0.53*
	Гіпокамп	0.06	0.31	-0.40*
	Таламус	0.16	0.42*	-0.57*
	Смугасте тіло	0.13	0.35*	-0.44*
	Мозочок	0.16	0.30	-0.59*
Рівень експресії синаптофізину, УООЩ	Кора ВПГМ	-0.25	-0.57*	-0.81*
	Гіпокамп	-0.11	-0.38*	-0.56*
	Таламус	-0.37*	-0.69*	-0.91*
	Смугасте тіло	-0.26	-0.58*	-0.87*
	Мозочок	-0.29	-0.61*	-0.73*
Кількість амілоїдних тілець (од.)				
Відсоток Casp3 ⁺ -нейронів	Кора ВПГМ	0.17	0.26	0.39*
	Гіпокамп	0.18	0.30	0.47*
	Таламус	0.16	0.32*	0.56*
	Смугасте тіло	0.19	0.30	0.35*
	Мозочок	0.17	0.29	0.43*

Примітка. (*) - достовірний зв'язок між показниками всередині кожної групи (p < 0.05).

Визначені кореляційні зв'язки аміак-асоційованих патоморфологічних змін ГНВК представлені на узагальнюючій схемі (рис. 4.1)

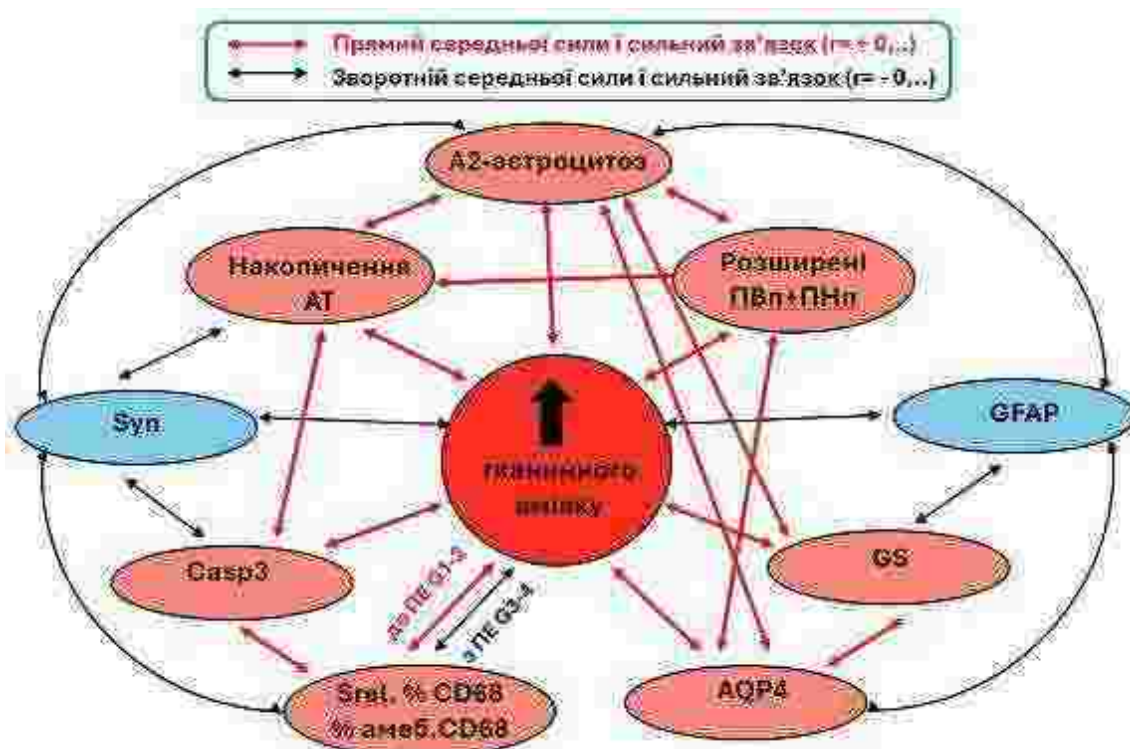


Рисунок 4.1 – Кореляційні зв'язки між рівнем тканинного аміаку та гістологічними і ІГХ змінами гліонейроваскулярного комплексу.

4.7 Кореляційний аналіз прижиттєвих лабораторних показників крові померлих хворих з ПЕ різного ступеня тяжкості та аміак-асоційованих змін гліонейроваскулярного комплексу в їх посмертній тканині головного мозку

Для визначення зв'язку між органною недостатністю (печінковою, нирковою), а також ускладнень ЦП у вигляді постгеморагічної анемії та системної запальної реакції з одного боку, та визначеними аміак-асоційованими морфологічними змінами ГНБК – з іншого, а також для визначення найбільш діагностично значущих показників крові і морфологічних змін ГНБК для подальшого залучення в логістично-регресійному аналізі попередньо було проведено кореляційний аналіз цих параметрів.

За результатами дослідження визначено наявність статистично значущих ($p < 0.05$) зв'язків між змінами показників крові померлих хворих з ПЕ G0-4 підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» та рівнем ГХ експресії аміаку, виразністю AA2-астроцитозу, кількістю АТ, ІГХ експресією GFAP, GS, AQP4, CD68, Casp-3, синаптофізину в їх посмертній тканині ГМ.

Визначено, що майже всі 16-ть показників крові мають статистично достовірні взаємозв'язки зі змінами параметрів ГНБК, але кількість і сила взаємозв'язків збільшується поступово, з прогресуванням ПЕ та ЦП і залежить від відділу ГМ. В найбільш «аміак-чутливих» відділах ГМ (таламус, смугасте тіло, мозочок, кора ВПГМ) сила і кількість кореляційних зв'язків мали тенденцію до більших значень порівняно з тканиною білої речовини ВПГМ та гіпокампу вже починаючи з доклінічної стадії ПЕ G0.

Серед лабораторних показників крові найбільш рано, на доклінічній стадії ПЕ ознаки печінкової дисфункції у вигляді підвищення рівнів загального білірубину, активності АСТ та в меншій мірі – АЛТ, достовірно асоційовані зі збільшенням ГХ експресії аміаку, кількості AA2, АТ та змінами ІГХ експресії GFAP, GS, AQP4 у відділах ГМ (табл. 4.7).

У померлих хворих з ПЕ G0 (підгрупа «ЦПк»):

- Прямий помірний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

В корі ВПГМ: між $A_{\text{УООЩ}}$ /Bil, AST, ALT; між AA2/Bil; між GS/Bil, AST; між AQP4/Bil, AST; між AT/Bil;

В білій речовині: між $A_{\text{УООЩ}}$, AT/Bil; між GS/Bil, AST; між AQP4/Bil, AST;

В гіпокамні: між $A_{\text{УООЩ}}$, GS, AQP4, AT/Bil;

В таламусі: між $A_{\text{УООЩ}}$, AT/Bil, між AA2/Bil, AST, ALT; між GS/Bil, AST;

В смугастому тілі, в мозочку: між $A_{\text{УООЩ}}$, AA2, AT/Bil; між GS/Bil, AST, між AQP4/Bil, AST;

- Зворотний помірний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

між GFAP/ Bil, AST – в корі ВПГМ, білій речовині, гіпокамні, таламусі, смугастому тілі, мозочку.

Таблиця 4.7 – Кореляційні зв'язки між показниками ГХ експресії аміаку, морфологічними параметрами ГНБК та прижиттєвими лабораторними показниками крові при ПЕ G0 та компенсованому ЦП (коефіцієнт Спірмена, r)

	$A_{\text{УООЩ}}$	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кора ВПГМ									
Rbc	-0.10	-0.09	+0.11	-0.09	-0.10	-0.06	-0.10	+0.08	-0.07
Hb	-0.09	-0.10	+0.12	-0.10	-0.11	-0.04	-0.07	+0.03	-0.11
Wbc	-0.12	-0.14	+0.05	-0.07	-0.13	-0.07	-0.05	+0.08	-0.15
Plt	-0.09	-0.10	+0.04	-0.09	-0.08	-0.09	-0.08	+0.09	-0.15
PI	-0.15	-0.05	+0.10	-0.10	-0.12	-0.11	-0.14	+0.15	-0.07
P	-0.14	-0.08	+0.07	-0.07	-0.10	-0.09	-0.03	+0.09	-0.09
Alb	-0.20	-0.19	+0.14	-0.18	-0.22	-0.12	-0.20	+0.16	-0.17
Bil	+0.43	+0.34	-0.45	+0.48	+0.39	+0.23	+0.25	-0.23	+0.35
AST	+0.33	+0.25	-0.32	+0.35	+0.36	+0.20	+0.21	-0.18	+0.27
ALT	+0.30	+0.21	-0.14	+0.19	+0.23	+0.18	+0.18	-0.16	+0.23
Cre	+0.24	+0.25	-0.18	+0.19	+0.16	+0.17	+0.19	-0.18	+0.19
Ur	+0.15	+0.10	-0.05	+0.04	+0.09	+0.03	+0.05	-0.03	+0.14
Na⁺	+0.02	+0.04	-0.03	+0.07	+0.05	+0.05	+0.03	-0.05	+0.04
K⁺	+0.04	+0.06	-0.02	+0.05	+0.08	+0.02	+0.04	-0.06	+0.07
ШОЕ	+0.19	+0.15	-0.11	+0.14	+0.20	+0.10	+0.15	-0.16	+0.12
ЛП	+0.21	+0.20	-0.12	+0.19	+0.21	+0.12	+0.14	-0.18	+0.23
Біла речовина ВПГМ									
	$A_{\text{УООЩ}}$	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.09	-0.08	+0.10	-0.05	-0.06	-0.05	-	-	-0.06
Hb	-0.10	-0.07	+0.13	-0.10	-0.08	-0.03	-	-	-0.10

Продовження таблиці 4.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Wbc	-0.11	-0.11	+0.03	-0.07	-0.11	-0.02	-	-	-0.12
Plt	-0.07	-0.12	+0.02	-0.09	-0.09	-0.03	-	-	-0.11
PI	-0.13	-0.07	+0.11	-0.10	-0.06	-0.17	-	-	-0.06
P	-0.12	-0.09	+0.08	-0.07	-0.12	-0.05	-	-	-0.05
Alb	-0.14	-0.13	+0.16	-0.18	-0.19	-0.14	-	-	-0.14
Bil	+0.32	+0.29	-0.37	+0.40	+0.36	+0.20	-	-	+0.31
AST	+0.27	+0.28	-0.34	+0.37	+0.35	+0.25	-	-	+0.28
ALT	+0.23	+0.22	-0.13	+0.16	+0.15	+0.16	-	-	+0.22
Cre	+0.19	+0.12	-0.11	+0.14	+0.10	+0.15	-	-	+0.18
Ur	+0.11	+0.12	-0.04	+0.04	+0.09	+0.06	-	-	+0.15
Na⁺	+0.02	+0.04	-0.03	+0.07	+0.05	+0.05	-	-	+0.04
K⁺	+0.04	+0.06	-0.02	+0.05	+0.08	+0.02	-	-	+0.07
ШОЕ	+0.18	+0.11	-0.10	+0.12	+0.17	+0.08	-	-	+0.16
LII	+0.24	+0.22	-0.24	+0.18	+0.19	+0.11	-	-	+0.21
Гіпокамп									
	Ауоош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.11	-0.10	+0.12	-0.05	-0.12	-0.06	-0.10	+0.09	-0.11
Hb	-0.08	-0.11	+0.15	-0.11	-0.13	-0.09	-0.05	+0.06	-0.15
Wbc	-0.11	-0.15	+0.03	-0.08	-0.12	-0.03	-0.04	+0.07	-0.18
Plt	-0.08	-0.12	+0.06	-0.06	-0.06	-0.11	-0.11	+0.05	-0.14
PI	-0.10	-0.07	+0.11	-0.14	-0.19	-0.15	-0.12	+0.16	-0.10
P	-0.18	-0.15	+0.08	-0.08	-0.15	-0.08	-0.04	+0.10	-0.09
Alb	-0.12	-0.13	+0.15	-0.19	-0.29	-0.11	-0.21	+0.19	-0.19
Bil	+0.34	+0.25	-0.45	+0.49	+0.35	+0.25	+0.26	-0.29	+0.37
AST	+0.26	+0.24	-0.30	+0.29	+0.25	+0.19	+0.25	-0.15	+0.24
ALT	+0.18	+0.16	-0.16	+0.18	+0.26	+0.18	+0.14	-0.17	+0.20
Cre	+0.15	+0.18	-0.17	+0.20	+0.18	+0.14	+0.13	-0.19	+0.20
Ur	+0.11	0.14	-0.09	+0.05	+0.09	+0.02	+0.09	-0.03	+0.11
Na⁺	+0.04	+0.02	-0.05	+0.03	+0.02	+0.04	+0.04	-0.02	+0.08
K⁺	+0.06	+0.07	-0.08	+0.07	+0.05	+0.07	+0.06	-0.05	+0.05
ШОЕ	+0.15	+0.19	-0.13	+0.11	+0.21	+0.14	+0.18	-0.18	+0.20
LII	+0.22	+0.18	-0.11	+0.16	+0.22	+0.19	+0.16	-0.20	+0.23
Таламус									
	Ауоош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.06	-0.08	+0.14	-0.08	-0.10	-0.04	-0.11	+0.10	-0.14
Hb	-0.09	-0.11	+0.13	-0.12	-0.12	-0.06	-0.06	+0.07	-0.12
Wbc	-0.14	-0.16	+0.09	-0.10	-0.10	-0.08	-0.12	+0.08	-0.19
Plt	-0.12	-0.14	+0.05	-0.08	-0.05	-0.13	-0.10	+0.04	-0.15
PI	-0.15	-0.05	+0.12	-0.12	-0.20	-0.17	-0.11	+0.14	-0.12
P	-0.20	-0.16	+0.09	-0.10	-0.16	-0.09	-0.06	+0.12	-0.10
Alb	-0.25	-0.20	+0.12	-0.17	-0.26	-0.20	-0.25	+0.18	-0.15
Bil	+0.45	+0.48	-0.52	+0.46	+0.42	+0.30	+0.23	-0.25	+0.36
AST	+0.27	+0.32	-0.34	+0.31	+0.30	+0.28	+0.27	-0.14	+0.26
ALT	+0.26	+0.30	-0.11	+0.21	+0.20	+0.14	+0.15	-0.13	+0.23
Cre	+0.24	+0.26	-0.23	+0.25	+0.21	+0.28	+0.29	-0.18	+0.16

Продовження таблиці 4.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ur	+0.12	+0.14	-0.10	+0.06	+0.10	+0.09	+0.10	-0.05	+0.10
Na ⁺	+0.06	+0.07	-0.08	+0.06	+0.07	+0.09	+0.08	-0.07	+0.09
K ⁺	+0.07	+0.03	-0.04	+0.03	+0.04	+0.03	+0.05	-0.03	+0.05
ШОЕ	+0.25	+0.21	-0.15	+0.15	+0.26	+0.12	+0.16	-0.15	+0.22
LII	+0.27	+0.28	-0.26	+0.19	+0.24	+0.30	+0.19	-0.24	+0.27
Смугасте тіло									
	A _γ оош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.07	-0.06	+0.12	-0.07	-0.11	-0.08	-0.12	+0.10	-0.12
Hb	-0.10	-0.11	+0.14	-0.11	-0.11	-0.08	-0.07	+0.07	-0.14
Wbc	-0.14	-0.15	+0.10	-0.08	-0.13	-0.06	-0.09	+0.08	-0.20
Plt	-0.10	-0.11	+0.07	-0.07	-0.08	-0.17	-0.11	+0.04	-0.17
PI	-0.14	-0.18	+0.11	-0.16	-0.20	-0.19	-0.18	+0.14	-0.19
P	-0.21	-0.19	+0.12	-0.18	-0.18	-0.11	-0.16	+0.12	-0.15
Alb	-0.21	-0.15	+0.13	-0.19	-0.24	-0.20	-0.20	+0.18	-0.20
Bil	+0.39	+0.35	-0.44	+0.48	+0.47	+0.27	+0.21	-0.25	+0.34
AST	+0.29	+0.28	-0.33	+0.35	+0.36	+0.22	+0.26	-0.14	+0.29
ALT	+0.21	+0.25	-0.17	+0.20	+0.24	+0.18	+0.20	-0.13	+0.25
Cre	+0.21	+0.22	-0.25	+0.28	+0.29	+0.29	+0.15	-0.17	+0.20
Ur	+0.12	+0.16	-0.11	+0.09	+0.11	+0.10	+0.09	-0.05	+0.15
Na ⁺	+0.06	+0.05	-0.05	+0.08	+0.05	+0.02	+0.06	-0.02	+0.05
K ⁺	+0.04	+0.08	-0.02	+0.05	+0.03	+0.02	+0.05	-0.08	+0.02
ШОЕ	+0.18	+0.16	-0.17	+0.18	+0.24	+0.15	+0.19	-0.15	+0.20
LII	+0.23	+0.21	-0.19	+0.22	+0.27	+0.29	+0.20	-0.14	+0.25
Мозочок									
	A _γ оош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.11	-0.12	+0.10	-0.06	-0.10	-0.07	-0.10	+0.09	-0.14
Hb	-0.10	-0.13	+0.12	-0.12	-0.09	-0.04	-0.08	+0.08	-0.11
Wbc	-0.14	-0.18	+0.14	-0.09	-0.11	-0.05	-0.07	+0.07	-0.23
Plt	-0.15	-0.21	+0.06	-0.06	-0.04	-0.13	-0.10	+0.06	-0.19
PI	-0.16	-0.20	+0.15	-0.14	-0.19	-0.15	-0.17	+0.10	-0.15
P	-0.26	-0.24	+0.10	-0.16	-0.21	-0.17	-0.19	+0.14	-0.20
Alb	-0.23	-0.20	+0.18	-0.20	-0.21	-0.16	-0.15	+0.17	-0.24
Bil	+0.37	+0.42	-0.48	+0.45	+0.41	+0.20	+0.20	-0.23	0.35
AST	+0.23	+0.27	-0.37	+0.34	+0.32	+0.21	+0.22	-0.18	+0.30
ALT	+0.25	+0.26	-0.16	+0.21	+0.22	+0.16	+0.19	-0.15	+0.28
Cre	+0.27	+0.25	-0.27	+0.29	+0.28	+0.18	+0.16	-0.18	+0.20
Ur	+0.11	+0.12	-0.10	+0.06	+0.05	+0.09	+0.05	-0.06	+0.19
Na ⁺	+0.03	+0.07	-0.07	+0.07	+0.06	+0.06	+0.07	-0.05	+0.06
K ⁺	+0.06	+0.05	-0.02	+0.03	+0.02	+0.03	+0.04	-0.05	+0.02
ШОЕ	+0.27	+0.20	-0.19	+0.20	+0.22	+0.18	+0.20	-0.11	+0.21
LII	+0.24	+0.25	-0.20	+0.23	+0.25	+0.26	+0.19	-0.18	+0.23

Примітка. Жирним виділена достовірна ($p < 0.05$) кореляція між показниками в межах одного відділу ГМ. A_γоош – ГХ експресія амиаку; CD68 – S rel.% CD68⁺ клітин; Casp3 – % Casp3⁺ нейронів.

У хворих з легкою ПЕ G1-2 на тлі субкомпенсації ЦП відзначено збільшення кількості лабораторних показників печінкової дисфункції (підвищення рівнів загального білірубину, активності АСТ, АЛТ, в меншій мірі – зниження рівнів загального білку, альбуміну, протромбінового індексу), поява ознак ниркової дисфункції (збільшення креатиніну плазми), зміни імунного статусу (лейкопенія, підвищення лейкоцитарного індексу інтоксикації, підвищення ШОЕ), майже усі з яких були достовірно асоційовані зі збільшенням ГХ експресії аміаку, кількості AA2, амілоїдних тілець та змінами ІГХ експресії астроцитарних GFAP, GS, AQP4, нейрональних Casp3 і Synaptophysin, мікрогліального CD68 у відділах ГМ з тенденцією до більшої кількості достовірних взаємозв'язків у найбільш «аміак-чутливих» таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі ВПГМ (табл. 4.8).

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 (підгрупа «ЦПс»):

➤ Прямий помірний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

В корі ВПГМ: між $A_{уооц}$, GS, AQP4/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ; між AA2/ Bil, AST, ALT, Cre; між GFAP/ Wbc, Alb; між CD68/ Bil, ALT, Cre, ШОЕ; між Casp3/ Bil, AST, Cre, ШОЕ; між AT/ Bil, AST, ALT.

В білій речовині: між $A_{уооц}$, AQP4/ Bil, AST, ЛІІ; між GFAP/ Wbc, Alb; між GS, AT/ Bil, AST; між CD68/ ШОЕ, ЛІІ; між AA2/ Bil;

В гіпокамні: між $A_{уооц}$, AA2/ Bil; між GFAP/ Wbc, Alb; між GS/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AQP4/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між CD68/ Bil, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між Casp3/ Bil, AST, Cre, ШОЕ; між AT/ Bil, AST, ALT, ЛІІ.

В таламусі: між $A_{уооц}$, AA2/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AQP4, CD68, Casp3/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ; між GS/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ; між AT/ Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Plt, P, Alb; між Syn/ Alb.

В смугастому тілі: між $A_{уооц}$, AA2/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GS, AQP4, CD68, Casp3/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ; між AT/ Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Plt, P, Alb; між Syn/ Alb

В мозочку: між A_{уооц}, AA2, GS, AQP4/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між Casp3/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ; між AT/ Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛІІ; між CD68/ Bil, AST, ALT, ШОЕ; між Syn/ Hb, Wbc, Plt, Alb; між GFAP/ P, Alb

➤ Зворотний помірний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

В корі: між GFAP/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AQP4, CD68, Casp3/ Wbc; між GS, Casp3/ PI; між Syn/ Bil, AST; між A_{уооц}/ Alb.

В білій речовині: між GFAP/ Bil, AST, ШОЕ, ЛІІ; між A_{уооц}, CD68/ Wbc; між GS/ Alb.

В гіпокампі: між A_{уооц}, AA2, AQP4, CD68/ Wbc; між GFAP/ Bil, AST, ШОЕ, ЛІІ; між Casp3/ Wbc, PI; між GS/ PI; між Syn/ Bil, AST.

В таламусі: між A_{уооц}, AA2, Casp3/ P, Alb; між GFAP/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між Syn/ Bil, AST, Cre, ШОЕ; між GS, AQP4/ Wbc, PI, P, Alb; між CD68/ Wbc, PI.

В смугастому тилі: між A_{уооц}/PI, Alb; між GFAP/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GS/ Wbc, Plt, P, Alb; між AA2/ Alb; між Syn/ Bil, AST, ШОЕ; між AQP4/ Wbc, PI, P; між CD68/ PI, P; між Casp3/ Rbc, Wbc.

В мозочку: між A_{уооц}/Wbc, PI, Alb; між GFAP/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GS/ Hb, PI, P, Alb; між AQP4/ Hb, Wbc, P, Alb; між CD68/ Wbc, PI, P, Alb; Casp3/ Wbc, Plt, Alb; між Syn/ Bil, AST, ШОЕ; між AA2/ Alb.

Таблиця 4.8 – Кореляційні зв'язки між експресією аміаку, ПГ і ІГХ параметрами ГНБК та прижиттєвими показниками крові померлих хворих з ПЕ Grade 1-2 та субкомпенсований ЦП (r)

	A _{уооц}	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кора ВПГМ									
Rbc	-0.26	-0.21	+0.30	-0.31	-0.21	-0.27	-0.25	+0.18	-0.20
Hb	-0.28	-0.25	+0.28	-0.27	-0.30	-0.21	-0.26	+0.23	-0.19
Wbc	-0.25	-0.23	+0.34	-0.31	-0.41	-0.35	-0.32	+0.28	-0.25
Plt	-0.24	-0.21	+0.29	-0.29	-0.26	-0.28	-0.25	+0.23	-0.26
PI	-0.20	-0.22	+0.29	-0.32	-0.29	-0.30	-0.34	+0.29	-0.25
P	-0.26	-0.19	+0.26	-0.30	-0.30	-0.29	-0.29	+0.28	-0.20
Alb	-0.35	-0.21	+0.32	-0.28	-0.26	-0.28	-0.27	+0.23	-0.22
Bil	+0.52	+0.57	-0.51	+0.48	+0.39	+0.42	+0.36	-0.34	+0.46
AST	+0.35	+0.37	-0.47	+0.35	+0.36	+0.34	+0.32	-0.31	+0.33
ALT	+0.36	+0.32	-0.34	+0.35	+0.38	+0.32	+0.29	-0.23	+0.36

Продовження таблиці 4.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cre	+0.32	+0.34	-0.36	+0.39	+0.32	+0.41	+0.31	-0.29	+0.29
Ur	+0.27	+0.18	-0.20	+0.23	+0.25	+0.27	+0.29	-0.24	+0.20
Na⁺	+0.15	+0.12	-0.20	+0.21	+0.15	+0.16	+0.14	-0.15	+0.13
K⁺	+0.20	+0.21	-0.15	+0.20	+0.21	+0.18	+0.13	-0.18	+0.15
ШОЕ	+0.31	+0.25	-0.43	+0.35	+0.37	+0.39	+0.32	-0.29	+0.29
ЛІІ	+0.35	+0.28	-0.37	+0.19	+0.21	+0.26	+0.27	-0.25	+0.30
Біла речовина ВПГМ									
	Ауош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.21	-0.20	+0.27	-0.24	-0.21	-0.25	-	-	-0.16
Hb	-0.11	-0.19	+0.23	-0.20	-0.18	-0.21	-	-	-0.19
Wbc	-0.32	-0.30	+0.37	-0.21	-0.27	-0.32	-	-	-0.28
Plt	-0.19	-0.20	+0.15	-0.19	-0.24	-0.23	-	-	-0.11
PI	-0.22	-0.18	+0.23	-0.20	-0.23	-0.20	-	-	-0.15
P	-0.22	-0.17	+0.25	-0.23	-0.20	-0.19	-	-	-0.21
Alb	-0.24	-0.29	+0.36	-0.31	-0.25	-0.24	-	-	-0.27
Bil	+0.35	+0.32	-0.42	+0.36	+0.32	+0.30	-	-	+0.35
AST	+0.33	+0.28	-0.37	+0.31	+0.33	+0.28	-	-	+0.31
ALT	+0.26	+0.26	-0.24	+0.28	+0.25	+0.26	-	-	+0.28
Cre	+0.25	+0.20	-0.23	+0.27	+0.28	+0.15	-	-	+0.24
Ur	+0.15	+0.19	-0.21	+0.20	+0.18	+0.19	-	-	+0.18
Na⁺	+0.12	+0.11	-0.15	+0.11	+0.17	+0.14	-	-	+0.15
K⁺	+0.10	+0.18	-0.17	+0.16	+0.14	+0.19	-	-	+0.18
ШОЕ	+0.28	+0.25	-0.35	+0.29	+0.28	+0.36	-	-	+0.19
LII	+0.32	+0.21	-0.36	+0.30	+0.32	+0.34	-	-	+0.29
Гіпокамп									
	Ауош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.25	-0.26	+0.19	-0.25	-0.22	-0.16	-0.21	+0.19	-0.23
Hb	-0.12	-0.19	+0.26	-0.21	-0.23	-0.19	-0.22	+0.16	-0.20
Wbc	-0.33	-0.35	+0.36	-0.20	-0.27	-0.35	-0.28	+0.27	-0.30
Plt	-0.14	-0.17	+0.23	-0.16	-0.20	-0.27	-0.19	+0.15	-0.28
PI	-0.14	-0.18	+0.17	-0.27	-0.22	-0.30	-0.22	+0.26	-0.27
P	-0.26	-0.20	+0.10	-0.23	-0.25	-0.26	-0.24	+0.20	-0.24
Alb	-0.27	-0.23	+0.32	-0.31	-0.34	-0.34	-0.29	+0.32	-0.29
Bil	+0.36	+0.31	-0.49	+0.50	+0.38	+0.35	+0.30	-0.34	+0.40
AST	+0.25	+0.26	-0.36	+0.33	+0.32	+0.31	+0.28	-0.30	+0.36
ALT	+0.21	+0.25	-0.26	+0.30	+0.26	+0.31	+0.20	-0.27	+0.32
Cre	+0.25	+0.24	-0.22	+0.21	+0.19	+0.28	+0.16	-0.29	+0.25
Ur	0.22	+0.20	-0.19	+0.23	+0.24	+0.25	+0.21	-0.15	+0.28
Na⁺	+0.14	+0.16	-0.17	+0.20	+0.14	+0.13	+0.12	-0.16	+0.18
K⁺	+0.15	+0.19	-0.15	+0.18	+0.19	+0.16	+0.19	-0.12	+0.14
ШОЕ	+0.26	+0.29	-0.33	+0.35	+0.31	+0.34	+0.28	-0.35	+0.30
LII	+0.27	+0.30	-0.31	+0.34	+0.32	+0.35	+0.30	-0.27	+0.33
Таламус									
	Ауош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT

Продовження таблиці 4.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rbc	-0.28	-0.25	+0.22	-0.24	-0.25	-0.24	-0.25	+0.25	-0.26
Hb	-0.25	-0.20	+0.27	-0.22	-0.27	-0.27	-0.24	+0.30	-0.20
Wbc	-0.24	-0.27	+0.25	-0.34	-0.35	-0.33	-0.26	+0.25	-0.29
Plt	-0.27	-0.26	+0.32	-0.26	-0.29	-0.25	-0.22	+0.27	-0.23
PI	-0.25	-0.24	+0.38	-0.35	-0.41	-0.36	-0.29	+0.28	-0.21
P	-0.34	-0.43	+0.33	-0.39	-0.35	-0.27	-0.35	+0.26	-0.26
Alb	-0.38	-0.34	+0.33	-0.35	-0.34	-0.31	-0.38	+0.33	-0.30
Bil	+0.56	+0.62	-0.60	+0.62	+0.71	+0.54	+0.46	-0.41	+0.56
AST	+0.48	+0.52	-0.58	+0.56	+0.43	+0.35	+0.34	-0.48	+0.43
ALT	+0.45	+0.48	-0.45	+0.43	+0.42	+0.37	+0.33	-0.31	+0.41
Cre	+0.42	+0.39	-0.38	+0.41	+0.36	+0.38	+0.31	-0.32	+0.26
Ur	+0.28	+0.24	-0.24	+0.28	+0.28	+0.24	+0.23	-0.26	+0.23
Na⁺	+0.16	+0.16	-0.18	+0.19	+0.18	+0.14	+0.18	-0.14	+0.10
K⁺	+0.21	+0.19	-0.14	+0.15	+0.20	+0.11	+0.12	-0.16	+0.12
ШОЕ	+0.55	+0.41	-0.46	+0.40	+0.53	+0.41	+0.47	-0.35	+0.32
LII	+0.32	+0.35	-0.36	+0.26	+0.28	+0.25	+0.24	-0.23	+0.34
Смугасте тіло									
	A_α00ш	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.25	-0.21	+0.25	-0.27	-0.22	-0.27	-0.33	+0.30	-0.20
Hb	-0.26	-0.24	+0.27	-0.30	-0.24	-0.25	-0.24	+0.27	-0.22
Wbc	-0.26	-0.29	+0.21	-0.38	-0.38	-0.24	-0.36	+0.23	-0.26
Plt	-0.23	-0.28	+0.32	-0.36	-0.25	-0.29	-0.30	+0.25	-0.25
PI	-0.32	-0.30	+0.22	-0.25	-0.36	-0.32	-0.25	+0.29	-0.20
P	-0.30	-0.29	+0.31	-0.35	-0.38	-0.35	-0.30	+0.23	-0.28
Alb	-0.34	-0.36	+0.37	-0.33	-0.30	-0.26	-0.25	+0.34	-0.29
Bil	+0.53	+0.60	-0.62	+0.56	+0.66	+0.43	+0.37	-0.36	+0.49
AST	+0.46	+0.46	-0.63	+0.50	+0.39	+0.41	+0.32	-0.32	+0.40
ALT	+0.41	+0.38	-0.42	+0.42	+0.47	+0.36	+0.35	-0.29	+0.42
Cre	+0.38	+0.37	-0.37	+0.47	+0.31	+0.33	+0.38	-0.27	+0.24
Ur	+0.23	+0.26	-0.22	+0.26	+0.26	+0.25	+0.27	-0.26	+0.25
Na⁺	+0.16	+0.17	-0.15	+0.18	+0.18	+0.17	+0.18	-0.19	+0.15
K⁺	+0.21	+0.23	-0.16	+0.15	+0.14	+0.12	+0.14	-0.13	+0.12
ШОЕ	+0.48	+0.36	-0.48	+0.37	+0.45	+0.43	+0.46	-0.37	+0.34
LII	+0.34	+0.38	-0.34	+0.25	+0.23	+0.29	+0.22	-0.24	+0.32
Мозочок									
	A_α00ш	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.29	-0.25	+0.27	-0.29	-0.30	-0.25	-0.30	+0.25	-0.22
Hb	-0.27	-0.23	+0.26	-0.33	-0.35	-0.29	-0.27	+0.32	-0.24
Wbc	-0.35	-0.27	+0.24	-0.26	-0.42	-0.33	-0.41	+0.39	-0.20
Plt	-0.30	-0.21	+0.27	-0.28	-0.27	-0.26	-0.33	+0.31	-0.28
PI	-0.34	-0.28	+0.32	-0.35	-0.31	-0.36	-0.25	+0.27	-0.30
P	-0.30	-0.26	+0.25	-0.32	-0.33	-0.32	-0.29	+0.25	-0.27
Alb	-0.37	-0.34	+0.52	-0.43	-0.36	-0.41	-0.39	+0.35	-0.30
Bil	+0.55	+0.52	-0.59	+0.52	+0.50	+0.49	+0.41	-0.40	+0.34
AST	+0.44	+0.41	-0.55	+0.46	+0.44	+0.35	+0.38	-0.36	+0.38
ALT	+0.36	+0.32	-0.46	+0.38	+0.42	+0.31	+0.35	-0.23	+0.32

Продовження таблиці 4.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cre	+0.34	+0.34	-0.32	+0.35	+0.33	+0.28	+0.31	-0.21	+0.29
Ur	+0.25	+0.23	-0.25	+0.22	+0.25	+0.28	+0.26	-0.24	+0.23
Na⁺	+0.10	+0.15	-0.20	+0.17	+0.15	+0.12	+0.11	-0.12	+0.10
K⁺	+0.22	+0.18	-0.14	+0.16	+0.18	+0.16	+0.10	-0.16	+0.12
ШОЕ	+0.43	+0.37	-0.44	+0.40	+0.36	+0.38	+0.43	-0.32	+0.35
ЛП	+0.35	+0.38	-0.36	+0.37	+0.35	+0.29	+0.28	-0.25	+0.37

Примітка. Жирним виділена достовірна ($p < 0.05$) кореляція між показниками в межах одного відділу ГМ. А_{УООЩ} – ГХ експресія аміаку; CD68 – S rel.% CD68⁺ клітин; Casp3 – % Casp3⁺ нейронів.

У хворих з ПЕ G3-4 на тлі декомпенсації ЦП усі показники печінкової (підвищення рівнів загального білірубину, активності АСТ, АЛТ, в меншій мірі – зниження загального білку, альбуміну, протромбінового індексу), а також ниркової (збільшення креатиніну і в одиничних співставленнях – сечовини плазми) дисфункції/недостатності, показники зміни імунного статусу (лейкоцитоз, підвищення ЛП, ШОЕ), в окремих співставленнях – показники анемії (рівень еритроцитів та гемоглобіну), тромбоцитопенії, гіпонатріємії, гіпокаліємії асоційовані зі збільшенням експресії аміаку, кількості AA2, АТ та змінами експресії GFAP, GS, AQP4, Casp3 і Synaptophysin, CD68 у ГМ з тенденцією до більшої кількості достовірних взаємозв'язків у найбільш «аміак-чутливих» таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі ВПГМ (табл. 4.9).

У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 (підгрупа «ЦПд»):

➤ Прямий помірний і сильний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

В корі: між А_{УООЩ}, AA2, AQP4, CD68, Casp3/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛП; між GS/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, Ur, ШОЕ, ЛП; між АТ/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛП; між GFAP/ Rbc, Plt, Alb, Na⁺, K⁺; Syn/ Rbc, Hb, Alb.

В білій речовині: між А_{УООЩ}/ Bil, AST, Cre, ШОЕ, ЛП; між AA2/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛП; між AQP4/ Wbc, Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛП; між CD68/ Wbc, Bil, AST, ШОЕ, ЛП; між АТ/ Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛП; між GFAP/ P, Alb, Na⁺, K⁺; між GS/ Cre, ШОЕ, ЛП.

В гіпокампі: між А_{УООЩ}, AA2/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛП; між GS, AQP4, Casp3/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛП; між CD68/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ЛП; між АТ/ Bil, AST, Cre, ШОЕ, ЛП; між GFAP/ Alb.

В таламусі: між A_{уооц}, AA2, AQP4, CD68, Casp3/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GS/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між AT/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Rbc, Plt, PI, Alb, Na⁺, K⁺; між Syn/ P, Alb.

В смугастому тілі: між A_{уооц}, GS, AQP4, CD68, Casp3/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AA2/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між AT/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Plt, P, Na⁺, K⁺.

В мозочку: між A_{уооц}, AA2, AQP4, CD68/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між GS/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між Casp3/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AT/ Bil, AST, ALT, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Rbc, Na⁺, K⁺.

➤ Зворотний помірний і сильний зв'язок виявлено ($p < 0.05$):

В корі: між GFAP/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між Syn/ Wbc, Bil, AST, ALT, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між Casp3/ Plt, PI, Alb, Na⁺, K⁺; між A_{уооц}/ P, Alb, K⁺; між CD68/ PI, Alb, Na⁺, K⁺; між GS/ Hb, Plt, Alb; між AQP4/ PI, Alb, K⁺; між AA2/ Alb, K⁺.

В білій речовині: між GFAP/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між A_{уооц}/ Alb; між AQP4/ Alb.

В гіпокампі: між Syn/ Wbc, Bil, AST, ALT, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між GFAP/ Wbc, Bil, AST, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між A_{уооц}/ PI, P, Alb; між AQP4/ PI, Alb, K⁺; між CD68/ PI, Alb; між GS/ Alb; між Casp3/ P.

В таламусі: між GFAP/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, Ur, ШОЕ, ЛІІ; між Syn/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між A_{уооц}, Casp3/ P, Alb, Na⁺, K⁺; між AA2, CD68/ Alb, Na⁺, K⁺; між GS/ Hb, Plt, K⁺; між AQP4/ P, Alb, K⁺.

В смугастому тілі: між GFAP/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між Syn/ Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між A_{уооц}/ PI, P, Alb, Na⁺, K⁺; між GS / Plt, PI, Alb; між CD68 / Alb, Na⁺, K⁺; між AA2 / Alb, K⁺; між AQP4 / Na⁺, K⁺; Casp3 / PI, Alb; AT/ PI.

В мозочку: між A_{уооц}, AA2/ PI, Alb, K⁺; між GFAP, Syn/ Wbc, Bil, AST, ALT, Cre, ШОЕ, ЛІІ; між AQP4, CD68/ Alb, Na⁺, K⁺; між Casp3/ PI, Alb; між AT/ PI.

Таблиця 4.9 – Кореляційні зв'язки між експресією аміаку, ПГ і ІГХ параметрами ГНВК та прижиттєвими показниками крові померлих хворих з ПЕ Grade 3-4 та декомпенсований ЦП (r)

	А _{воощ}	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кора ВПГМ									
Rbc	-0.30	-0.28	+0.32	-0.30	-0.29	-0.29	-0.28	+0.31	-0.27
Hb	-0.27	-0.29	+0.28	-0.31	-0.26	-0.24	-0.30	+0.33	-0.25
Wbc	+0.32	+0.31	-0.38	+0.34	+0.40	+0.32	+0.41	-0.32	+0.23
Plt	-0.25	-0.27	+0.30	-0.34	-0.30	-0.29	-0.32	+0.25	-0.26
PI	-0.30	-0.24	+0.29	-0.31	-0.41	-0.32	-0.31	+0.26	-0.29
P	-0.32	-0.28	+0.29	-0.30	-0.27	-0.29	-0.31	+0.30	-0.26
Alb	-0.43	-0.45	+0.49	-0.37	-0.41	-0.38	-0.34	+0.39	-0.29
Bil	+0.83	+0.85	-0.74	+0.55	+0.47	+0.49	+0.45	-0.48	+0.43
AST	+0.73	+0.79	-0.63	+0.42	+0.45	+0.35	+0.38	-0.40	+0.35
ALT	+0.53	+0.48	-0.42	+0.35	+0.34	+0.39	+0.38	-0.41	+0.32
Cre	+0.42	+0.40	-0.36	+0.34	+0.37	+0.41	+0.49	-0.28	+0.38
Ur	+0.29	+0.27	-0.32	+0.35	+0.28	+0.30	+0.26	-0.33	+0.29
Na⁺	-0.26	-0.23	+0.37	-0.26	-0.31	-0.35	-0.38	+0.25	-0.27
K⁺	-0.33	-0.35	+0.32	-0.25	-0.37	-0.34	-0.33	+0.30	-0.24
ШОЕ	+0.67	+0.48	-0.40	+0.35	+0.38	+0.32	+0.37	-0.35	+0.32
ЛП	+0.73	+0.72	-0.65	+0.45	+0.41	+0.48	+0.50	-0.52	+0.32
Біла речовина ВПГМ									
	А _{воощ}	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.20	-0.23	+0.25	-0.23	-0.25	-0.23	-	-	-0.24
Hb	-0.23	-0.22	+0.22	-0.28	-0.29	-0.25	-	-	-0.28
Wbc	+0.27	+0.28	-0.36	+0.21	+0.32	+0.34	-	-	+0.30
Plt	-0.24	-0.26	+0.27	-0.28	-0.25	-0.28	-	-	-0.27
PI	-0.24	-0.21	+0.20	-0.24	-0.26	-0.29	-	-	-0.23
P	-0.30	-0.26	+0.35	-0.27	-0.27	-0.30	-	-	-0.28
Alb	-0.32	-0.27	+0.42	-0.25	-0.35	-0.31	-	-	-0.31
Bil	+0.41	+0.46	-0.53	+0.30	+0.43	+0.38	-	-	+0.36
AST	+0.34*	+0.32	-0.45	+0.29	+0.35	+0.32	-	-	+0.33
ALT	+0.29	+0.31	-0.32	+0.26	+0.31	+0.29	-	-	+0.35
Cre	+0.32	+0.33	-0.35	+0.32	+0.28	+0.25	-	-	+0.28
Ur	+0.23	+0.25	-0.28	+0.25	+0.24	+0.28	-	-	+0.29
Na⁺	-0.19	-0.23	+0.31	-0.22	-0.24	-0.20	-	-	-0.24
K⁺	-0.23	-0.25	+0.34	-0.26	-0.27	-0.22	-	-	-0.27
ШОЕ	+0.41	+0.35	-0.46	+0.32	+0.34	+0.35	-	-	+0.38
ЛП	+0.40	+0.45	-0.59	+0.36	+0.40	+0.39	-	-	+0.42
Гіпокамп									
	А _{воощ}	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.21	-0.20	0.25	-0.29	-0.23	-0.23	-0.25	+0.28	-0.21
Hb	-0.25	-0.26	0.27	-0.28	-0.28	-0.25	-0.22	+0.30	-0.26
Wbc	+0.23	+0.25	-0.34	+0.32	+0.36	+0.40	+0.35	-0.33	+0.21

Продовження таблиці 4.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Plt	-0.22	-0.24	+0.29	-0.25	-0.27	-0.23	-0.30	+0.27	-0.28
PI	-0.30	-0.23	+0.25	-0.29	-0.40	-0.32	-0.29	+0.23	-0.25
P	-0.33	-0.28	+0.31	-0.28	-0.22	-0.27	-0.32	+0.28	-0.22
Alb	-0.35	-0.27	+0.34	-0.43	-0.33	-0.36	-0.28	+0.20	-0.26
Bil	+0.51	+0.54	-0.42	+0.52	+0.41	+0.41	+0.39	-0.35	+0.32
AST	+0.32	+0.37	-0.35	+0.45	+0.43	+0.48	+0.34	-0.39	+0.38
ALT	+0.31	+0.28	-0.30	+0.31	+0.37	+0.33	+0.35	-0.32	+0.29
Cre	+0.41	+0.40	-0.35	+0.36	+0.37	+0.35	+0.46	-0.34	+0.35
Ur	+0.24	+0.27	-0.23	+0.28	+0.28	+0.26	+0.29	-0.28	+0.26
Na⁺	-0.22	-0.25	+0.23	-0.28	-0.29	-0.30	-0.24	+0.26	-0.23
K⁺	-0.27	-0.25	+0.26	-0.21	-0.33	-0.28	-0.26	+0.29	-0.28
ШОЕ	+0.35	+0.31	-0.40	+0.39	+0.36	+0.30	+0.33	-0.31	+0.35
LII	+0.38	+0.36	-0.46	+0.41	+0.45	+0.38	+0.35	-0.40	+0.37
Таламус									
	Авоош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.29	-0.26	+0.35	-0.28	-0.26	-0.23	-0.30	+0.27	-0.23
Hb	-0.27	-0.25	+0.27	-0.38	-0.23	-0.27	-0.27	+0.29	-0.26
Wbc	+0.36	+0.38	-0.40	+0.37	+0.45	+0.34	+0.40	-0.35	+0.27
Plt	-0.25	-0.27	+0.36	-0.32	-0.27	-0.25	-0.30	+0.28	-0.23
PI	-0.27	-0.29	+0.32	-0.30	-0.30	-0.30	-0.34	+0.29	-0.26
P	-0.31	-0.26	+0.27	-0.24	-0.33	-0.25	-0.30	+0.33	-0.22
Alb	-0.37	-0.32	+0.34	-0.30	-0.43	-0.37	-0.41	+0.34	-0.30
Bil	+0.79	+0.81	-0.81	+0.63	+0.67	+0.57	+0.48	-0.52	+0.50
AST	+0.75	+0.79	-0.68	+0.61	+0.52	+0.51	+0.50	-0.57	+0.45
ALT	+0.68	+0.72	-0.50	+0.55	+0.50	+0.48	+0.42	-0.48	+0.37
Cre	+0.51	+0.52	-0.59	+0.51	+0.42	+0.48	+0.37	-0.34	+0.32
Ur	+0.30	+0.31	-0.36	+0.33	+0.25	+0.27	+0.29	-0.28	+0.26
Na⁺	-0.32	-0.31	+0.34	-0.28	-0.27	-0.33	-0.36	+0.27	-0.28
K⁺	-0.38	-0.35	+0.31	-0.34	-0.33	-0.31	-0.35	+0.25	-0.30
ШОЕ	+0.55	+0.36	-0.43	+0.45	+0.43	+0.47	+0.40	-0.42	+0.48
LII	+0.74	+0.76	-0.68	+0.66	+0.56	+0.51	+0.42	-0.54	+0.54
Смугасте тіло									
	Авоош	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.23	-0.25	+0.27	-0.28	-0.30	-0.27	-0.29	+0.25	-0.26
Hb	-0.25	-0.28	+0.23	-0.23	-0.29	-0.24	-0.23	+0.23	-0.22
Wbc	+0.33	+0.40	-0.42	+0.35	+0.31	+0.33	+0.38	-0.29	+0.26
Plt	-0.27	-0.24	+0.31	-0.38	-0.27	-0.25	-0.27	+0.23	-0.27
PI	-0.34	-0.29	+0.32	-0.33	-0.29	-0.27	-0.37	+0.25	-0.34
P	-0.32	-0.30	+0.31	-0.27	-0.28	-0.23	-0.30	+0.28	-0.25
Alb	-0.43	-0.45	+0.30	-0.35	-0.30	-0.38	-0.34	+0.30	-0.28
Bil	+0.82	+0.73	-0.71	+0.67	+0.63	+0.60	+0.56	-0.58	+0.46
AST	+0.77	+0.65	-0.76	+0.65	+0.57	+0.55	+0.52	-0.51	+0.43
ALT	+0.49	+0.52	-0.54	+0.52	+0.55	+0.41	+0.47	-0.40	+0.35
Cre	+0.50	+0.57	-0.42	+0.49	+0.48	+0.59	+0.46	-0.47	+0.58
Ur	+0.29	+0.31	-0.29	+0.30	+0.28	+0.24	+0.25	-0.25	+0.29
Na⁺	-0.31	-0.27	+0.36	-0.29	-0.33	-0.37	-0.27	+0.23	-0.26

Продовження таблиці 4.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K⁺	-0.42	-0.31	+0.31	-0.30	-0.34	-0.35	-0.26	+0.26	-0.27
ШОЕ	+0.51	+0.42	-0.43	+0.47	+0.38	+0.43	+0.43	-0.47	+0.42
ЛП	+0.47	+0.45	-0.48	+0.52	+0.44	+0.43	+0.48	-0.41	+0.45
Мозочок									
	Ayooц	AA2	GFAP	GS	AQP4	CD68	Casp3	Syn	AT
Rbc	-0.23	-0.27	+0.31	-0.26	-0.27	-0.24	-0.28	+0.29	-0.26
Hb	-0.26	-0.29	+0.27	-0.25	-0.23	-0.27	-0.25	+0.25	-0.22
Wbc	+0.43	+0.45	-0.46	+0.30	+0.35	+0.37	+0.27	-0.32	+0.26
Plt	-0.28	-0.29	+0.30	-0.28	-0.26	-0.22	-0.26	+0.27	-0.27
PI	-0.31	-0.32	+0.28	-0.25	-0.27	-0.25	-0.35	+0.29	-0.34
P	-0.30	-0.25	+0.29	-0.28	-0.30	-0.27	-0.28	+0.30	-0.25
Alb	-0.44	-0.45	+0.30	-0.26	-0.41	-0.40	-0.35	+0.29	-0.28
Bil	+0.79	+0.77	-0.71	+0.57	+0.61	+0.62	+0.60	-0.53	+0.46
AST	+0.72	+0.81	-0.63	+0.53	+0.55	+0.52	+0.53	-0.48	+0.43
ALT	+0.63	+0.78	-0.50	+0.50	+0.50	+0.37	+0.45	-0.42	+0.35
Cre	+0.52	+0.57	-0.59	+0.59	+0.46	+0.50	+0.46	-0.45	+0.27
Ur	+0.27	+0.29	-0.30	+0.25	+0.23	+0.26	+0.25	-0.25	+0.29
Na⁺	-0.25	-0.27	+0.32	-0.25	-0.31	-0.33	-0.28	+0.23	-0.25
K⁺	-0.35	-0.45	+0.34	-0.28	-0.32	-0.36	-0.25	+0.26	-0.28
ШОЕ	+0.54	+0.45	-0.41	+0.42	+0.38	+0.42	+0.40	-0.47	+0.46
ЛП	+0.52	+0.61	-0.57	+0.55	+0.41	+0.45	+0.43	-0.41	+0.48

Примітка. Жирним виділена достовірна ($p < 0.05$) кореляція між показниками в межах одного відділу ГМ. Ayooц – ГХ експресія аміаку; CD68 – S rel.% CD68⁺ клітин; Casp3 – % Casp3⁺ нейронів.

Таким чином, найбільш ранніми і перманентними для всіх стадій ПЕ є зв'язки між лабораторними ознаками печінкової недостатності (загальний білірубін, АСТ, АЛТ) та рівнем аміаку і ознаками астроцитарної дисфункції (показники GS, AQP4, GFAP, AA2, AT). На стадіях G1-2 і G3-4 ПЕ, при приєднанні ниркової дисфункції/недостатності та системної запальної реакції, найбільш часті достовірні зв'язки також з'являються між рівнем креатиніну, лейкоцитозом, ЛП, ШОЕ та відсотком апоптотичних нейронів, синаптичною дисфункцією та реактивними змінами мікроглії. При ПЕ G0-4 достовірні взаємозв'язки між згаданими параметрами частіше за все спостерігаються в найбільш «аміак-чутливих» відділах ГМ – таламус, смугасте тіло, мозочок та кора ВПГМ, і найбільша їх кількість характерна для ПЕ G3-4, що часто розвивається у складі СПОН з максимальними морфологічними аміак-асоційованими змінами ГНВК. Узагальнена схема представлена на рис. 4.2.

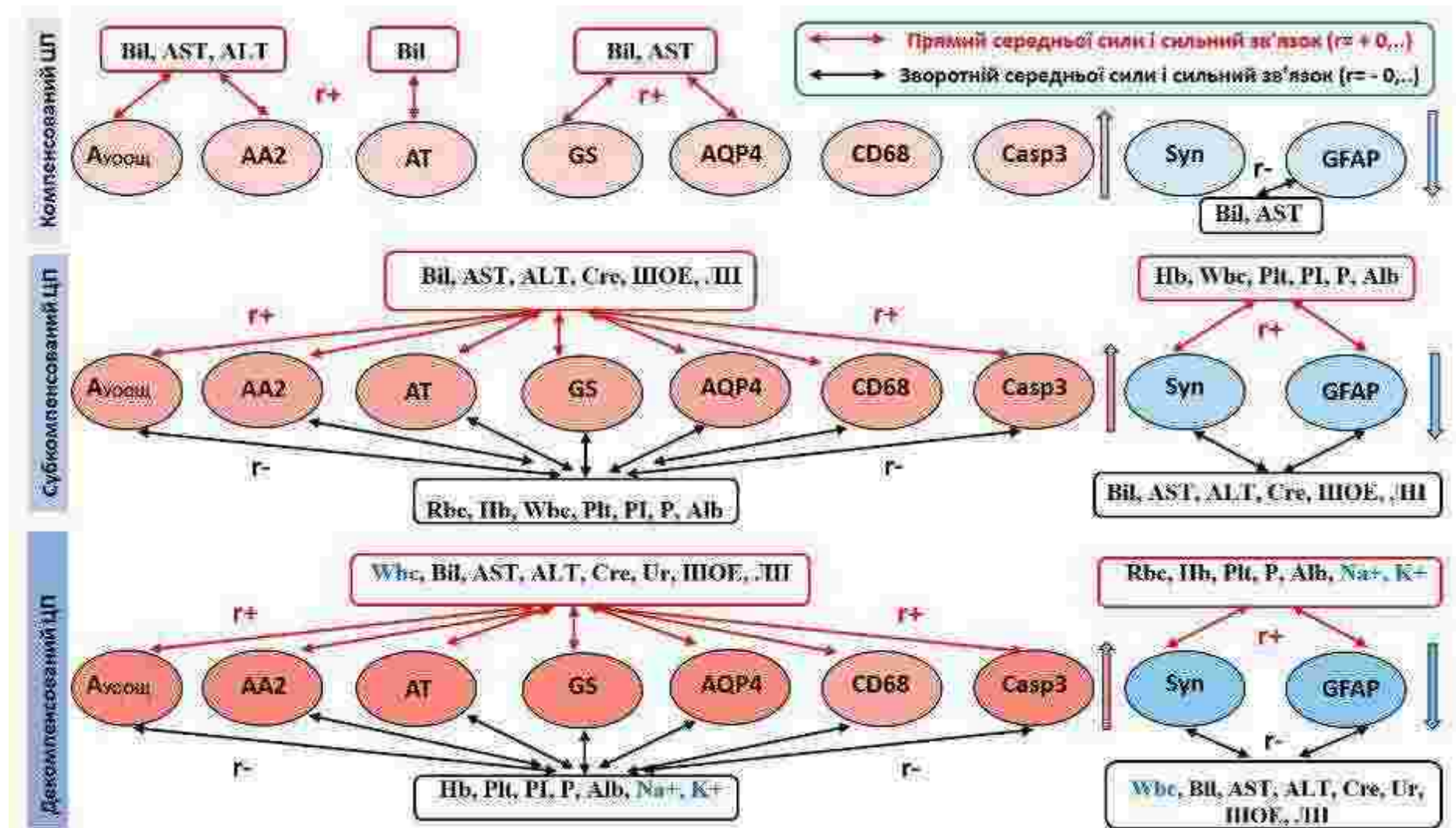


Рисунок 4.2 – Кореляційні зв'язки між прижиттєвими лабораторними і посмертними аміак-асоційованими гістологічними, ГХ та ІГХ показниками ГНБК.

4.8 Оцінка передбачуваної спроможності посмертних рівнів тканинного аміаку в ГМ померлих хворих щодо наявності за життя печінкової енцефалопатії

Зважаючи на ключову роль аміаку в морфогенезі змін ГНБК при ПЕ, а також враховуючи те, що за результатами кореляційного аналізу найбільшу кількість взаємозв'язків виявлено між прижиттєвими лабораторними ознаками органної недостатності та підвищенням рівня тканинного аміаку в ГМ померлих хворих, проведено визначення передбачуваної спроможності рівня тканинного аміаку щодо наявності за життя хворих ПЕ. З цією метою використано логістично-регресійний аналіз з побудовою ROC-кривих та визначенням порогу відсічення. Показники медіанних рівнів ГХ експресії аміаку в посмертній тканині ГМ 90 хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» проаналізовано щодо наявності або відсутності в їх історіях хвороби прижиттєвих симптомів ПЕ G1-4 або клінічного діагнозу ПЕ.

Згідно проведеного ROC-аналізу середні показники ГХ експресії аміаку в тканині наступних відділів ГМ померлих хворих вказували на статистично значущу ймовірність наявності в них за життя ПЕ (рис. 4.3):

1) *в тканині кори ВПГМ* експресія аміаку > 29.67 УООЩ (чутливість = 65.45 %, специфічність = 94.29 %), $AUC=0.732$, $p<0.001$; 2) *в тканині таламусу* експресія аміаку > 34.18 УООЩ (чутливість = 80.36 %, специфічність = 79.41 %) $AUC=0.840$, $p<0.001$; 3) *в тканині смугастого тіла* експресія аміаку > 28.1 УООЩ (чутливість = 82.14 %, специфічність = 73.53 %) ($AUC=0.809$, $p<0.001$); 4) *в тканині мозочка* експресія аміаку > 32.65 УООЩ (чутливість – 85.71 %, специфічність – 76.47 %) ($AUC=0.834$, $p<0.001$).

Не показали достовірної прогностичної значущості щодо ймовірності прижиттєвої ПЕ підвищені рівні ГХ експресії аміаку в наступних відділах ГМ (рис. 4.4):

1) *в тканині білої речовини ВПГМ* експресія аміаку >16.26 УООЩ (чутливість – 67.27 %, специфічність – 71.43 %) $AUC=0.617$, $p = 0.073$); 2) *в*

тканині гіпокампу експресія аміаку > 19.52 УООЩ (чутливість – 58.93 %, специфічність – 64.71 %) (AUC=0.603, $p = 0.084$).

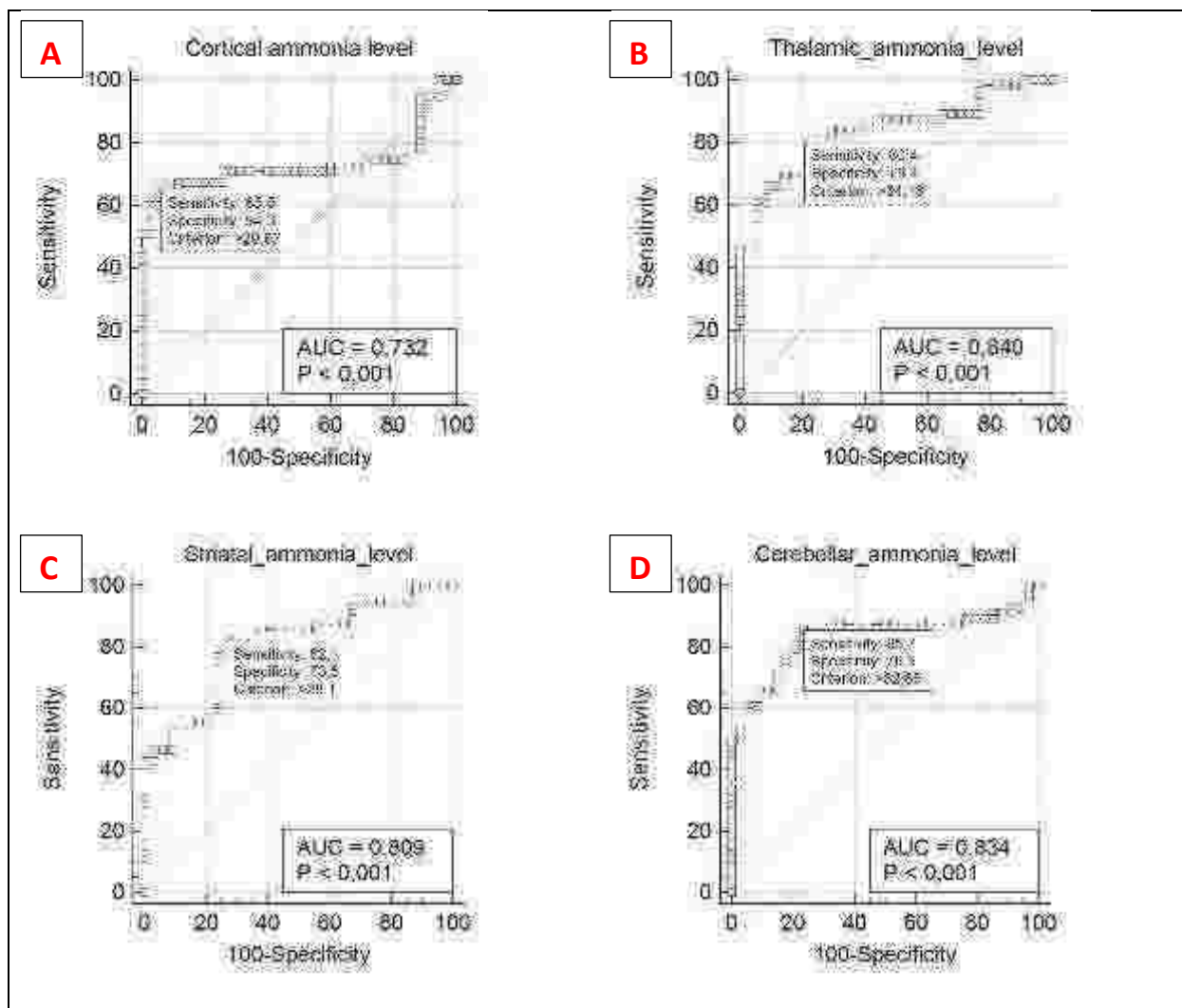


Рисунок 4.3 – ROC-криві достовірної ($p < 0.05$) ймовірності прижиттєвої ПЕ за рівнем ГХ експресії аміаку в корі ВПГМ (А), таламусі (В), смугастому тілі (С), мозочку (D).

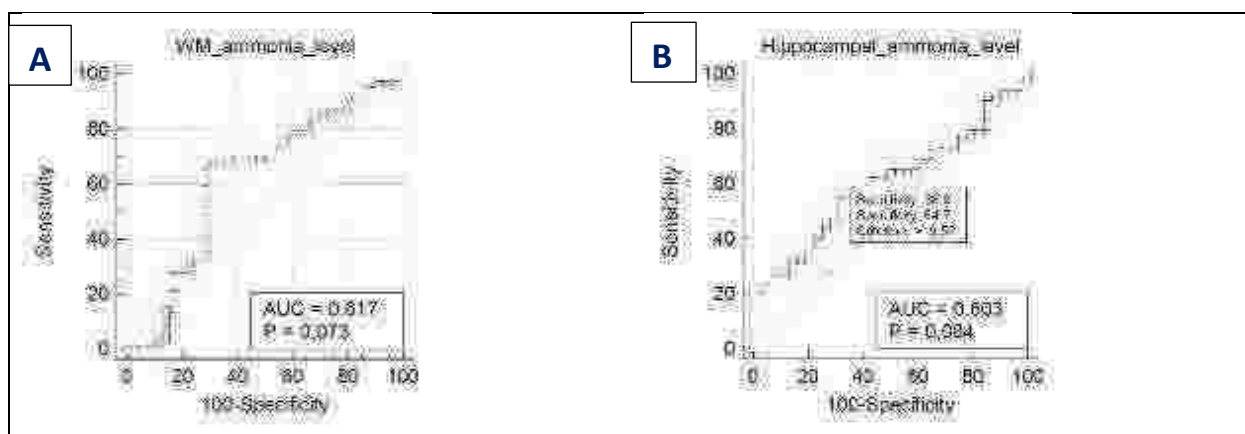


Рисунок 4.4 – ROC-криві недостовірної ($p > 0.05$) ймовірності прижиттєвої ПЕ за рівнем ГХ експресії аміаку в білій речовині ВПГМ (А), гіпокампі (В).

4.9 Прогностична цінність прижиттєво змінених лабораторних показників крові хворих з ПЕ G0-4 при ЦП щодо ймовірності в них підвищеного рівня аміаку в посмертній тканині таламусу

Враховуючи те, що серед 6-ти досліджених відділів ГМ в таламусі визначено одні з найвищих рівнів тканинного аміаку і найсуттєвіших аміак-асоційованих змін ГНВК, а також те, що таламус входить у перелік найбільш «аміак-чутливих», ми використали саме цей відділ як той, що може містити в собі найбільш постійні і показові морфологічні зміни, притаманні ПЕ. Більше того, кореляційний аналіз підтвердив, що в таламусі хворих спостерігаються одні з найчастіших достовірно встановлених взаємозв'язків між прижиттєвими лабораторними показниками органної недостатності і ускладнень ЦП та морфологічними змінами ГНВК. Шістнадцять прижиттєвих лабораторних показників крові із історій хвороби 90 померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» були залучені до логістично-регресивного аналізу для визначення їх передбачуваної спроможності щодо наявності підвищеного рівня тканинного аміаку в таламусі цих померлих хворих. Згідно побудованих ROC-кривих із визначенням точки відсічення рівні наступних прижиттєвих показників крові хворих вказували на достовірну ($p < 0.05$) ймовірність підвищеної експресії аміаку в посмертній тканині таламусу (рис. 4.5):

- 1) *рівень загального білірубіну плазми* > 39.4 мкмоль/л (чутливість – 68.42 %, специфічність – 85.71 %), $AUC = 0.739$, $p < 0.001$;
- 2) *рівень АСТ* > 1.25 мкмоль/(сек*л) (чутливість – 47.37 %, специфічність – 85.71 %), $AUC = 0.669$, $p = 0.0346$;
- 3) *рівень АЛТ* > 0.94 мкмоль/(сек*л) (чутливість – 52.63 %, специфічність – 78.57 %) $AUC = 0.650$, $p = 0.0390$;
- 4) *рівень ШОЕ* > 19 мм/год (чутливість – 48.68 %, специфічність – 92.86 %) $AUC = 0.657$, $p = 0.0249$;
- 5) *показник ЛП* > 1.92 од. (чутливість – 57.89 %, специфічність – 92.86 %) $AUC = 0.647$, $p = 0.0119$;

6) *рівень креатиніну плазми* >144.79 мкмоль/л (чутливість – 55.26 %, специфічність – 85.71 %) $AUC=0.665$, $p=0.0287$.

Не показали достовірної ($p>0.05$) прогностичної значущості щодо ймовірності підвищеної експресії аміаку в посмертній тканині таламусу наступні прижиттєві лабораторні показники крові (рис. 4.6):

- 1) *рівень лейкоцитів* $>10.1 \times 10^9$ /л ($AUC=0.512$, $p=0.8893$);
- 2) *рівень протромбінового індексу* ≤ 68 % ($AUC=0.587$, $p=0.3872$);
- 3) *рівень альбуміну* ≤ 34 г/л ($AUC=0.636$, $p=0.0829$);
- 4) *рівень загального білку* ≤ 58 г/л ($AUC=0.587$, $p=0.2849$);
- 5) *рівень сечовини* >9.86 ммоль/л ($AUC=0.563$, $p=0.4520$);
- 6) *рівень еритроцитів* $\leq 3.72 \times 10^{12}$ /л ($AUC=0.645$, $p=0.1353$);
- 7) *рівень гемоглобіну* ≤ 115 г/л ($AUC=0.604$, $p=0.2352$);
- 8) *рівень тромбоцитів* $\leq 163 \times 10^9$ /л ($AUC=0.574$, $p=0.4409$);
- 9) *рівень натрію* ≤ 131 ммоль/л ($AUC=0.571$, $p=0.3508$);
- 10) *рівень калію* ≤ 3.56 ммоль/л ($AUC=0.533$, $p=0.6942$).

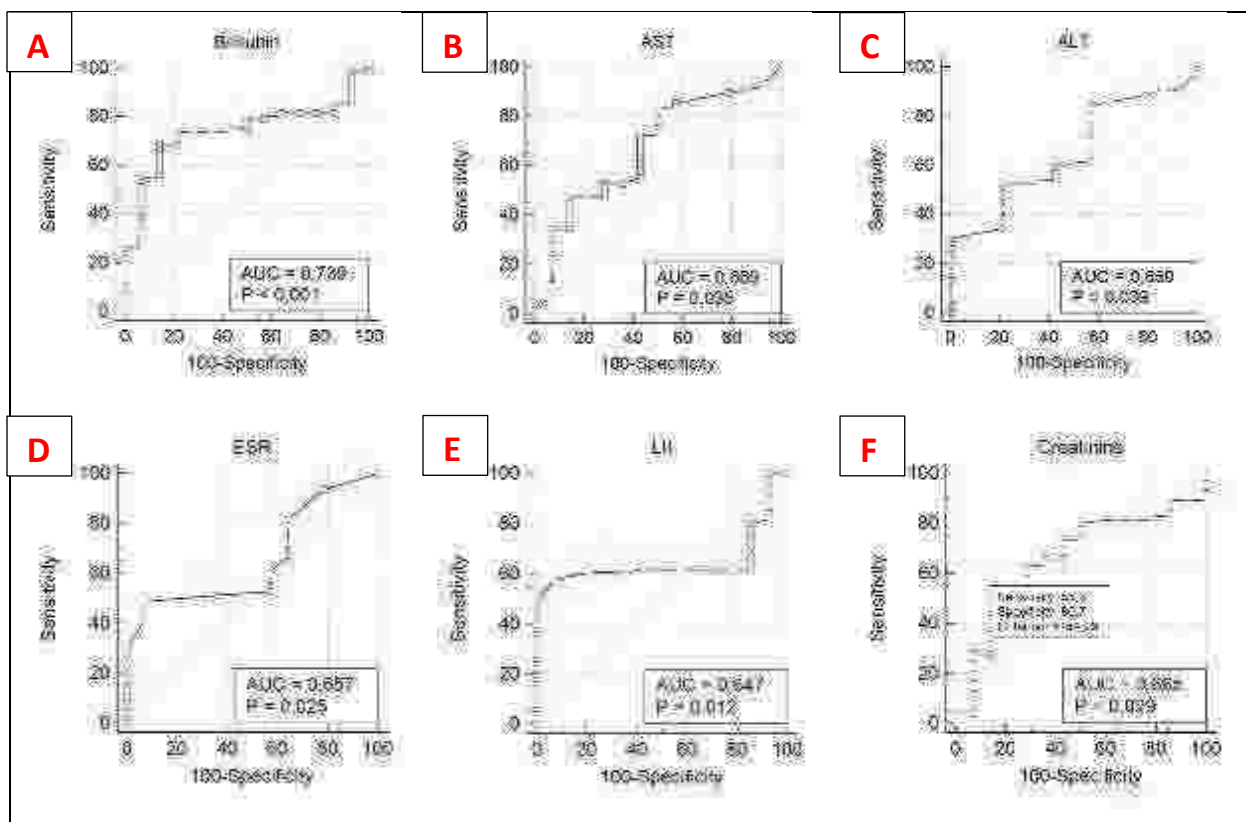
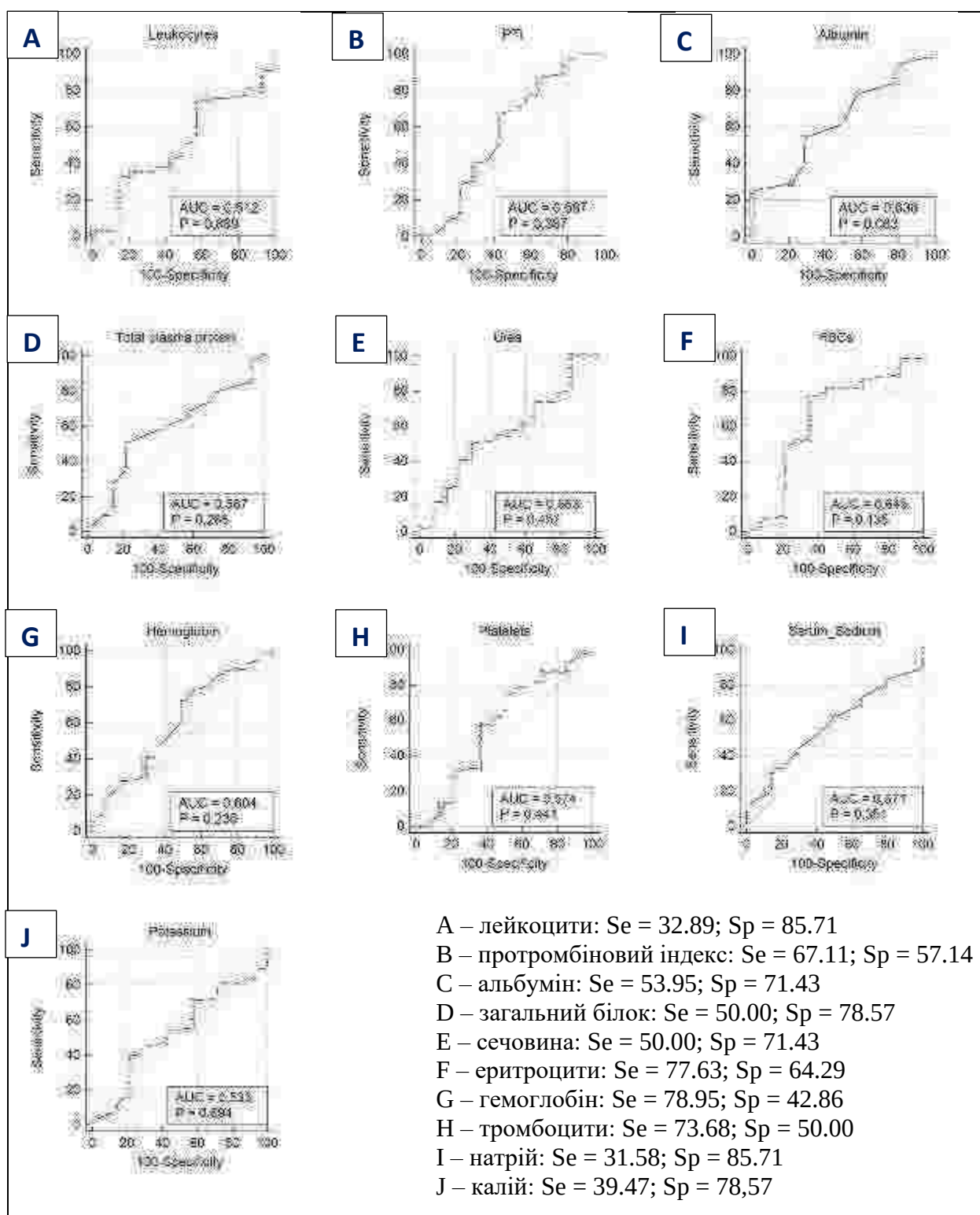


Рисунок 4.5 – ROC-криві достовірної ($p<0.05$) ймовірності підвищеного аміаку у таламусі померлих хворих за рівнем показників загального білірубіну (A), АСТ (B), АЛТ (C), ШОЕ (D), ЛП (E), креатиніну (F).



Примітка. Se – чутливість; Sp – специфічність.

Рисунок 4.6 – ROC-криві статистично недостовірної ($p > 0.05$) ймовірності підвищеного рівня аміаку в таламусі померлих хворих за рівнем прижиттєвих показників крові: лейкоцитів (A), протромбінового індексу (B), альбуміну (C), загального білку (D), сечовини (E), еритроцитів (F), гемоглобіну (G), тромбоцитів (H), натрію (I), калію (J).

Резюме

Кореляційний аналіз показав наявність взаємозв'язків між підвищеним рівнем тканинного аміаку та усіма ключовими мікроскопічними та ІГХ параметрами змін ГНБК; достовірність і сила цих взаємозв'язків залежать від тяжкості ПЕ та досліджуваного відділу ГМ. Вже починаючи зі стадії ПЕ G0 встановлено прямий зв'язок між показниками ГХ експресії аміаку та кількістю АА2 в усіх 6 досліджених відділах ГМ померлих хворих. Одночасно з цим прямий зв'язок спостерігається між площами експресії GS та AQP4 і навпаки, негативний зв'язок – між площами експресії GS та GFAP, AQP4 та GFAP, що вказує на особливу діагностичну чутливість і морфогенетичне значення підвищення рівня тканинного аміаку, Альцгеймер-2 астроцитозу, аміак-асоційованої зміни експресії GFAP, GS, AQP4 вже на доклінічних стадіях ПЕ.

Рівень тканинного аміаку, виразність А2-астроцитозу та кількість амілоїдних тілець прямо корелюють з площами експресії GS та AQP4 і мають зворотні зв'язки з площею експресії GFAP, що непрямим чином підтверджує сучасні уявлення про морфогенез АА2 щодо їх глутамін-асоційованих гіперосмолярних та аквапорин-залежних набрякових змін. Прямі зв'язки гіперекспресії GS і AQP4 зі збільшенням кількості амілоїдних тілець та зворотні зв'язки з гіпоекспресією GFAP вказують на дисфункцію глімфатичної системи на тлі своєрідного аміак-асоційованого астроцитарного ремоделювання і недостатності. Дані зв'язки мають достовірну силу на стадії ПЕ G0 переважно в таламусі, смугастому тілі та мозочку, що підкреслює діагностичну і морфогенетичну значущість цих відділів ГМ щодо ПЕ.

Достовірні взаємозв'язки між іншими дослідженими параметрами ГНБК померлих хворих встановлюються в усіх досліджених відділах ГМ переважно тільки починаючи з легкої ПЕ G1-2. Прямі зв'язки різної сили встановлено між площею розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів з одного боку та рівнем ГХ експресії аміаку, виразністю А2-астроцитозу, експресією AQP4, кількістю амілоїдних тілець – з іншого. Також прямі взаємозв'язки знайдено між зростанням рівня тканинного аміаку,

кількості AA2, експресії AQP4 з одного боку та накопиченням амілоїдних тілець – з іншого. Разом це підтверджує асоціацію набрякових змін мозкової тканини з аміак-обумовленою астроцитарною дистрофією та дисфункцією глімфатичної системи при ПЕ.

Починаючи з ПЕ G1-2, підвищення частки Casp3⁺ нейронів прямо корелює зі зростанням рівня аміаку і накопиченням АТ. Підвищення рівня аміаку характеризується зворотніми зв'язками з оптичною щільністю Syn в міжнейронних синапсах. Зазначені взаємозв'язки вказують на підвищену потребу в очищенні мозкової тканини від продуктів деградації апоптотично змінених нейронів та їх синапсів в умовах легкої і важкої ПЕ.

У померлих хворих з легкою ПЕ G1-2 підвищений рівень тканинного аміаку позитивно корелює з площею позасудинної CD68⁺ мікроглії і відсотком серед них амебоїдних форм, але на стадії важкої ПЕ G3-4 кореляційні зв'язки між цими показниками стають зворотніми. Даний факт вказує на пригнічувальний вплив більш високих рівнів тканинного аміаку на мікрогліальну реактивність та спроможність до фагоцитозу.

Для визначення взаємозв'язку між наявністю прижиттєвої органної недостатності, а також ускладнень ЦП у вигляді постгеморагічної анемії та розвитку системної запальної відповіді з одного боку, та виявленими аміак-асоційованими змінами ГНБК – з іншого, а також для визначення найбільш діагностично значущих показників крові і патоморфологічних змін ГНБК померлих хворих для подальшого логістично-регресійного аналізу було проведено кореляційний аналіз цих параметрів. За результатами цього дослідження визначено наявність статистично значущих ($p < 0.05$) взаємозв'язків між змінами лабораторних показників крові померлих хворих з ПЕ G0-4 та рівнем ГХ експресії аміаку, виразністю AA2-астроцитозу, кількістю АТ, ІГХ експресією GFAP, GS, AQP4, CD68, Casp-3, синаптофізину в їх посмертній тканині ГМ.

Визначено, що майже всі 16-ть лабораторних показників крові мають достовірні взаємозв'язки зі змінами параметрів ГНБК, але кількість і сила

взаємозв'язків збільшується поступово, з прогресуванням ПЕ і залежить від досліджуваного відділу ГМ. В найбільш «аміак-чутливих» відділах ГМ (таламус, смугасте тіло, мозочок, кора ВПГМ) час появи, сила і кількість кореляційних зв'язків мають тенденцію до більших значень порівняно з тканиною білої речовини ВПГМ та гіпокампу вже починаючи з доклінічної стадії ПЕ Grade 0. Найбільша кількість таких зв'язків характерна для ПЕ G3-4, яка найчастіше розвивається у складі СПОН і характеризується максимальними змінами параметрів крові і морфологічними змінами ГНБК.

Визначено, що найбільш ранніми і постійними для всіх стадій ПЕ є взаємозв'язки між лабораторними ознаками печінкової дисфункції/недостатності (загальний білірубін, АСТ, АЛТ) та рівнем тканинного аміаку і аміак-асоційованими морфо-функціональними ознаками астроцитарної дисфункції (підвищення експресії GS, AQP4, зниження експресії GFAP, підвищення кількості астроцитів Альцгеймера 2 типу та амілоїдних тілець). На стадіях легкої G1-2 і важкої G3-4 ПЕ, що часто розвиваються на тлі приєднання ниркової дисфункції/недостатності та системної запальної реакції, найбільш часті достовірні взаємозв'язки також з'являються між прижиттєвим рівнем креатиніну плазми крові, лейкоцитозом, ЛП, ШОЕ та відсотком апоптотичних нейронів, синаптичною дисфункцією та реактивними змінами мікроглії.

Враховуючи те, що за результатами кореляційного аналізу лабораторні ознаки органної недостатності найбільшу кількість взаємозв'язків мають з підвищенням рівня аміаку в тканині ГМ, а також зважаючи на ключову роль аміаку в морфогенезі ПЕ, було проведено визначення передбачуваної спроможності посмертних рівнів аміаку щодо наявності за життя хворих ПЕ. З цією метою використано логістично-регресійний аналіз з побудовою ROC-кривих та визначенням порогу відсічення. Показники медіанних рівнів експресії аміаку в посмертній тканині ГМ хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» проаналізовано щодо наявності в історіях хвороби проявів ПЕ G1-4 або клінічного діагнозу ПЕ.

Згідно побудованих ROC-кривих посмертні показники експресії аміаку в тканині наступних відділів ГМ померлих хворих вказували на достовірну ймовірність наявності в них прижиттєвої ПЕ G1-4: 1) в тканині таламусу експресія аміаку > 34.18 УООЩ; 2) в тканині кори ВПГМ експресія аміаку > 29.67 УООЩ; 3) в тканині смугастого тіла експресія аміаку > 28.1 УООЩ; 4) в тканині мозочка експресія аміаку > 32.65 УООЩ. Таким чином, саме ці відділи ГМ характеризуються найбільш постійним підвищеним рівнем аміаку при явній ПЕ і, відповідно, асоційовані морфологічні зміни в них є найбільш цінними щодо патологоанатомічної діагностики ПЕ.

Враховуючи те, що серед досліджених відділів ГМ в таламусі визначено одні з найвищих рівнів тканинного аміаку і найсуттєвіші аміак-асоційовані зміни ГНВК, ми використали саме цей відділ як той, що може містити в собі найбільш постійні морфологічні прояви ПЕ. Більше того, кореляційний аналіз підтвердив, що в таламусі хворих спостерігаються найчастіші взаємозв'язки між лабораторними показниками органної недостатності та морфологічними змінами ГНВК. Шістнадцять прижиттєвих показників крові померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд» були залучені для визначення їх передбачуваної спроможності щодо наявності підвищеного рівня аміаку в таламусі померлих хворих. Згідно ROC-кривих рівні наступних показників крові хворих вказували на значущу ($p < 0.05$) ймовірність підвищеної експресії аміаку в тканині таламусу: 1) рівень загального білірубіну плазми > 39.4 мкмоль/л; 2) рівень АСТ > 1.25 мкмоль/(сек*л); 3) рівень АЛТ > 0.94 мкмоль/(сек*л); 4) рівень ШОЕ > 19 мм/год; 5) показник ЛП > 1.92 од.; 6) рівень креатиніну плазми > 144.79 мкмоль/л. Для посмертної діагностики ПЕ під час аналізу історій хвороби померлих осіб з хронічною печінковою недостатністю на тлі ЦП або гострою декомпенсацією ЦП з синдромом ГХПечН особливу увагу слід приділяти оцінці вказаних лабораторних показників.

Результати даного розділу було опубліковано в наступних роботах [129-133].

РОЗДІЛ 5

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ СЕПСИС-АСОЦІЙОВАНІЙ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ У ПОМЕРЛИХ ХВОРИХ НА АБДОМІНАЛЬНИЙ СЕПСИС БЕЗ ГНІЙНОГО УРАЖЕННЯ ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ТА ПОРІВНЯННЯ ЇЇ З ВАЖКОЮ ПЕЧІНКОВОЮ ЕНЦЕФАЛОПАТІЄЮ ПРИ СИНДРОМІ ГОСТРОЇ-НА-ТЛІ-ХРОНІЧНОЇ ПЕЧІНКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

5.1 Лабораторні дані хворих на абдомінальний сепсис і клінічні прояви сепсис-асоційованої енцефалопатії

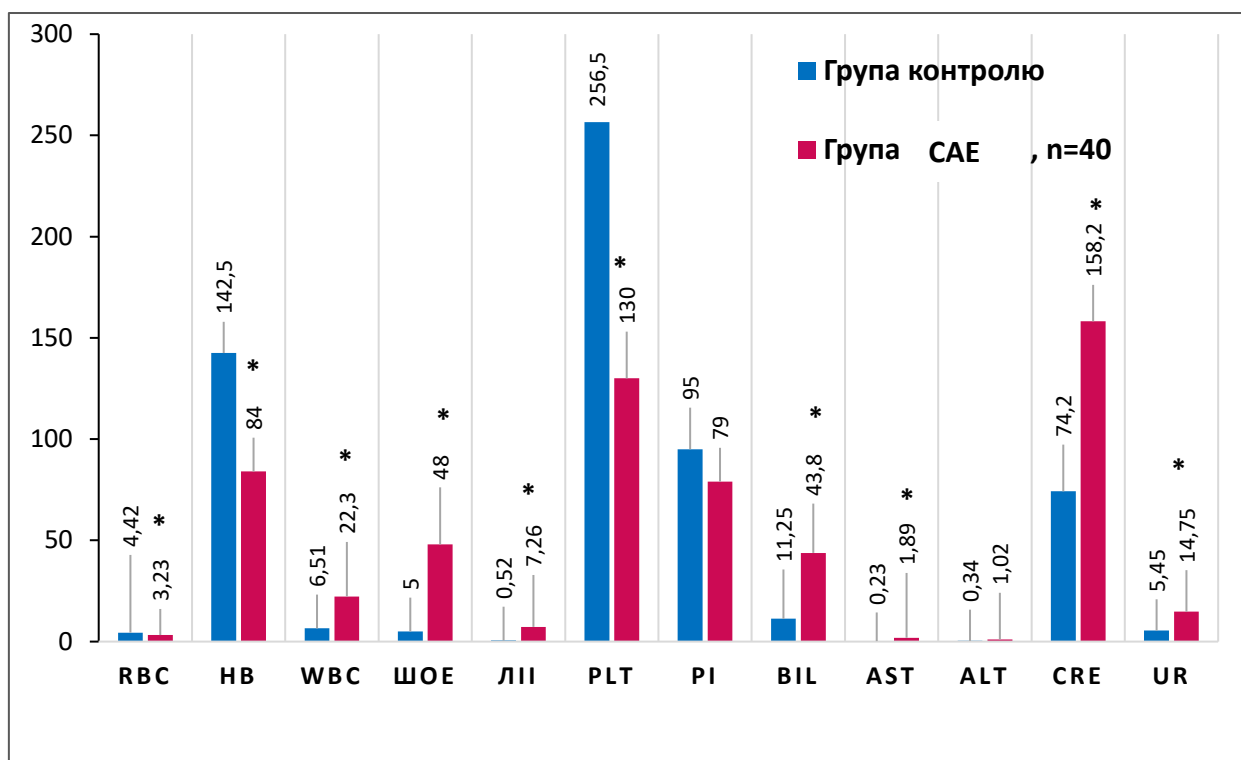
За результатами ретроспективного аналізу історій хвороби в усіх 40 померлих хворих групи «САЕ» були виявлені значні зміни прижиттєвих лабораторних показників крові, порівняно з даними померлих осіб групи контролю. У хворих на сепсис прижиттєво спостерігалися ознаки анемії (достовірне ($p < 0.05$) зниження медіанних рівнів еритроцитів та гемоглобіну відносно групи контролю на 36.00% і 69.64% відповідно), коагулопатії (достовірне ($p < 0.05$) зниження середньої кількості тромбоцитів на 97.30% та тенденція ($p > 0.05$) до зниження протромбінового індексу), наявність лейкоцитозу (збільшення середньої кількості лейкоцитів в 3.4 рази відносно контрольної групи), рівня ШОЕ (підвищення в 9.6 рази відносно контрольної групи) і збільшення до 12 разів показників ЛПІ (порівняно з контролем).

Сепсис-асоційована печінкова дисфункція-недостатність проявлялася в достовірному ($p < 0.05$) підвищенні відносно контрольної групи медіанних рівнів загального білірубіну (в 3.8 рази), АСТ (в 8.2 рази) і тенденції ($p > 0.05$) до підвищення АЛТ. Сепсис-асоційована ниркова дисфункція-недостатність була підтверджена достовірним ($p < 0.05$) підвищенням порівняно з контролем медіанних значень рівня креатиніну (на 113.20%) і сечовини (на 170.64%) (табл. 5.1; рис. 5.1).

Таблиця 5.1 – Прижиттєві лабораторні показники крові померлих хворих групи «САЕ» та групи контролю; [Me (Q1; Q3)]

Прижиттєві показники крові	Група «САЕ», n=40	Група контролю, n=30
Еритроцити ($\times 10^{12}/л$)	3.23 (2.85; 3.62)*	4.42 (4.20; 4.90)
Гемоглобін (г/л)	84.00 (73.00; 106.00)*	142.50 (125.50; 152.00)
Лейкоцити ($\times 10^9/л$)	22.30 (15.80; 29.35)*	6.51 (6.10; 6.85)
Тромбоцити ($\times 10^9/л$)	130.00 (72.00; 218.0)*	256.50 (235.00; 287.00)
Протромбіновий індекс (%)	79.00 (63.00; 91.00)	95.00 (86.50; 103.00)
Загальний білірубін (мкмоль/л)	43.80 (27.75; 79.20)*	11.25 (9.30; 16.50)
АСТ (мкмоль/(с*л))	1.89 (0.65; 2.54)*	0.23 (0.18; 0.37)
АЛТ (мкмоль/(с*л))	1.02 (0.38; 1.32)	0.34 (0.20; 0.55)
Креатинін (мкмоль/л)	158.20 (105.7; 297.4)*	74.20 (67.10; 95.10)
Сечовина (ммоль/л)	14.75 (10.30; 21.40)*	5.45 (4.40; 7.30)
ШОЕ (мм/год)	48.00 (22.00; 63.00)*	5.00 (3.00; 9.00)
Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ)	7.26 (3.69; 11.45)*	0.52 (0.34; 1.12)

Примітка. (*) – достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) – достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 5.1 – Медіанні значення прижиттєвих лабораторних показників крові померлих хворих групи «САЕ» і групи контролю.

5.1.1 Клінічні особливості сепсис-асоційованої енцефалопатії у хворих групи «САЕ»

За результатами ретроспективного аналізу історій хвороби у всіх 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис групи «САЕ» за 1-12 діб до смерті спостерігалися ознаки сепсис-асоційованої енцефалопатії: делірій та зниження свідомості нижче 15 балів за ШКГ, медіанні значення 10.00 (7.25; 12.00) балів. Із 40 хворих у 22 (55%) рівень свідомості був зниженим до 14-10 балів за ШКГ, що відповідало критеріям сепсис-асоційованої мозкової дисфункції, а у 18 (45%) хворих рівень свідомості становив 9-6 балів за ШКГ, що відповідало сепсис-асоційованій мозковій недостатності.

У всіх 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис окрім САЕ визначалися інші клінічні прояви поліорганної недостатності за шкалою SOFA. У 20 (50%) померлих хворих діагностована печінкова дисфункція/недостатність, що прижиттєво характеризувалася підвищенням сироваткового білірубіну; у 25 осіб (63%) спостерігалися ознаки ниркової дисфункції/недостатності (за рівнем сироваткового креатиніну); у 31 (78%) померлих хворих – ознаки циркуляторної дисфункції/недостатності (за рівнем середнього артеріального тиску); у 18 (45%) осіб – ознаки коагулопатії (за рівнем тромбоцитопенії; серед них у 31% померлих хворих спостерігалася гастроінтестинальна кровотеча); у 30 (75%) померлих визначалися ознаки дихальної недостатності на фоні вогнищевої гнійно-фібринозної пневмонії та/або респіраторного дистрес-синдрому дорослих (табл. 5.2, рис. 5.2).

Таблиця 5.2 – Розподіл поєднаної органної дисфункції/недостатності серед померлих хворих на сепсис з САЕ

№ випадку	Органна дисфункція/недостатність						
	бали ШКГ	ЦНС 40	Печінка 20	Нирки 25	Циркуляція 31	Легені 30	Коагуляція 18
1	10	Д	-	-	Д	+	-
2	12	Д	-	Д	Д	-	Д
3	9	Н	Д	-	Н	+	Д
4	8	Н	Д	Д	Н	+	-
5	12	Д	-	Д	Д	-	-
6	13	Д	-	-	Д	-	-
7	6	Н	Д	Д	-	+	Д
8	7	Н	Д	-	Н	+	-
9	11	Д	-	Д	-	+	-
10	12	Д	-	Д	Д	-	Д
11	9	Н	Д	Д	Н	+	-
12	6	Н	Д	Н	Н	+	-
13	5	Н	Н	Д	Н	+	Д
14	13	Д	-	Д	Д	-	-
15	6	Н	Д	Д	Н	+	Д
16	10	Д	Н	Д	Н	+	Д
17	5	Н	Д	Д	Н	+	-
18	9	Н	Д	-	Н	+	-
19	9	Н	Н	Д	Н	+	Д
20	13	Д	-	-	Д	-	-
21	9	Н	Д	-	-	+	Д
22	6	Н	Н	Д	Н	+	Д
23	12	Д	-	-	Д	-	Д
24	10	Д	-	Д	Н	+	-
25	12	Д	-	-	Д	-	-
26	6	Н	Д	Н	Н	+	Д
27	5	Н	Н	Д	Н	+	Д
28	9	Н	Д	Д	Н	+	-
29	10	Д	Д	-	-	+	-
30	12	Д	-	-	Д	-	-
31	6	Н	Н	Д	Н	+	Д
32	10	Д	Д	Д	Н	+	Д
33	11	Д	-	-	-	+	-
34	10	Д	-	Д	-	+	-
35	9	Н	-	-	Д	+	Д
36	14	Д	-	Д	-	+	-
37	12	Д	-	Д	Д	-	Д
38	11	Д	-	-	Д	+	Д
39	14	Д	-	Д	-	+	-
40	12	Д	-	-	-	+	-

Примітка: ШКГ – Шкала ком Глазго; "+" - присутня; "-" - відсутня. Помічені сірим фоном «Д» і «Н» – дисфункція і недостатність органу (або системи) відповідно.



Рисунок 5.2 – Частота окремих видів органної дисфункції/недостатності у складі СПОН серед хворих групи «САЕ».

Найбільш частим поєднанням органних дисфункцій/недостатності у цих хворих був мікст САЕ з циркуляторною, легеневою, нирковою, печінковою та коагуляційною дисфункцією/недостатністю ($n = 9$; 22%), поєднання з дисфункцією/недостатністю циркуляції, легень, нирок і печінки ($n = 5$; 13%), поєднання з дисфункцією/недостатністю легень і нирок ($n = 4$; 10%), а також поєднання з циркуляторною дисфункцією/недостатністю ($n = 4$; 10%) (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Характеристика поліорганної дисфункції/недостатності у хворих з САЕ при абдомінальному сепсисі

Поєднання д/н органів	n =	ЦНС	Ц	Легені	Нирки	Печінка	Коагуляція
САЕ+Ц+Л	1	+	+	+			
САЕ+Ц+Л+Н	1	+	+	+	+		
САЕ+Ц+Л+Н+П	5	+	+	+	+	+	
САЕ+Ц+Л+Н+П+К	9	+	+	+	+	+	+
САЕ+Ц	4	+	+				
САЕ+Ц+Н	2	+	+		+		
САЕ+Ц+К	1	+	+				+
САЕ+Ц+Н+К	3	+	+		+		+
САЕ+Ц+Л+П+К	1	+	+	+		+	+
САЕ+Ц+Л+П	2	+	+	+		+	
САЕ+Ц+Л+К	2	+	+	+			+
САЕ+Л	2	+		+			+
САЕ+Л+Н	4	+		+	+		+
САЕ+Л+Н+П+К	1	+		+		+	+
САЕ+Л+П	1	+		+		+	
САЕ+Л+П+К	1	+		+		+	+
Разом n =	40						

Примітка. д/н – дисфункція/недостатність; Ц – циркуляція; Л – легені; Н – нирки; П – печінка; К – коагуляція.

5.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією

5.2.1 Макроскопічна характеристика головного мозку

У померлих хворих з САЕ визначалися ознаки помірного набряку або набряку-набухання ГМ. М'які оболонки ГМ були помірно повнокрівні, тонкі і прозорі, або в окремих випадках дещо анемічні і потовщені через набряк. Субарахноїдальний простір і шлуночкова система містили помірну кількість спинномозкової рідини. Великі півкулі ГМ були симетричні, мали нормальний рел'єф звивин та ширину борозен, без ознак дислокації мозкових структур. Півкулі мозочку симетричні, мали дещо сплюснений рельєф звивин, у 66% осіб в мигдаликах мозочку визначалася симетрична странгуляційна борозна невеликої глибини. Медіанні показники ваги ГМ померлих хворих групи «САЕ» достовірно ($p < 0.05$) на 10.27% перевищували значення групи контролю: 1320.00 (1232.00; 1396.00) vs 1197.00 (1179.00; 1210.00) відповідно.

У 60% померлих хворих з САЕ в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампальній формації, мозочку відзначалися одиничні невеликі фокуси енцефалолізису розмірами до 0.2-0.6 см. У 63% померлих хворих з САЕ в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампи і мозочку визначалися дрібновогнищеві петехіальні мікрокрововиливи.

У 85% померлих хворих на сепсис визначався сегментарний стенозуючий (до 20-50%) неускладнений атеросклероз позачерепних та внутрішньочерепних артерій вертебро-базілярного та/або каротидного басейнів.

5.2.2 Загальна патогістологічна характеристика головного мозку

У померлих хворих групи «САЕ» в усіх досліджених відділах ГМ мікроскопічно визначалося помірне повнокрів'я, явища складжування, тромбозу частини мікросудин, а також ознаки набряку ГМ з невеликим, помірним або значним розширенням периваскулярних і перицелюлярних просторів і вогнищевою порозністю нейропілю різного ступеню (рис. 5.3, рис.

5.4-А). Перелічені набрякові зміни були відносно більш виразними в корі ВПГМ, гіпокампальній формації (ГпФ) та в мозочку. В корі ВПГМ, ГпФ, таламусі, смугастому тілі, мозочку виявлялися групи ішемічно-зморщених та апоптотичних нейронів і в меншій кількості – набряклі нейрони, нейрони в стані каріоцитолізу та клітини-тіні (рис. 5.3-А,В,С, рис. 5.4-С,Д). Часто навколо морфологічно змінених нейронів спостерігався гліальний сателітоз, інколи - явища мікрогліальної нейронофагії. Серед померлих хворих групи «САЕ» виявлено достовірно ($p < 0.05$) більшу порівняно з померлими особами групи контролю частоту (за χ^2 65% проти 13%) вогнищ запусілих мікросудин в корі ВПГМ, а також достовірно ($p < 0.05$) вищий в 6.87 разів відсоток запусілих мікросудин/СПЗ мікроскопу в корі ВПГМ (табл. 5.4, рис. 5.3-С,Д). Окрім цього, серед померлих хворих групи «САЕ» достовірно ($p < 0.05$) частіше (відносно померлих осіб групи контролю) визначалися дрібні периваскулярні фокуси енцефалолізу (за χ^2 60% проти 3%) (рис. 5.3-Д) та діapedезні мікрокрововиливи (за χ^2 63% проти 7%) (рис. 5.4-В) переважно в корі ВПГМ, ГпФ та в мозочку (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 - Патогістологічні параметри ГМ померлих хворих групи «САЕ» в порівнянні з показниками групи контролю

	Група «САЕ»	Група контролю	χ^2	p
Частота наявності запусілих МЦР в корі ВПГМ серед померлих хворих	26/40 (65%)	4/30 (13%)	18.69	<0.05
Частка запусілих судин МЦР/ СПЗ в корі ВПГМ, зб. х400 (%)	21.32 (18.11; 23.47) %	3.10 (2.25; 3.50) %		<0.05
Частота наявності мікрокрововиливів (серед відділів ГМ: кора і біла речовина ВПГМ, ГпФ, мозочок) у померлих хворих	25/40 (63%)	2/30 (7%)	19.29	<0.05
Частота наявних дрібних вогнищ енцефалолізу (серед відділів ГМ: кора і біла речовина ВПГМ, ГпФ, мозочок) у померлих хворих	24/40 (60%)	1/30 (3%)	23.98	<0.05

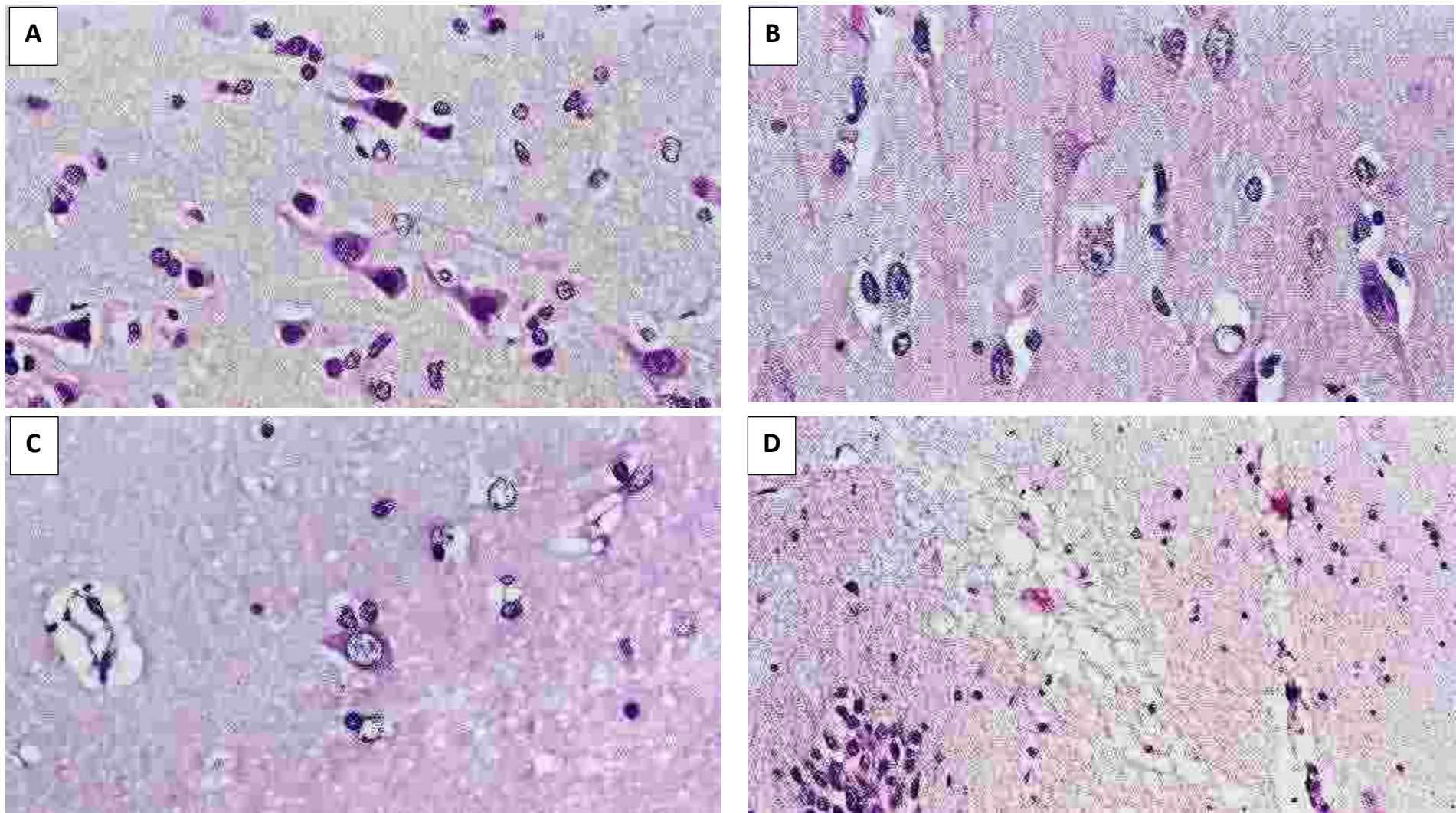


Рисунок 5.3 – **A.** – Ішемічна конденсація та зморщування нейронів кори ВПГМ, **B** – набухання та клітини-тіні нейронів кори ВПГМ, **C** – розширені ПВП, та АА2 в таламусі; **D** – вогнище енцефалолізису в гіпокампі померлих хворих з САЕ. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400, х200.

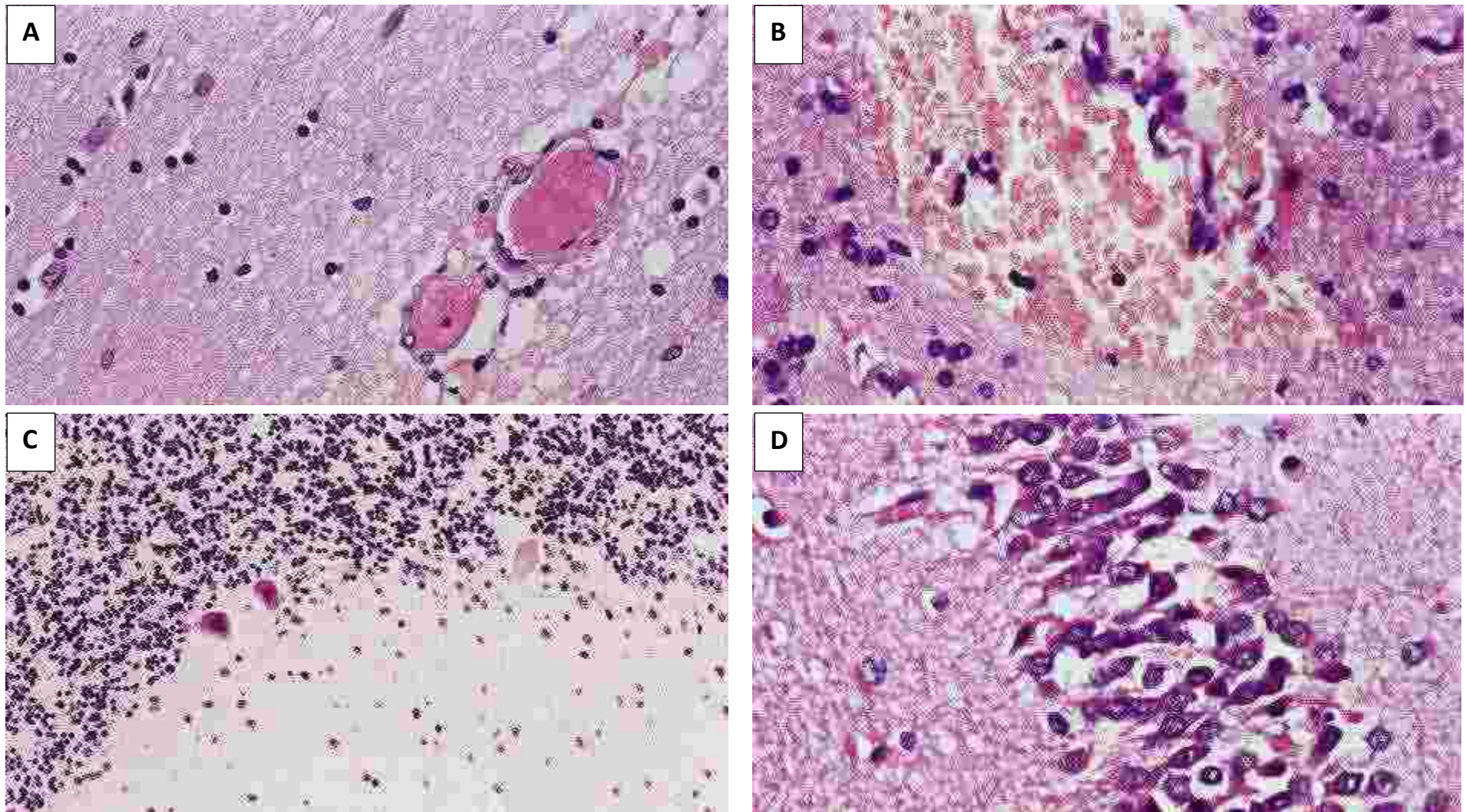


Рисунок 5.4 – **A.** – Порозність нервової тканини гіпокампу, **B** – крововиливи в гіпокампі, **C** – випадіння грушовидних нейронів і клітини-гілі в мозочку; **D** – ішемічно-зморщені нейрони в гіпокампі померлих хворих з САЕ. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400, х200.

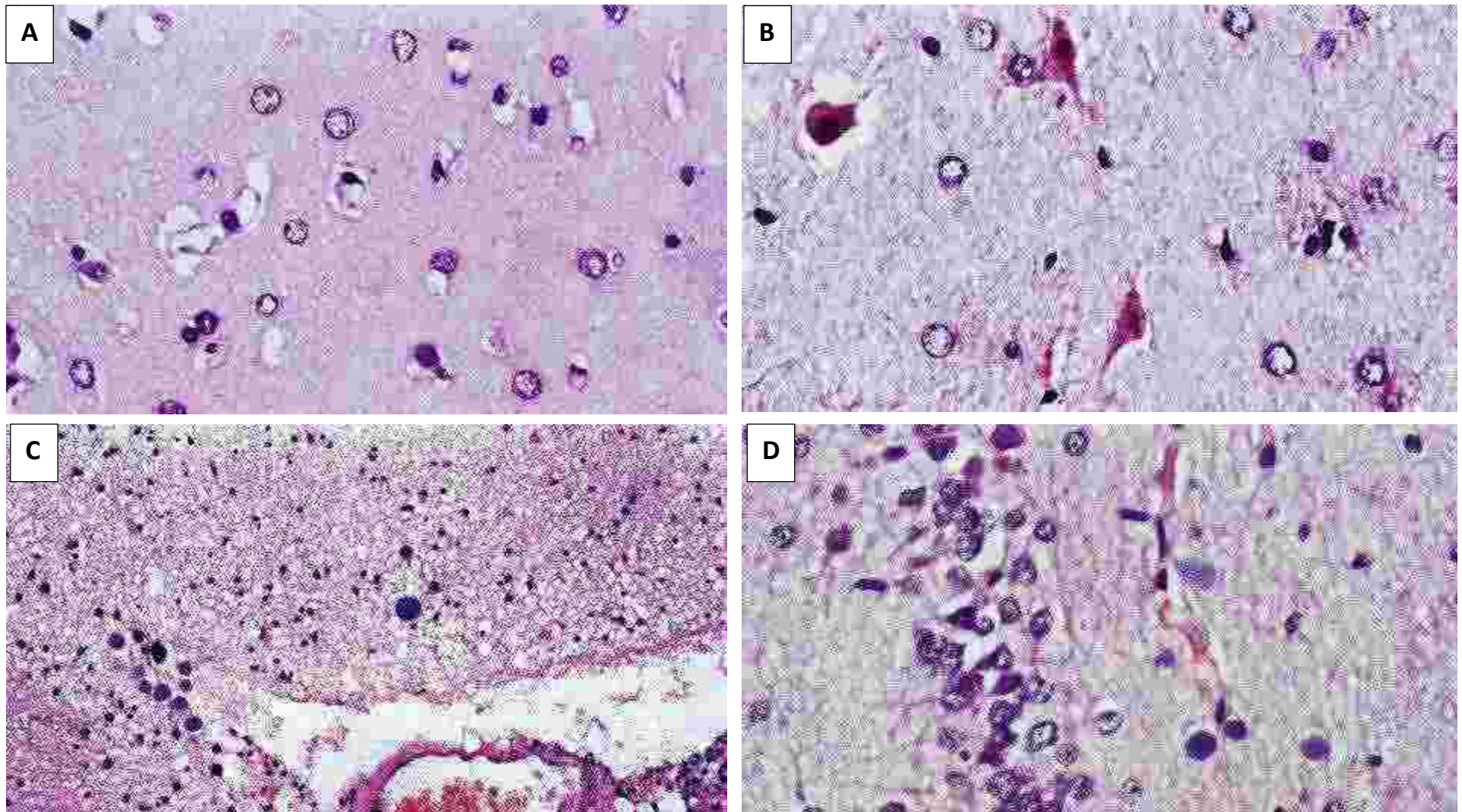


Рисунок 5.5 - Астроцити Альцгеймера 2 типу: **(А)** в корі ВПГМ, **(В)** в смугастому тілі ГМ; Амілоїдні тільця **(С, D)** в гіпокампі померлих хворих з САЕ. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36. x 200, 400.

Астроцити Альцгеймера 2 типу. У 58% померлих хворих групи «САЕ» спостерігалось специфічне реактивне астроцитарне ремоделювання у вигляді появи і накопичення астроцитів Альцгеймера 2 типу в корі ВПГМ (слабкий А2-астроцитоз, «+»), в таламусі, смугастому тілі та мозочку (помірний А2-астроцитоз, «++») з підвищенням середньої кількості АА2 відносно контролю: в корі ВПГМ – в 2.66 рази; в таламусі – в 3 рази; в мозочку – в 3.66 рази, $p < 0.05$ (див. рис. 5.5-А,В, табл. 5.5, рис. 5.6). В білій речовині ВПГМ та гіпокампі, незважаючи на статистично достовірне підвищення кількості АА2 відносно контролю, А2-астроцитоз відповідно використаної нами шкали не визначався.

Амілоїдні тільця. Активність процесів тканинного пошкодження та кліренсу продуктів деградації, а також виразність астроцитарної недостатності та дисфункції глімфатичної системи при САЕ підтвердило достовірне ($p < 0.05$) підвищення до 2 разів відносно групи контролю кількості АТ в таламусі, смугастому тілі та мозочку померлих септичних хворих. В корі, білій речовині ВПГМ і гіпокампі визначалася лише тенденція до підвищення кількості АТ, що не мало статистичної достовірності ($p > 0.05$) (див. рис. 5.5-С,D, табл. 5.5; рис. 5.6).

Таблиця 5.5 – Порівняння патоморфологічних показників тканини ГМ померлих хворих групи «САЕ» і групи контролю

Показники	Підгрупа «САЕ»	Контроль
1	2	3
Кора ВПГМ		
ГХ експресія аміаку (А _{уооц})	34.31 (25.73; 62.12)*	18.14(15.26; 19.53)
Шкала аміаку	+	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	8.00 (5.00; 12.00)*	3.00 (2.00; 4.00)
Шкала АА2	I	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	13.23 (12.67; 22.65)*	4.52 (4.23; 5.57)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	8.20 (7.11; 12.53)*	4.29 (2.26; 5.63)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	12.47 (11.61; 15.48)*	3.40 (3.22; 4.25)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	15.52 (11.43; 16.68)*	3.45 (2.37; 4.68)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	16.89 (10.25; 19.32)*	3.56 (3.14; 4.26)
% Casp3+ нейронів	17.35 (12.16; 18.12)*	5.63 (3.29; 8.68)
ІГХ Експресія Syn, УООЦ	54.52 (50.86; 67.38)	61.65(56.23; 71.34)
ПВП+ПЦп, мкм ²	109.15(106.45;110.46)*	11.63 (9.48; 14.25)
ПЦп, мкм ²	93.03 (89.36; 98.12)*	10.18 (9.29; 11.47)
ПВП, мкм ²	108.52(101.28;110.84)* ^П	12.27(10.72; 15.69)
Кількість АТ, од.	2.00 (1.00; 3.00)	1.00 (0.00; 2.00)
Біла речовина ВПГМ		

Продовження таблиці 5.5

1	2	3
ГХ експресія аміаку (А _{УООЩ})	18.32 (14.12; 22.81)	11.10 (10.34; 14.26)
Шкала аміаку	-	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	5.00 (4.50; 6.00)	3.00 (1.00; 4.00)
Шкала АА2	0	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	51.26 (46.85; 53.41)*	18.20 (17.11; 18.43)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	0.95 (0.66; 1.78)*	0.53 (0.34; 0.60)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	6.26 (5.73; 9.84)*	1.25 (0.75; 1.34)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	25.27 (19.66; 28.59)*	4.36 (2.54; 5.12)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	30.47 (18.86; 33.56)*	6.75 (4.48; 8.37)
% Casp3+ нейронів	-	-
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	-	-
ПВП+ПЦп, мкм ²	89.14 (84.58; 95.45)*	9.45 (7.24; 9.56)
ПЦп, мкм ²	73.62 (61.29; 76.45)*	8.29 (6.86; 9.84)
ПВП, мкм ²	95.11 (82.43; 96.32)*	10.27 (9.23; 12.18)
Кількість АТ, од.	2.00 (1.00; 2.00)	1.00 (0.00; 1.00)
Гіпокамп		
ГХ експресія аміаку (А _{УООЩ})	25.26 (21.73; 34.56)*	17.25 (14.68; 18.72)
Шкала аміаку	+	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	5.00 (4.00; 6.00)*	2.00 (1.00; 3.00)
Шкала АА2	0	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	15.57 (14.69; 18.14)*	7.10 (6.58; 7.89)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	3.15 (3.02; 5.23)	2.25 (0.53; 3.90)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	12.65 (11.48; 14.36)*	4.26 (4.17; 5.25)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	23.25 (8.47; 17.58)*	4.11 (2.65; 4.86)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	24.28 (20.45; 24.49)*	5.48 (4.73; 7.29)
% Casp3+ нейронів	15.27 (14.86; 16.56)*	3.67 (2.83; 5.36)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	51.24 (49.72; 65.95)	58.36 (55.83; 63.14)
ПВП+ПЦп, мкм ²	76.42 (73.51; 84.48)*	8.64 (6.38; 9.59)
ПЦп, мкм ²	67.30 (54.93; 71.38)*	7.83 (5.93; 8.95)
ПВП, мкм ²	74.27 (68.09; 86.43)*	9.45 (8.72; 10.36)
Кількість АТ, од.	4.00 (2.00; 6.00)	2.00 (1.50; 5.00)
Таламус		
ГХ експресія аміаку (А _{УООЩ})	57.65 (53.41; 87.16)*	19.25 (16.58; 19.72)
Шкала аміаку	++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	12.00 (9.00; 15.50)*	4.00 (3.00; 6.00)
Шкала АА2	II	0
ІГХ Експресія GFAP, S rel. %	11.68 (8.59; 12.42)*	6.36 (5.91; 6.79)
ІГХ Експресія GS, S rel. %	5.04 (4.83; 7.69)*	2.15 (1.73; 3.45)
ІГХ Експресія AQP4, S rel. %	6.85 (6.12; 7.09)*	1.43 (0.43; 1.68)
ІГХ Експресія CD68, S rel. %	8.38 (7.96; 9.39)*	3.63 (2.12; 3.97)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	10.05 (9.83; 11.46)*	2.72 (2.54; 3.69)
% Casp3+ нейронів	12.15 (10.83; 17.82)*	3.25 (2.74; 4.67)
ІГХ Експресія Syn, УООЩ	53.61 (51.73; 64.48)	60.48 (57.92; 65.35)
ПВП+ПЦп, мкм ²	105.33 (96.71; 108.44)*	10.06 (8.15; 11.45)
ПЦп, мкм ²	96.31 (84.52; 99.05)*	9.10 (8.14; 10.35)

Продовження таблиці 5.5

1	1	1
ПВП, мкм ²	103.04 (98.15; 106.64)*	11.47 (9.36; 12.02)
Кількість АТ, од.	4.00 (4.00; 5.00)*	2.00 (1.00; 3.00)
Смугасте тіло		
ГХ експресія амиаку (Ауоош)	51.64 (49.13; 75.58)*	18.46(15.69; 18.93)
Шкала амиаку	++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	11.50 (8.50; 12.00)*	3.00 (3.00; 5.00)
Шкала АА2	II	0
ГХ Експресія GFAP, S rel. %	12.67 (10.83; 15.95)*	6.23 (5.70; 7.84)
ГХ Експресія GS, S rel. %	3.72 (4.23; 6.35)*	1.84 (1.33; 2.12)
ГХ Експресія AQP4, S rel. %	7.16 (7.10; 9.98)*	1.95 (1.65; 2.43)
ГХ Експресія CD68, S rel. %	8.62 (7.59; 10.36)*	3.21 (2.67; 4.14)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	12.59 (11.75; 17.37)*	3.26 (2.46; 4.07)
% Casp3+ нейронів	15.35 (13.51; 16.82)*	4.37 (3.19; 5.72)
ГХ Експресія Syn, УООЩ	51.28 (48.82; 53.57)	54.72(51.12; 58.63)
ПВП+ПЦп, мкм ²	95.22 (92.48; 100.47)*	9.54 (9.32; 12.51)
ПЦп, мкм ²	84.37 (71.73; 91.46)*	9.83 (8.85; 12.84)
ПВП, мкм ²	93.16 (90.25; 96.08)*	10.85 (9.78; 13.56)
Кількість АТ, од.	4.50 (4.50; 5.50)*	2.50 (1.00; 4.00)
Мозочок		
ГХ експресія амиаку (Ауоош)	50.67 (47.42; 81.14)*	19.74(18.32; 19.83)
Шкала амиаку	++	-
Кількість астроцитів Альцгеймера 2 т. (АА2)	11.00 (9.00; 11.50)*	3.00 (4.00; 6.00)
Шкала АА2	II	0
ГХ Експресія GFAP, S rel. %	11.03 (9.52; 14.47)*	5.59 (5.18; 5.83)
ГХ Експресія GS, S rel. %	4.66 (3.11; 6.32)*	2.43 (0.63; 2.84)
ГХ Експресія AQP4, S rel. %	11.57 (10.05; 13.71)*	3.16 (2.47; 3.75)
ГХ Експресія CD68, S rel. %	9.42 (8.93; 10.51)*	3.25 (2.44; 4.34)
% CD68+ амебоїдних мікрогліоцитів	16.46 (15.35; 20.56)*	4.36 (3.64; 4.83)
% Casp3+ нейронів	12.57 (11.43; 16.14)*	4.25 (2.16; 5.24)
ГХ Експресія Syn, УООЩ	49.45 (45.68; 50.21)	51.37(48.63; 53.92)
ПВП+ПЦп, мкм ²	102.56 (99.64; 114.06)*	10.23 (9.98; 11.56)
ПЦп, мкм ²	91.25 (80.04; 93.31)*	10.56 (9.28; 11.51)
ПВП, мкм ²	103.03 (97.47; 112.16)* ^П	11.34(10.52; 12.43)
Кількість АТ, од.	4.00 (3.00; 5.50)*	2.00 (1.50; 2.00)

Примітка. (*) - достовірна різниця відносно контролю ($p < 0.05$). (П) - достовірна різниця між показниками ПЦп і ПВп. Ступінь експресії тканинного амиаку при УООЩ 0-20 - негативна («-»); 21-50 – слабка («+»); 51-100 – помірна («++»); 101 і вище – сильна («+++»). 4 ступеня АА2-астроцитозу: 1-5 АА2/20 СПЗ – 0 ступінь, відсутній; 6-10 – I ступінь, слабкий; 11-20 – II ступінь, помірний; від 21 і більше – III ступінь, виразний.

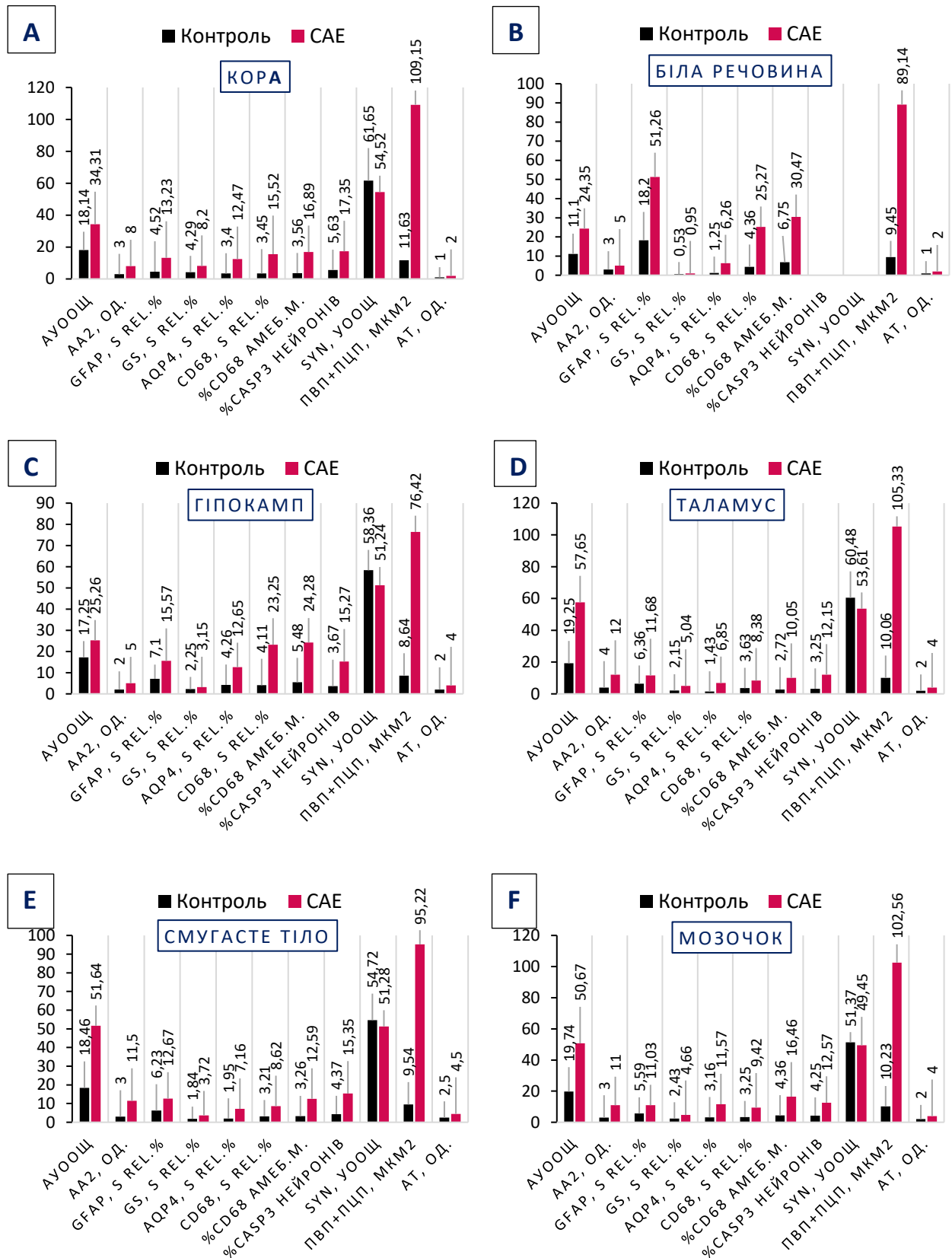


Рисунок 5.6 – Медіанні показники патоморфологічних параметрів кори ВПГМ (А), білої речовини ВПГМ (В), гіпокампу (С), таламусу (Д), смугастого тіла (Е), мозочку (F) померлих хворих групи «CAE» та групи контролю.

5.2.3 Морфометричні показники площі розширених периваскулярних і периваскулярних просторів головного мозку

В усіх досліджених відділах ГМ померлих хворих групи «САЕ» спостерігалось достовірне ($p < 0.05$) зростання (відносно показників групи контролю) площі розширених периваскулярних і периваскулярних просторів: в корі ВПГМ – в 9.3 рази; в білій речовині ВПГМ – в 9.4 рази; в гіпокампі – в 8.8 рази; в таламусі – в 10.4 рази; в смугастому тілі – в 9.9 разів; в мозочку – в 10 разів. При цьому в корі і білій речовині ВПГМ та мозочку спостерігалось ($p < 0.05$) перевищення показників площі периваскулярних просторів над показниками периваскулярних, а в інших відділах ГМ відзначена тенденція до такого співвідношення (див. табл. 5.5, рис. 5.6).

5.2.4 Гістохімічний рівень тканинного аміаку в головному мозку померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією

У 53% померлих хворих групи «САЕ» в 5-х з шести досліджених відділів ГМ слабка та помірна дрібногранулярна експресія аміаку достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники «негативної» експресії групи померлих умовного контролю: в корі ВПГМ – на 89.14%; в гіпокампі – на 46.43%; в таламусі – на 199.48%; в смугастому тілі – на 179.73%; в мозочку – на 156.68% (див. табл. 5.5; див. рис. 5.6, рис. 5.7). При цьому ГХ експресія аміаку в корі ВПГМ та гіпокампі була слабкою («+»), а в таламусі та мозочку – помірною («++»). В білій речовині ВПГМ відзначалася лише тенденція до підвищення експресії аміаку, що не мала статистичної достовірності ($p > 0.05$). Порівняння частоти наявності підвищеного рівня аміаку та А2-астроцитозу в таламусі серед померлих хворих групи «САЕ» в порівнянні з даними померлих осіб групи контролю представлено в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 - Частота підвищеної ГХ експресії аміаку та А2-астроцитозу в таламусі серед померлих хворих з САЕ та померлих групи контролю

Показник	Група «САЕ»	Контрольна група
Частота підвищеного рівня аміаку в таламусі	21/40 (53%)	Не виявлено
Частота наявного А2-астроцитозу в таламусі	23/40 (58%)	Не виявлено

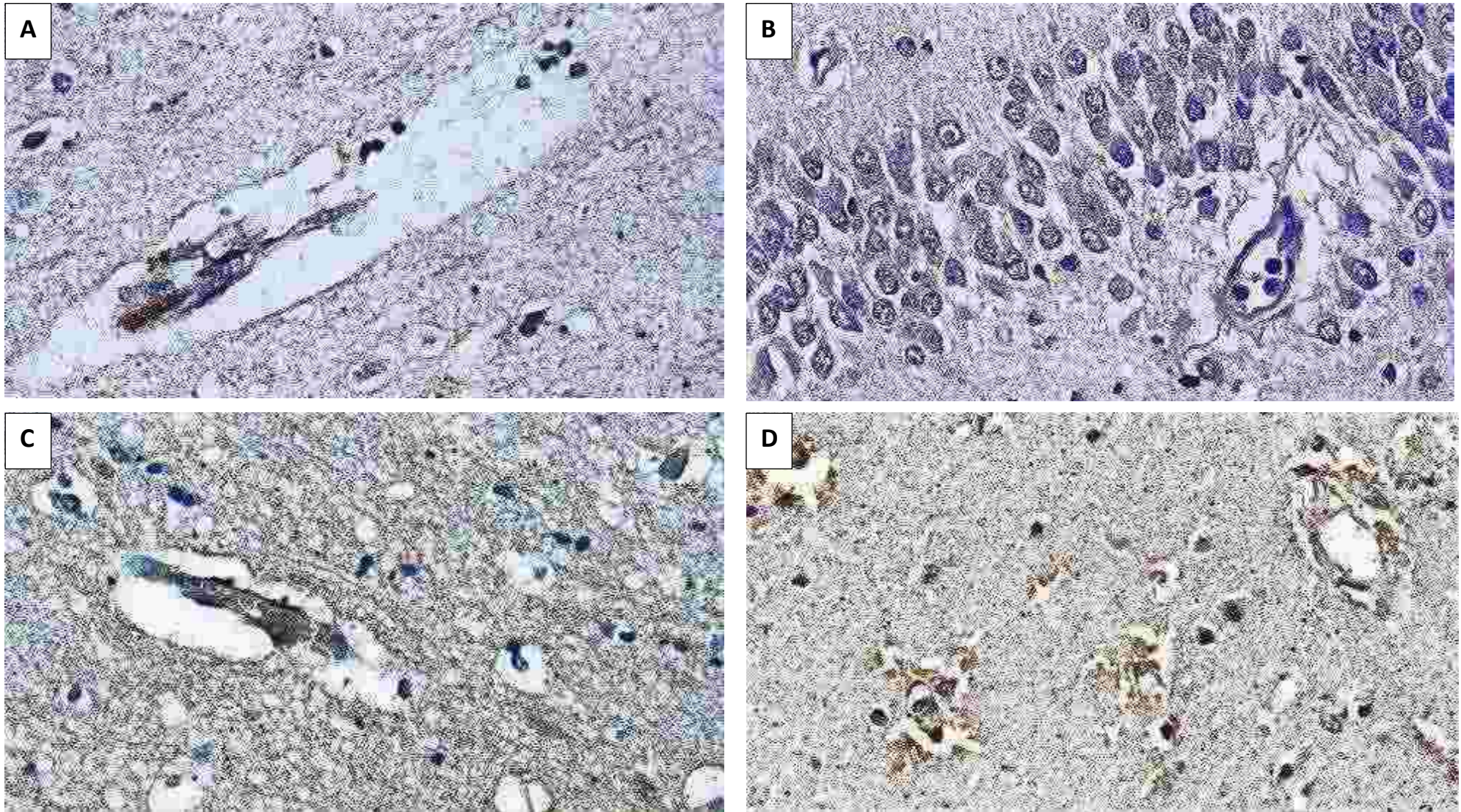


Рисунок 5.7 – слабка («+») експресія аміаку в корі ВПГМ (А) і 33Г (В) та помірна («++») експресія аміаку в таламусі (С) і в мозочку (D) померлих хворих з САЕ. ГХ реакція з реактивом Несслера. Зб. х 400.

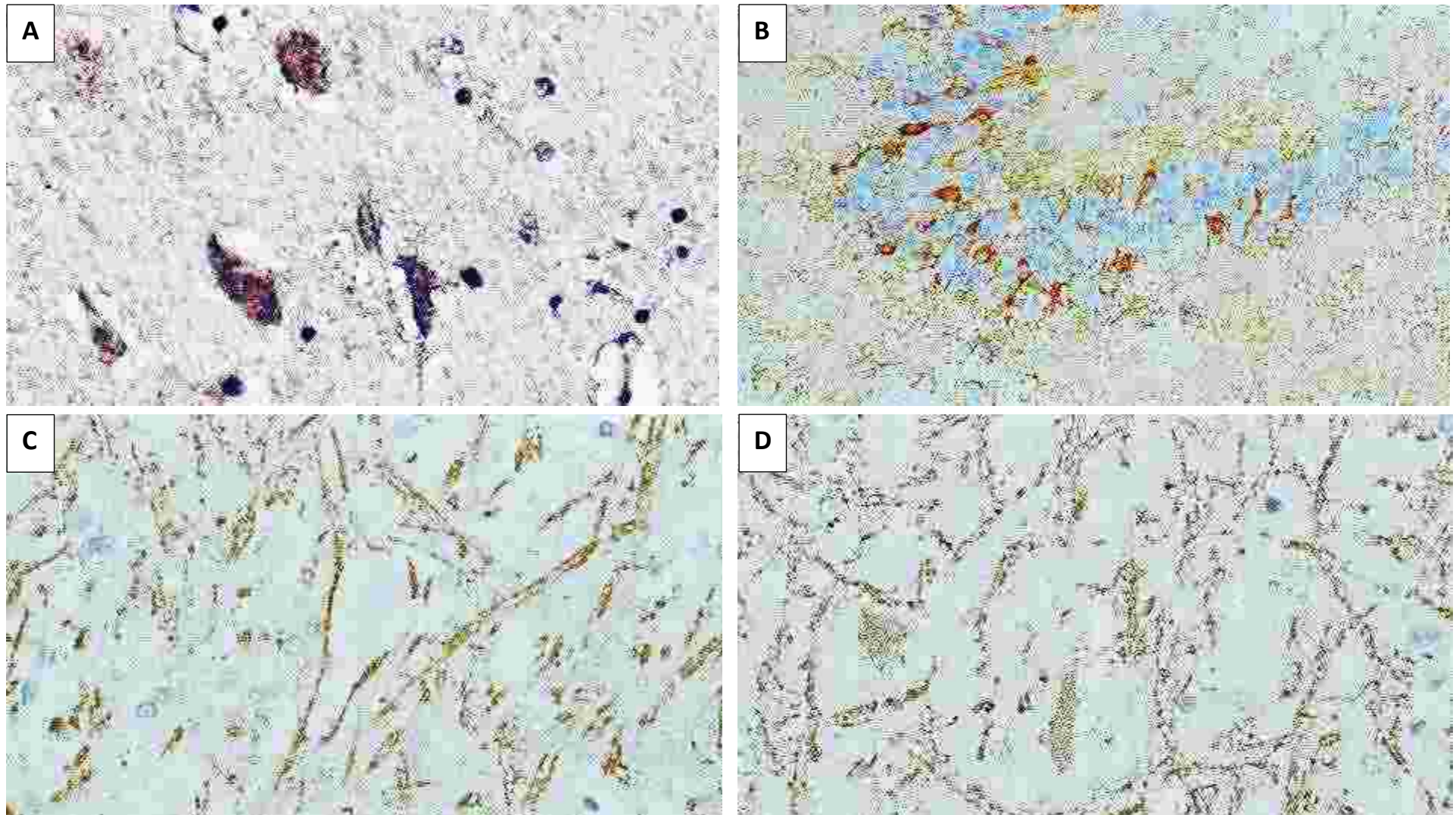


Рисунок 5.8 – Експресія Caspase3 в нейронах таламусу (A) та гіпокампу (B); експресія Synaptophysin в нейронах таламусу (C, D) ГМ померлих хворих з САЕ. 3б. x400, x200.

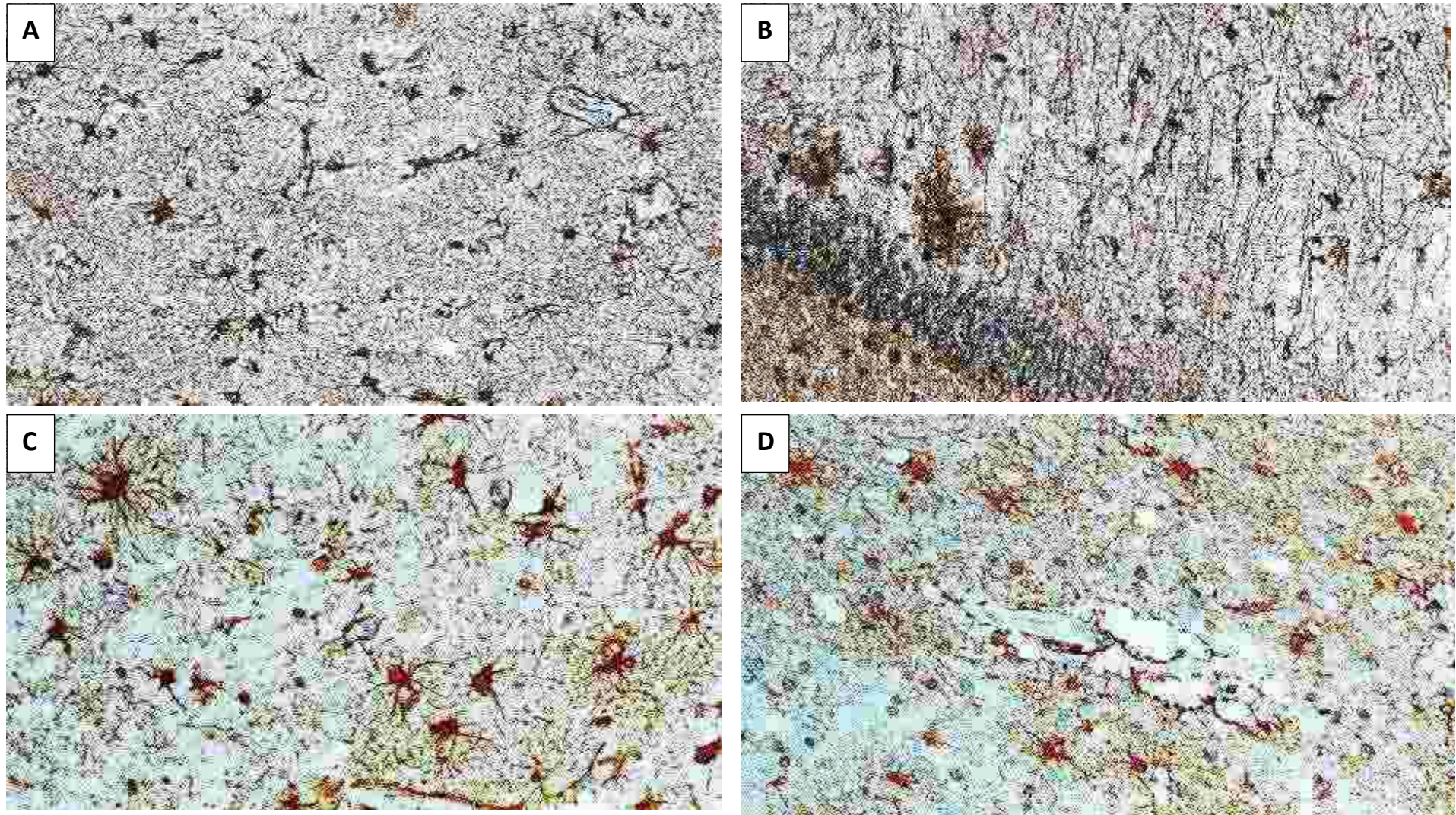


Рисунок 5.9 –Експресія GFAP в астроцитах кори ВПГМ (А) та гіпокампу (В); Експресія GS в астроцитах кори ВПГМ (С) та смугастого тіла (D) ГМ померлих хворих з САЕ. 3б. x400, x200.

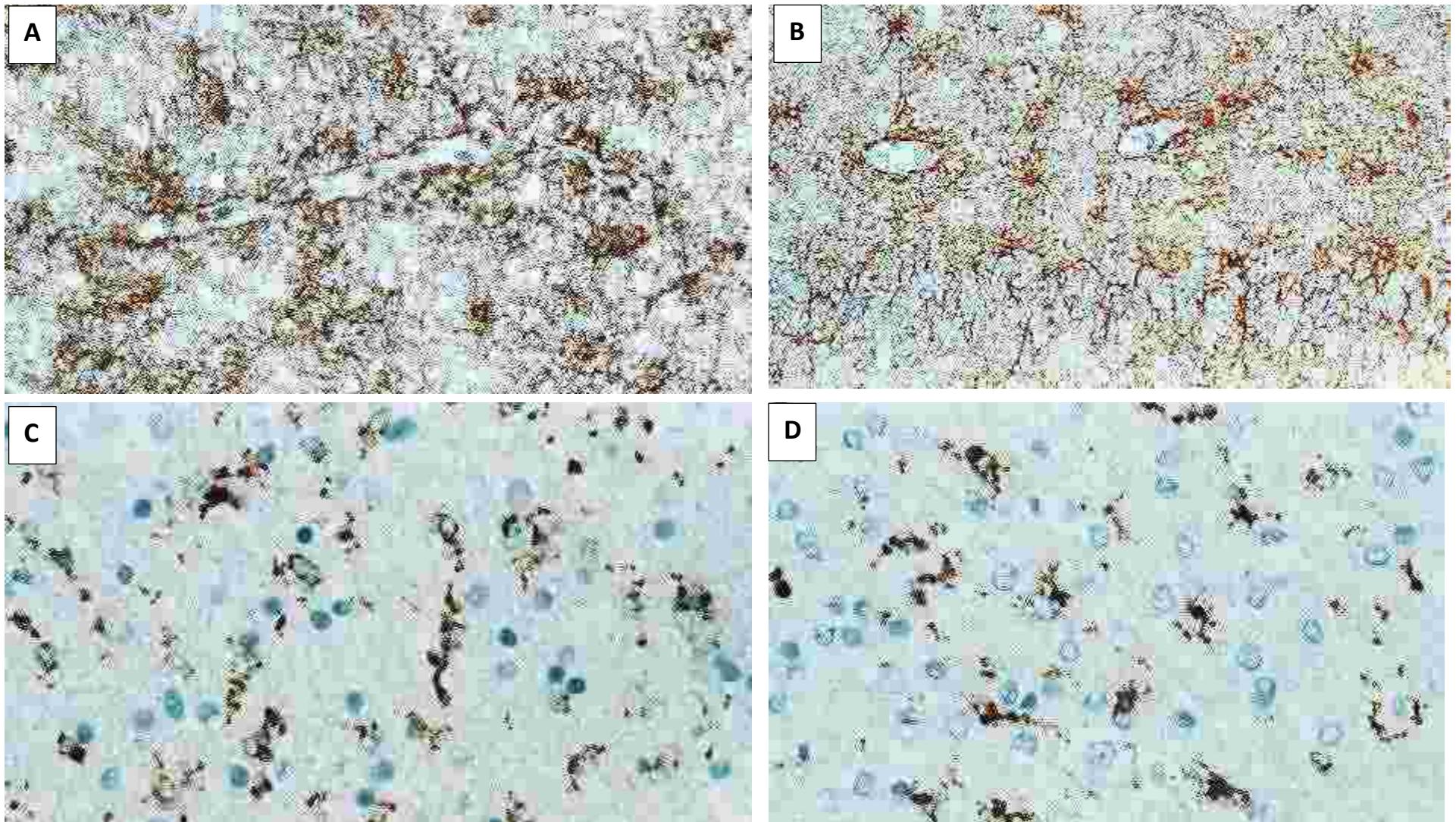


Рисунок 5.10 - **(А)** Експресія AQP4 в астроцитах білої речовини ВПГМ; **(В)** Експресія AQP4 в астроцитах гіпокампу; **(С)** Експресія CD68 в мікроглії кори; **(D)** Експресія CD68 в мікроглії білої речовини ВПГМ померлих хворих з САЕ. 36. x400.

5.2.5 Імуногістохімічне дослідження гліонейроваскулярного комплексу померлих хворих на абдомінальний сепсис з сепсис-асоційованою енцефалопатією

Зміни мікроциркуляції в тканині ГМ на тлі порушень системної гемодинаміки та зриву ауторегуляції мозкового кровообігу в поєднанні з помірним підвищенням рівня тканинного аміаку в ГМ померлих хворих групи «САЕ» було асоційоване з наявністю ішемічно-змінених та апоптотичних нейронів в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі і мозочку. При ІГХ дослідженні виявлено достовірно ($p < 0.05$) вищий відносно контролю відсоток Caspase 3-позитивних нейронів в стані апоптозу: в корі ВПГМ – в 3 рази; в гіпокампі – в 4 рази; в таламусі – в 3.7 рази; в смугастому тілі – в 3.5 рази; в мозочку – в 2.9 рази (див. табл. 5.5, див. рис. 5.6, див. рис. 5.8). Окрім ознак нейрональної загибелі у вказаних відділах ГМ померлих хворих групи «САЕ» реєструвалися ознаки незначної тенденції ($p > 0.05$) до зниження (відносно контролю) нейрональної синаптичної передачі за рівнем оптичної щільності Synaptophysin (див. табл. 5.5, див. рис. 5.6, див. рис. 5.8).

У відповідь на системне запалення і нейротоксикоз в ГМ померлих хворих групи «САЕ» спостерігалися суттєві реактивні зміни в астроцитах. Зокрема, визначалася достовірно ($p < 0.05$) підвищена відносно контролю експресія GFAP у всіх вивчених відділах ГМ померлих хворих з САЕ: в корі ВПГМ – в 2.9 рази; в білій речовині ВПГМ – в 2.8 рази; в гіпокампі – в 2.2 рази; в таламусі – в 1.8 рази; в смугастому тілі – в 2 рази; в мозочку – в 1.9 рази (див. табл. 5.5, див. рис. 5.6, див. рис. 5.9).

Одночасно з цим достовірно ($p < 0.05$) вища (відносно контролю) експресія астроцит-специфічного GS в ГМ померлих хворих групи «САЕ» була визначена в корі ВПГМ – в 1.9 рази; в білій речовині ВПГМ – в 1.8 рази; в таламусі – в 2.3 рази; в смугастому тілі – в 2 рази; в мозочку – в 1.9 рази (див. табл. 5.5, див. рис. 5.6, див. рис. 5.9). В гіпокампі експресія GS

характеризувалася лише тенденцією ($p > 0.05$) до підвищення відносно контрольних показників.

Експресія основного білку водних каналів AQP4 в ГМ померлих хворих групи «САЕ» також характеризувалася достовірним ($p < 0.05$) підвищенням відносно контрольних значень: в корі ВПГМ – в 3.6 рази; в білій речовині ВПГМ – в 5 разів; в гіпокампі – в 2.9 рази; в таламусі – в 4.8 рази; в смугастому тілі – в 3.7 рази; в мозочку – в 3.6 рази (див. табл. 5.5; див. рис. 5.6, див. рис. 5.10).

Виразні реактивні зміни спостерігалися і в мікроглії. Відносна площа експресії CD68 позасудинною мікроглією була значно і достовірно ($p < 0.05$) підвищеною відносно контрольних показників: в корі ВПГМ – в 4.5 рази; в білій речовині ВПГМ – в 5.8 рази; в гіпокампі – в 5.6 рази; в таламусі – в 2.3 рази; смугастому тілі – в 2.7 рази; в мозочку – в 2.9 рази (див. табл. 5.5; див. рис. 5.6, див. рис. 5.10). При цьому відсоткова частка CD68⁺ амебоїдної мікроглії також була істотно і достовірно ($p < 0.05$) підвищеною за контрольні значення у всіх зазначених відділах ГМ: в корі ВПГМ – в 4.7 рази; в білій речовині ВПГМ – в 4.5 рази; в гіпокампі – в 4.3 рази; в таламусі – в 3.7 рази; в смугастому тілі – в 3.9 рази; в мозочку – в 3.7 рази (див. табл. 5.5; див. рис. 5.6, див. рис. 5.10).

5.3 Порівняльна характеристика рівнів мозкового тканинного аміаку і морфо-функціонального стану астроглії у померлих септичних хворих з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки, септичних хворих без сепсис-асоційованого пошкодження печінки та померлих хворих групи контролю

Порівняльний патоморфологічний аналіз тканини ГМ померлих хворих підгруп «САПП», «бСАПП» і групи контролю виявив суттєві відмінності, які можуть вказувати на взаємозв'язок аміак-обумовленого морфо-функціонального ремоделювання астроглії ГМ з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки у хворих на абдомінальний сепсис (табл. 5.7, рис. 5.11).

В групі «САЕ» підвищена експресія тканинного аміаку в ГМ визначалася у 21 (53%) померлого хворого і в 95% випадків (20 із 21 померлих хворих) асоціювалася з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки. Визначено, що для когорти хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «бСАПП» характерне незначне, слабкого рівня («+») достовірне ($p < 0.05$) підвищення медіанних значень ГХ експресії аміаку відносно контрольних значень тільки в таламусі, смугастому тілі та мозочку (підвищення на 29.76%; на 20.53%; на 17.22%, відповідно). При цьому в корі, білій речовині ВПГМ та гіпокампі експресія аміаку залишалася на рівні контрольних значень і була розцінена як «відсутня експресія» («-»). В той же час, когорта хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «САПП» характеризувалася медіанними значеннями ГХ експресії аміаку, що достовірно ($p < 0.05$) перевищували показники і групи контролю, і підгрупи «бСАПП» в усіх досліджуваних відділах ГМ. Так, експресія аміаку в ГМ померлих хворих підгрупи «САПП» помірного («++») рівню перевищувала контрольні значення: в таламусі – в 4.3 рази; в мозочку – в 4.2 рази; в смугастому тілі – в 3.5 рази; в корі ВПГМ – в 3.1 рази; а слабка експресія («+») аміаку була підвищеною в гіпокампі – в 2.7 рази; в білій речовині ВПГМ – в 1.9 рази.

Дослідження виразності А2-астроцитозу показало, що в ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «бСАПП» достовірно ($p < 0.05$) підвищення кількості астроцитів Альцгеймера 2 типу відзначалося тільки в корі ВПГМ та в таламусі (в 2.32 рази, та в 1.53 рази, відповідно), і воно відповідало слабкому (І ступеню) А2-астроцитозу. В ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «САПП» кількість АА2 в усіх досліджених відділах ГМ достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники і підгрупи «бСАПП» і групи контролю. Так, помірний, ІІ ступеню А2-астроцитоз в ГМ померлих хворих підгрупи «САПП» перевищував контрольні значення: в корі ВПГМ – в 3.58 рази; в смугастому тілі – в 3.23 рази; в таламусі – в 3.07 рази; в мозочку – в 2.94 разів; а в білій речовині ВПГМ і в гіпокампі слабкий, І

ступеню А2-астроцитоз перевищував контрольні значення в 2.32 рази та в 2.29 рази (відповідно).

У всіх шести досліджених відділах ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «бСАПП» визначено значне і статистично достовірне зростання показників ІГХ експресії GFAP (відносно контрольної групи) з найбільшим підвищенням експресії в корі ВПГМ – в 8.46 рази, менш вираженим підвищенням у гіпокампі (в 4.58 рази), в білій речовині ВПГМ (в 3.1 рази), в смугастому тілі (в 2.86 рази), в мозочку (в 2.8 рази) і найменшим – в таламусі (в 2.32 рази). Між тим, експресія GFAP в ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «САПП» була значно ($p < 0.05$) слабшою (порівняно з підгрупою «бСАПП») у всіх досліджених відділах ГМ, і тільки в корі ВПГМ експресія GFAP достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники контролю (в 2.24 рази). У таламусі, стріатумі та мозочку померлих хворих підгрупи «САПП» експресія GFAP була значно ($p < 0.05$) нижчою, порівняно з показниками кори і білої речовини ВПГМ та ЗЗГ.

Таблиця 5.7 – Показники ІГХ експресії GFAP, GS та AQP4, ГХ експресії аміаку, шкала аміаку, кількість АА2, шкала А2-астроцитозу в ГМ померлих хворих підгруп «бСАПП», «САПП» та контролю

Відділ мозку	«бСАПП»	«САПП»	Контроль
1	2	3	4
GFAP, Srel. (%)			
Кора ВПГМ	38.26 (27.32; 55.72)*	10.16 (8.52; 12.49)*†	4.52 (4.23; 5.57)
Біла речовина	56.47 (45.24; 64.89)*	21.32 (15.58; 23.29)†	18.20 (17.11; 18.43)
Гіпокампі	32.57 (29.16; 48.23)*	9.47 (7.34; 11.65)†	7.10 (6.58; 7.89)
Таламус	14.79 (12.59; 20.45)*	4.29 (4.11; 6.95)†	6.36 (5.91; 6.79)
Смугасте тіло	17.83 (15.45; 22.48)*	4.48 (4.27; 7.45)†	6.23 (5.70; 7.84)
Мозочок	15.68 (14.36; 21.34)*	4.69 (4.36; 6.69)†	5.59 (5.18; 5.83)
GS, Srel. (%)			
Кора ВПГМ	5.37 (4.59; 6.17)	13.74 (8.72; 14.23)*†	4.29 (2.26; 5.63)
Біла речовина	0.59 (0.45; 1.23)	1.12 (0.77; 1.95) *	0.53 (0.34; 0.60)
Гіпокампі	2.34 (2.18; 3.49)	5.92 (4.74; 6.73)*†	2.25 (0.53; 3.90)
Таламус	4.23 (3.72; 5.06)*	6.85 (5.58; 7.93)*†	2.15 (1.73; 3.45)
Смугасте тіло	2.29 (1.93; 4.47)	5.72 (5.09; 7.45)*†	1.84 (1.33; 2.12)
Мозочок	3.15 (2.96; 4.82)*	7.41 (7.11; 8.52)*†	2.43 (0.63; 2.84)
AQP4, Srel. (%)			
Кора ВПГМ	10.22 (9.79; 11.23)*	13.93 (12.54; 15.71)*†	3.40 (3.22; 4.25)
Біла речовина	3.47 (3.10; 4.96)*	5.27 (5.07; 6.38) †	1.25 (0.75; 1.34)

Продовження таблиці 5.7

1	2	3	4
Гіпокампі	9.45 (8.83; 10.15)*	13.26 (12.27; 14.84)*†	4.26 (4.17; 5.25)
Таламус	3.84 (3.52; 5.93)*	6.25 (6.17; 7.65)*†	1.43 (0.43; 1.68)
Смугасте тіло	4.12 (3.81; 5.58)*	8.16 (7.23; 9.45)*†	1.95 (1.65; 2.43)
Мозочок	9.25 (8.28; 10.35)*	11.58 (11.18; 13.46)*†	3.16 (2.47; 3.75)
ГХ експресія аміаку (УООЩ) і шкала аміаку			
Кора ВПГМ	19.11 (12.32; 20.45)	56.23 (52.56; 65.81)*†	18.14(15.26; 19.53)
	-	++	-
Біла речовина	12.47 (11.15; 16.25)	21.62 (21.98; 23.64)*†	11.10(10.34; 14.26)
	-	+	-
Гіпокампі	18.12 (15.57; 19.37)	46.25 (36.45; 47.15)*†	17.25(14.68; 18.72)
	-	+	-
Таламус	24.98 (21.43; 25.21)*	83.47 (68.54; 87.45) *†	19.25(16.58; 19.72)
	+	++	-
Смугасте тіло	22.25 (21.69; 23.60)*	65.23 (57.38; 74.37)*†	18.46(15.69; 18.93)
	+	++	-
Мозочок	23.14 (21.73; 24.81)*	84.45 (73.36; 85.21) *†	19.74(18.32; 19.83)
	+	++	-
Кількість АА2 і шкала А2-астроцитозу			
Кора ВПГМ	7.20 (6.50; 8.30)*	11.10 (10.00; 12.40)*†	3.10 (1.20; 4.50)
	I	II	0
Біла речовина	3.50 (2.90; 5.20)	7.90 (6.50; 9.70)*†	3.40 (1.80; 4.30)
	0	I	0
Гіпокампі	3.20 (1.70; 3.80)	6.20 (6.10; 9.00)*†	2.70 (1.50; 3.20)
	0	I	0
Таламус	6.30 (6.00; 9.30)*	12.60 (11.60; 15.30)*†	4.10 (3.70; 5.20)
	I	II	0
Смугасте тіло	4.60 (3.90; 5.80)	12.30 (11.00; 17.80)*†	3.80 (3.20; 5.90)
	0	II	0
Мозочок	5.10 (4.10; 5.90)	11.50 (11.20; 14.20)*†	3.90 (3.80; 5.70)
	0	II	0

Примітка: (*) - достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$). (†) - достовірні відмінності між групами «бСАПП» та «САПП» в одному відділі ГМ ($p < 0.05$).

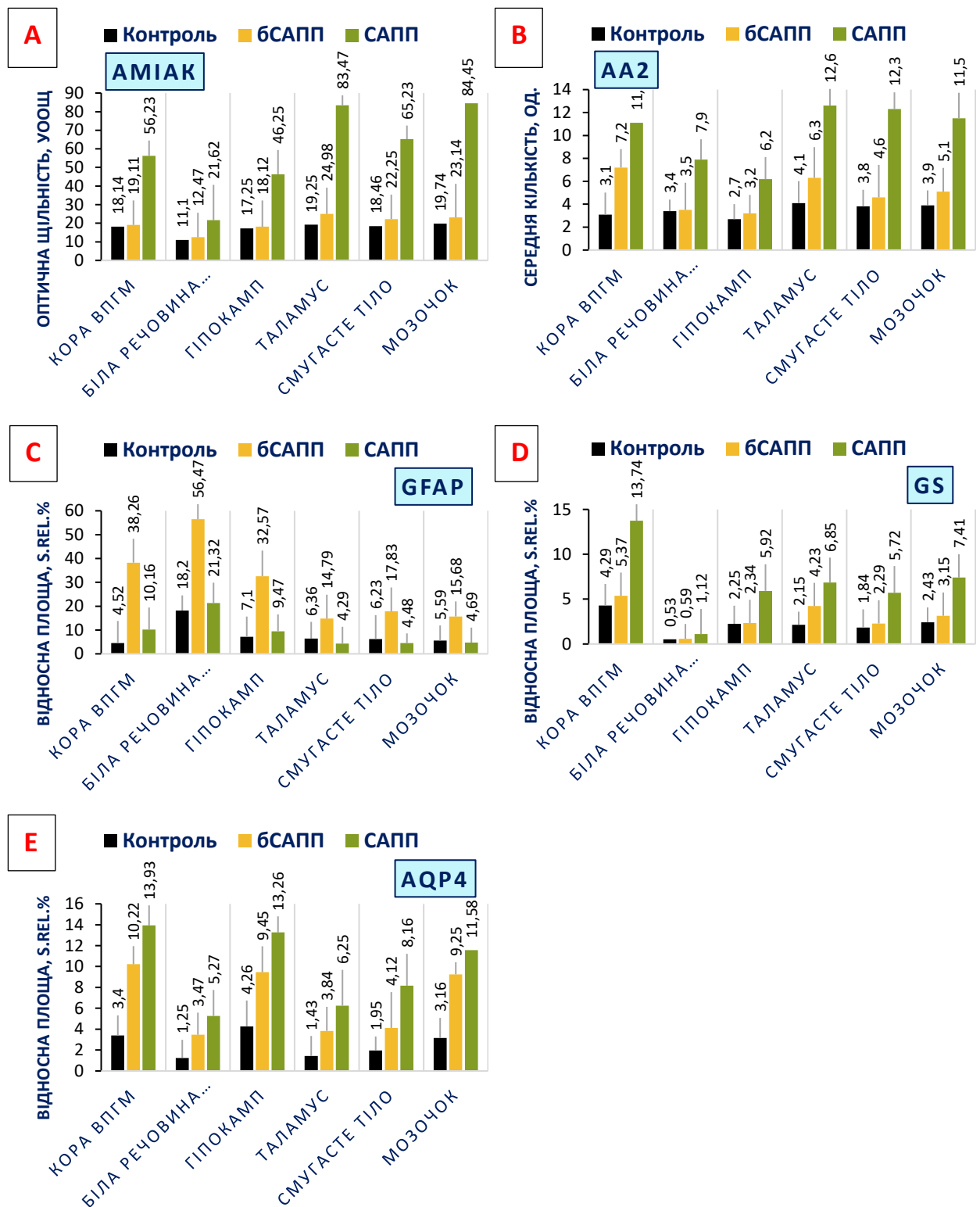


Рисунок 5.11 – Медіани ГХ експресії аміаку (А), кількості АА2 (В) та ІГХ експресії GFAP (С), GS (D), AQP4 (Е) в різних відділах ГМ померлих хворих підгруп «бСАПП», «САПП» та групи контролю.

В ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «бСАПП» ІГХ експресія GS була достовірно ($p < 0.05$) підвищеною відносно контрольних значень тільки в таламусі та мозочку (на 96.74% та на 29.62% відповідно).

Експресія GS в ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «САПП» достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники не тільки групи контролю, але і підгрупи «бСАПП» в усіх досліджуваних відділах ГМ за винятком білої речовини ВПГМ, де показники експресії GS перевищували лише контрольні. Так, в ГМ померлих хворих підгрупи «САПП» експресія GS перевищувала показники групи контролю: у корі ВПГМ – в 3.2 рази; в білій речовині ВПГМ – в 2.11 рази; в гіпокампі – в 2.63 рази; в таламусі – в 3.18 рази; в смугастому тілі – в 3.10 рази; в мозочку – в 3.04 рази (див.табл. 5.7, див. рис. 5.11).

Рівень ІГХ експресії AQP4 в ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «бСАПП» виявився достовірно ($p < 0.05$) вище рівня контрольних значень: в корі ВПГМ – в 3 рази; білій речовині ВПГМ – в 2.77 рази; в гіпокампі – в 2.21 рази; в таламусі – в 2.16 рази; в смугастому тілі – в 2.11 рази; в мозочку – в 2.92 рази. Рівні експресії AQP4 в ГМ померлих хворих на абдомінальний сепсис підгрупи «САПП» достовірно ($p < 0.05$) перевищували показники померлих хворих як підгрупи «бСАПП», так і групи контролю. Експресія AQP4 в ГМ померлих хворих підгрупи «САПП» перевищувала показники групи контролю в корі ВПГМ – в 4.09 рази; в білій речовині ВПГМ – в 4.21 рази; в гіпокампі – в 3.11 рази; в таламусі – в 4.37 рази; в смугастому тілі – в 4.18 рази; в мозочку – в 3.66 рази (див.табл. 5.7, див. рис. 5.11).

ROC-аналіз. У зв'язку з тим, що у всіх померлих хворих на абдомінальний сепсис були прижиттєві ознаки САЕ, дана вибірка була нерепрезентативною для проведення ROC-аналізу і визначення ретроспективної цінності посмертних рівнів тканинного аміаку в ГМ щодо асоціації їх з клінічними проявами САЕ. Також у зв'язку з тим, що первинний набір матеріалу передбачав 50% випадків з сепсис-асоційованим ураженням печінки, ROC-аналіз взаємозв'язків прижиттєвих лабораторних параметрів крові з рівнями тканинного аміаку в ГМ померлих хворих також не міг бути об'єктивним, тому не проводився.

5.4 Порівняння патоморфологічних параметрів сепсис-асоційованої енцефалопатії померлих хворих на абдомінальний сепсис та важкої G 3-4 печінкової енцефалопатії підгрупи «ГХПечН»

Порівнюючи між собою схожі за клініко-патогенетичними умовами розвитку САЕ і важку G3-4 печінкову енцефалопатію, що розвивається в умовах синдрому ГХПечН, було визначено, що досліджені нами патоморфологічні параметри ГМ померлих хворих мають суттєві міжгрупові статистично значущі відмінності, а саме (рис. 5.12):

➤ **Достовірно ($p < 0.05$) більш високі показники в підгрупі «ГХПечН» відносно групи «САЕ» спостерігалися серед наступних параметрів:**

1. Медіанний рівень ГХ експресії тканинного **аміаку** був вище в усіх досліджених відділах ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: в корі ВПГМ – в 2.10 разів [72.15 (69.32; 77.45) vs 34.31 (25.73; 62.12)]; білій речовині ВПГМ – в 1.32 разів [24.35 (23.41; 25.65) vs 18.32 (14.12; 22.81)]; гіпокампі – в 2.35 разів [59.53 (55.72; 63.47) vs 25.26 (21.73; 34.56)]; таламусі – в 1.94 разів [112.04 (106.74; 115.25) vs 57.65 (53.41; 87.16)]; смугастому тілі – в 2.00 разів [103.46 (101.12; 107.29) vs 51.64 (49.13; 75.58)]; мозочку – в 2.33 разів [118.45 (110.29; 121.62) vs 50.67 (47.42; 81.14)].
2. Відносна площа GS-імунопозитивного матеріалу виявилася достовірно більшою в трьох з шести досліджених відділів ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: в корі ВПГМ – в 1.98 разів [16.27 (14.31; 18.43) vs 8.20 (7.11; 12.53)]; гіпокампі – в 2.04 разів [6.43 (6.27; 9.32) vs 3.15 (3.02; 5.23)] та мозочку – в 1.57 разів [7.32 (6.56; 9.25) vs 4.66 (3.11; 6.32)]. Показники експресії GS в білій речовині ВПГМ, таламусі і смугастому тілі не мали достовірних відмінностей від групи «САЕ» ($p > 0.05$).
3. Відносна площа експресії астроцитарного AQP4 виявилася достовірно більшою лише в тканині таламусу померлих хворих підгрупи «ГХПечН» – в 1.21 рази [8.32 (7.57; 9.37) vs 6.85 (6.12; 7.09)]. У корі, гіпокампі та смугастому тілі померлих хворих визначалася лише тенденція ($p > 0.05$) до більш високих

показників експресії AQP4 в підгрупі «ГХПечН» відносно показників підгрупи «СAE».

4. Кількість AA2 була статистично більшою у всіх досліджених відділах ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН» порівняно з підгрупою «СAE»: в корі ВПГМ – в 3.12 разів [25.00 (21.50; 26.00) vs 8.00 (5.00; 12.00)]; білій речовині ВПГМ – в 2.80 разів [14.00 (13.00; 16.00) vs 5.00 (4.50; 6.00)]; гіпокампі – в 1.6 разів [8.00 (7.00; 9.00) vs 5.00 (4.00; 6.00)]; таламусі – в 3.08 разів [37.00 (22.50; 56.00) vs 12.00 (9.00; 15.50)]; смугастому тілі – в 2.34 разів [27.00 (24.50; 47.00) vs 11.50 (8.50; 12.00)]; мозочку – в 3 разів [33.00 (28.00; 54.00) vs 11.00 (9.00; 11.50)].

5. Кількість амілоїдних тілець була статистично більшою в ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: в корі ВПГМ – в 2.5 разів [5.00 (4.00; 6.00) vs 2.00 (1.00; 3.00)]; таламусі – в 1.75 разів [7.00 (6.00; 9.00) vs 4.00 (4.00; 5.00)] та мозочку – в 1.75 разів [7.00 (6.50; 10.00) vs 4.00 (3.00; 5.50)].

➤ **Достовірно ($p < 0.05$) більш високі показники в групі «СAE» відносно підгрупи «ГХПечН» спостерігалися серед наступних параметрів:**

1. Площа експресії GFAP була достовірно більшою в групі «СAE»: в корі ВПГМ – в 10.66 разів [13.23 (12.67; 22.65) vs 1.24 (0.42; 1.38)]; білій речовині ВПГМ – в 10.03 разів [51.26 (46.85; 53.41) vs 5.11 (4.74; 6.34)]; гіпокампі – в 6.08 разів [15.57 (14.69; 18.14) vs 2.56 (2.28; 3.61)]; таламусі – в 6.71 разів [11.68 (8.59; 12.42) vs 1.74 (1.06; 1.86)]; смугастому тілі – в 8.07 разів [12.67 (10.83; 15.95) vs 1.57 (1.05; 1.77)]; мозочку – в 5.86 разів [11.03 (9.52; 14.47) vs 1.88 (1.75; 2.03)].

2. Площа позасудинної експресії CD68 в групі «СAE» перевищувала показники підгрупи «ГХПечН»: в корі ВПГМ – в 2.09 разів [15.52 (11.43; 16.68) vs 7.41 (6.56; 7.83)], в білій речовині ВПГМ – в 2.90 разів [25.27 (19.66; 28.59) vs 8.69 (6.48; 9.39)]; в гіпокампі – в 3.60 разів [23.25 (8.47; 17.58) vs 6.45 (5.58; 7.37)]; в таламусі – в 1.47 разів [8.38 (7.96; 9.39) vs 5.69 (4.47; 6.14)]; в

смукастому тілі – в 1.57 разів [8.62 (7.59; 10.36) vs 5.47 (4.86; 5.89)]; в мозочку – в 1.47 разів [9.42 (8.93; 10.51) vs 6.37 (5.59; 6.85)].

3. Відсоток CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів був вищим: в корі ВПГМ – в 2.75 разів [16.89 (10.25; 19.32) vs 6.12 (4.45; 7.24)]; в білій речовині ВПГМ – в 3.25 разів [30.47 (18.86; 33.56) vs 9.35 (9.12; 12.05)]; в гіпокампі – в 2.90 разів [24.28 (20.45; 24.49) vs 8.35 (7.28; 13.26)]; в таламусі – в 2.23 разів [10.05 (9.83; 11.46) vs 4.50 (4.15; 9.42)]; в смукастому тілі – в 2.96 разів [12.59 (11.75; 17.37) vs 4.25 (4.12; 7.86)]; в мозочку – в 2.64 разів [16.46 (15.35; 20.56) vs 6.23 (5.68; 11.45)].

4. Відсоток Caspase3⁺-нейронів виявився більшим: в корі ВПГМ – в 1.33 рази [17.35 (12.16; 18.12) vs 13.02 (11.37; 14.56)]; в гіпокампі – в 1.45 разів [15.27 (14.86; 16.56) vs 10.46 (9.24; 13.58)]; смукастому тілі – в 1.46 разів [15.35 (13.51; 16.82) vs 10.48 (7.46; 11.72)]; мозочку – в 1.35 разів [12.57 (11.43; 16.14) vs 9.26 (7.48; 10.36)]. В таламусі показники частки Casp3⁺-нейронів між групою «САЕ» та підгрупою «ГХПечН» статистично не відрізнялися ($p > 0.05$).

5. Незважаючи на більшу кількість апоптотичних нейронів в групі «САЕ», експресія синаптофізину в ГМ померлих цієї когорти була достовірно вищою: в корі ВПГМ – в 1.68 разів [54.52 (50.86; 67.38) vs 32.45 (30.97; 35.51)]; гіпокампі – в 1.45 разів [51.24 (49.72; 65.95) vs 35.62 (33.69; 37.59)]; таламусі – в 1.94 разів [53.61 (51.73; 64.48) vs 27.54 (25.68; 34.56)]; смукастому тілі – в 1.72 разів [51.28 (48.82; 53.57) vs 29.67 (27.51; 38.48)]; мозочку – в 1.31 разів [49.45 (45.68; 50.21) vs 37.64 (32.54; 41.83)].

6. Площа периваскулярних і перицелюлярних просторів була більшою: в корі ВПГМ – в 1.06 разів [109.15 (106.45; 110.46) vs 102.64 (81.69; 105.68)]; білій речовині ВПГМ – в 1.16 разів [89.14 (84.58; 95.45) vs 76.57 (69.41; 81.35)]; гіпокампі – в 1.17 разів [76.42 (73.51; 84.48) vs 65.23 (61.37; 68.24)]. В таламусі, смукастому тілі та мозочку показники площі набрякових просторів не мали достовірної різниці між групами ($p > 0.05$).

7. Тенденція ($p > 0.05$) до більш високої експресії AQP4 спостерігалася в білій речовині ВПГМ та мозочку.

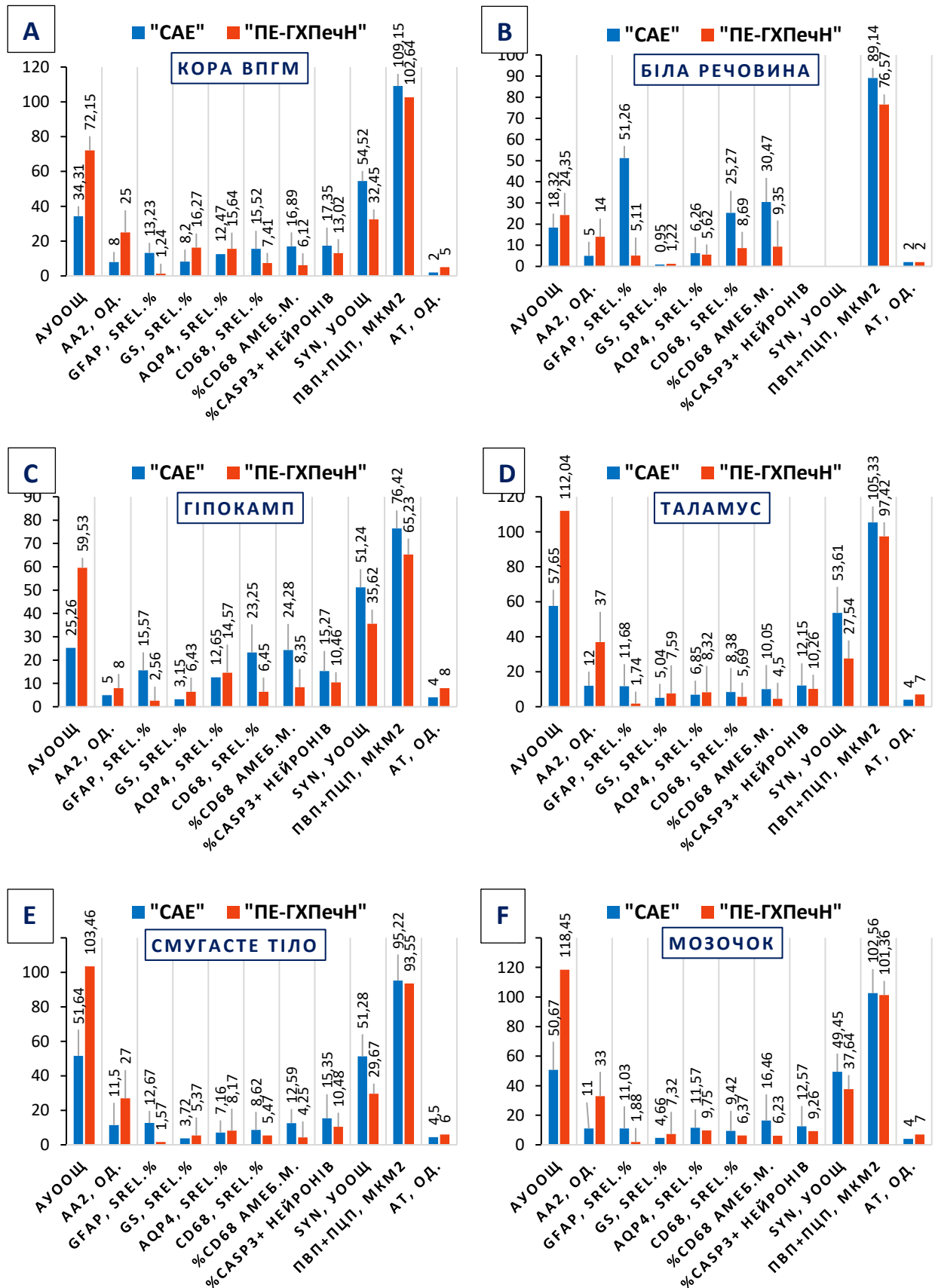


Рисунок 5.12 – Медіанні показники патоморфологічних параметрів кори ВПГМ (А), білої речовини ВПГМ (В), гіпокампу (С), таламусу (Д), смугастого тіла (Е), мозочку (F) померлих хворих групи «CAE» та підгрупи «ГХПечН».

5.4.1 Порівняння частот патоморфологічних ознак, що були наявні в ГМ серед померлих хворих при важкій печінковій енцефалопатії G3-4 на тлі ГХПечН та при сепсис-асоційованій енцефалопатії

Порівняльний аналіз патогістологічних і гістохімічних показників мозкової тканини, що найбільш доступні для мікроскопічної посмертної диференційної діагностики САЕ при абдомінальному сепсисі і важкої ПЕ при синдромі ГХПечН, дозволив виявити різницю в частоті наявності їх в ГМ серед померлих хворих:

1. Частота наявних вогнищ запустіння мікросудин кори ВПГМ була достовірно вище в ГМ серед померлих хворих на сепсис групи «САЕ» порівняно з показниками померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: 26/40 (65%) vs 8/21 (38%) ($\chi^2 = 4.04$; $p = 0.0373$);
2. Частота наявних мікрокрововиливів в корі і білій речовині та мозочку була достовірно вище в ГМ серед померлих септичних хворих групи «САЕ» порівняно з показниками померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: 25/40 (63%) vs 7/21 (33%) ($\chi^2 = 4.70$; $p = 0.0202$);
3. Частота наявних дрібних вогнищ енцефалолізису в корі і білій речовині ВПГМ та мозочку серед померлих септичних хворих групи «САЕ» статистично не відрізнялася від даних померлих хворих підгрупи «ГХПечН»: 24/40 (60%) vs 10/21 (48%) ($\chi^2 = 0.86$; $p = 0.2166$);
4. Частота наявної підвищеної гістохімічної експресії тканинного аміаку в таламусі виявилася достовірно вище в ГМ серед померлих хворих підгрупи «ГХПечН» порівняно з показниками померлих септичних хворих групи «САЕ»: 18/21 (86%) vs 21/40 (53%) ($\chi^2 = 6.59$; $p = 0.0158$).
5. Частота наявного А2-астроцитозу в таламусі виявилася достовірно вище в ГМ серед померлих хворих підгрупи «ГХПечН» порівняно з показниками померлих септичних хворих групи «САЕ»: 19/21 (90%) vs 23/40 (58%) ($\chi^2 = 6.98$; $p = 0.0123$).

Таким чином, у померлих хворих на абдомінальний сепсис з САЕ достовірно частіше наявні вогнища запустіння судин мікроциркуляторного русла в корі ВПГМ, а також наявні петехіальні крововиливи в корі і білій речовині ВПГМ та мозочку (відносно показників ГМ померлих хворих з важкою ПЕ Grade 3-4 на тлі ГХПечН).

В свою чергу, у померлих хворих з важкою ПЕ Grade 3-4 на тлі ГХПечН достовірно частіше наявне підвищення рівня таламічного тканинного аміаку та А2-астроцитоз в таламусі (відносно показників ГМ померлих хворих на сепсис з САЕ).

Серед померлих хворих з САЕ визначається тенденція ($p>0.05$) до більш частішої наявності дрібних вогнищ енцефалолізису в корі і білій речовині ВПГМ та мозочку (60% vs 48%), але достовірної статистичної відмінності від частоти її у померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 на тлі ГХПечН не визначено ($p<0.05$).

Резюме

За результатами аналізу історій хвороби у 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис групи «САЕ» за 1-12 діб до смерті спостерігалися ознаки сепсис-асоційованої енцефалопатії: делірій та зниження свідомості нижче 15 балів за ШКГ, медіанні значення 10.00 (7.25; 12.00) балів. У 55% спостерігалася мозкова дисфункція (14-10 балів за ШКГ), у 45% хворих - мозкова недостатність (9-6 балів за ШКГ).

У всіх хворих на абдомінальний сепсис окрім САЕ визначалися клінічні прояви поліорганної недостатності за шкалою SOFA. У 50% померлих діагностована печінкова дисфункція/недостатність (за підвищенням сироваткового білірубіну, АСТ, АЛТ); у 63% – ниркова дисфункція/недостатність (за рівнем сироваткового креатиніну); у 78% – циркуляторна дисфункція/недостатність (за рівнем середнього артеріального тиску); у 45% – коагулопатія (за рівнем тромбоцитопенії; серед них у 31% померлих хворих спостерігалася гастроінтестинальна кровотеча); у 75% - дихальна недостатність. Найбільш частим поєднанням у 22% хворих був мікст

САЕ з циркуляторною, легеневою, нирковою, печінковою та коагуляційною дисфункцією/недостатністю.

У померлих хворих з САЕ при патологоанатомічному розтині визначалися ознаки помірного набряку або набряку-набухання ГМ, у 66% осіб в мигдаликах мозочку виявлялася симетрична странгуляційна борозна невеликої глибини. Вага ГМ померлих з «САЕ» на 10.27% перевищувала значення померлих групи контролю. Мікроскопічно набрякові зміни ГМ представлені розширенням периваскулярних і перицелюлярних просторів та вогнищевою порозністю нейропілю. Площа розширених перицелюлярних і периваскулярних просторів перевищувала показники групи контролю від 8.84 разів в гіпокампі до 10.47 разів в таламусі з переважанням площі периваскулярних просторів над перицелюлярними.

В досліджених відділах ГМ визначалося помірне повнокрів'я, тромбоз судин МЦР та у 65% померлих хворих в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі, мозочку - розповсюджені спадіння та запусніння мікросудин, які у 60% померлих хворих супроводжувалися одиничними невеликими фокусами енцефалолізису розмірами до 0.2-0.6 см. У 63% померлих хворих в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі і мозочку виявлено петехіальні мікрокрововиливи.

Гістохімічно у 53% померлих групи «САЕ» в 4-ьох досліджених відділах ГМ визначалася підвищена експресія тканинного аміаку: слабка I ступеню (в корі ВПГМ, в гіпокампі) та помірна II ступеню (в таламусі, мозочку), яка перевищувала показники «негативної» експресії групи контролю. У 58% померлих хворих групи «САЕ» спостерігався А2-астроцитоз: в корі ВПГМ (слабкий, «+»), в таламусі, смугастому тілі та мозочку (помірний, «++») з підвищенням кількості А2-астроцитів відносно контролю: в корі ВПГМ – в 2.66 рази; в таламусі – в 3 рази; в мозочку – в 3.66 рази. Одночасно визначалося підвищення до 2 разів відносно контролю кількості амілоїдних тілець в таламусі, смугастому тілі та мозочку померлих хворих.

Порушення гемомікроциркуляції та помірне підвищення рівня тканинного аміаку в ГМ померлих хворих групи «САЕ» асоційовані з

наявністю груп ішемічно-зморщених та апоптотичних нейронів і в меншій кількості – набряклих нейронів, нейронів в стані каріоцитолізу та клітин-тіней в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі і мозочку. За результатами ІГХ досліджень відсоток Casp3⁺ апоптотичних нейронів достовірно вищий відносно контролю: в корі ВПГМ в 3.08 рази; в гіпокампі – в 4.16 рази; в таламусі – в 3.73 рази; в смугастому тілі – в 3.51 рази; в мозочку – в 2.95 рази. При цьому, рівень оптичної щільності синаптофізину має лише тенденцію ($p > 0.05$) до зниження відносно контролю.

САЕ характеризується суттєвими реактивними змінами астроцитів. Зокрема, значно підвищеною відносно контролю експресією GFAP – найбільшою в корі і білій речовині ВПГМ (в 2.92 рази і в 2.81 рази, відповідно); найменшою – в таламусі (в 1.83 рази). Одночасно з цим, підвищуються площі експресії GS: найвища в таламусі – в 2.34 рази; менша – в корі ВПГМ і в мозочку (в 1.91 рази і в 1.92 рази, відповідно) та експресії AQP4 (від 2.96 разів в гіпокампі до 5 разів в білій речовині ВПГМ).

Частими явищами є перинейрональний гліальний сателітоз, а інколи – мікрогліальна нейронофагія. Площа, займана позасудинними CD68-мікрогліоцитами значно (від 2.30 разів в таламусі до 5.79 разів в білій речовині ВПГМ) перевищує показники контролю. При цьому відсоткова частка CD68+ амебоїдної мікроглії також істотно підвищується: від 3.69 разів в таламусі до 4.74 разів в корі ВПГМ.

Підвищена експресія тканинного аміаку в ГМ померлих хворих з САЕ в 95% випадків асоціювалася з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки. У померлих хворих підгрупи «САПП» ГХ експресія аміаку помірного і слабкого ступеню, а також виразність A2-астроцитозу в усіх досліджених відділах ГМ достовірно перевищувала показники і групи контролю, і підгрупи «бСАПП». В когорті померлих хворих підгрупи «бСАПП» слабке підвищення експресії аміаку визначалося лише в таламусі, смугастому тілі та мозочку, а слабкий A2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ та таламусі. Одночасно визначено, що експресія астроцитарного GFAP у померлих підгрупи «САПП» була слабшою,

порівняно з підгрупою «бСАПП», а рівні експресії астроцитами GS і AQP4 навпаки перевищували показники померлих хворих підгрупи «бСАПП» і групи контролю. Ці результати вказують на чіткий зв'язок між сепсис-асоційованим пошкодженням печінки і аміак-асоційованими змінами астроглії.

При порівнянні параметрів сепсис-асоційованої енцефалопатії померлих хворих групи «САЕ» та важкої G3-4 ПЕ при синдромі гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності (ГХПечН) виявлено, що частота підвищеного рівня тканинного аміаку та A2-астроцитозу в таламусі достовірно вище серед померлих хворих підгрупи «ГХПечН». В ГМ померлих хворих підгрупи «ГХПечН» (відносно групи «САЕ») має місце вищий рівень експресії тканинного аміаку та експресії астроцитарної GS, більша кількість A2 астроцитів та амілоїдних тілець. В той же час, в ГМ померлих хворих з САЕ (відносно підгрупи «ГХПечН») визначається більша площа експресії астроцитарного GFAP, більша частка Casp3⁺ апоптотичних нейронів, вища оптична щільність синаптофізину, більша площа CD68⁺ позасудинних мікрогліоцитів та частка CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів, частіше виявляється спадіння і запусіння судин МЦР кори ВПГМ та петехіальні крововиливи в корі і білій речовині ВПГМ та в мозочку.

Результати даного розділу було опубліковано в наступних роботах [134-143].

РОЗДІЛ 6

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ГОСТРІЙ ПАРАЦЕТАМОЛ-ІНДУКОВАНІЙ ПЕЧІНКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ У ЩУРІВ

6.1 Характеристика стану експериментальних тварин і мікроскопічних змін печінки

Починаючи з шостої години після внутрішньоочеревинного введення парацетамолу у всіх тварин спостерігалось динамічне наростання млявості, слабкості, з'явилося блювання, діарея. У щурів знижувалася рухова активність, пошукова реакція при перенесенні з клітки, вони займали положення на животі або на боці, уповільнювався рефлекс перевертання. При збереженій аудіомоторній реакції тварини локалізували місце подразнення, але реакція на харчовий подразник була знижена. Далі було характерне положення на боку або на животі, відсутність рухової активності, зниження тону м'язів та больової реакції, зниження глоткового рефлексу. Коматозний стан характеризувався відсутністю рогівкового рефлексу, больової чутливості та рефлексу згинання кінцівок, зниженням або відсутністю глоткового рефлексу, вираженим зниженням ЧДД та ЧСС. Проявами термінальної коми були відсутність всіх досліджуваних рефлексів, уповільнення або відсутність реакції зіниць на світло, різко виражені порушення вітальних функцій (розлади ритму та частоти дихання або апное, зниження ЧСС та аритмії).

У трьох з десяти щурів на 20 і 24 год розвинулася картина глибокої та термінальної коми. Цих тварин, а також ще трьох з виразними іншими вищепереліченими симптоми нездужання для запобігання подальшого страждання було виведено з експерименту: на 12 год, 16 год, 18 год (по 1 щуру), на 20 год (2 коматозних щури), і на 24 год (1 коматозний щур) – умовно «летальна підгрупа», «AILF-B», $n = 6$. У чотирьох щурів вищевказані симптоми були менш виразними аж до закінчення експерименту через 24 год («нелетальна підгрупа», «AILF-A», $n = 4$).

При патогістологічному дослідженні печінки у всіх експериментальних щурів підгруп «AILF-A» і «AILF-B» в більшості часточок печінки виявлені каріо- і цитолізис гепатоцитів, вогнища ареактивного руйнування гепатоцитів і невелика кількість лімфоцитів в деяких портальних трактах (рис. 6.1).

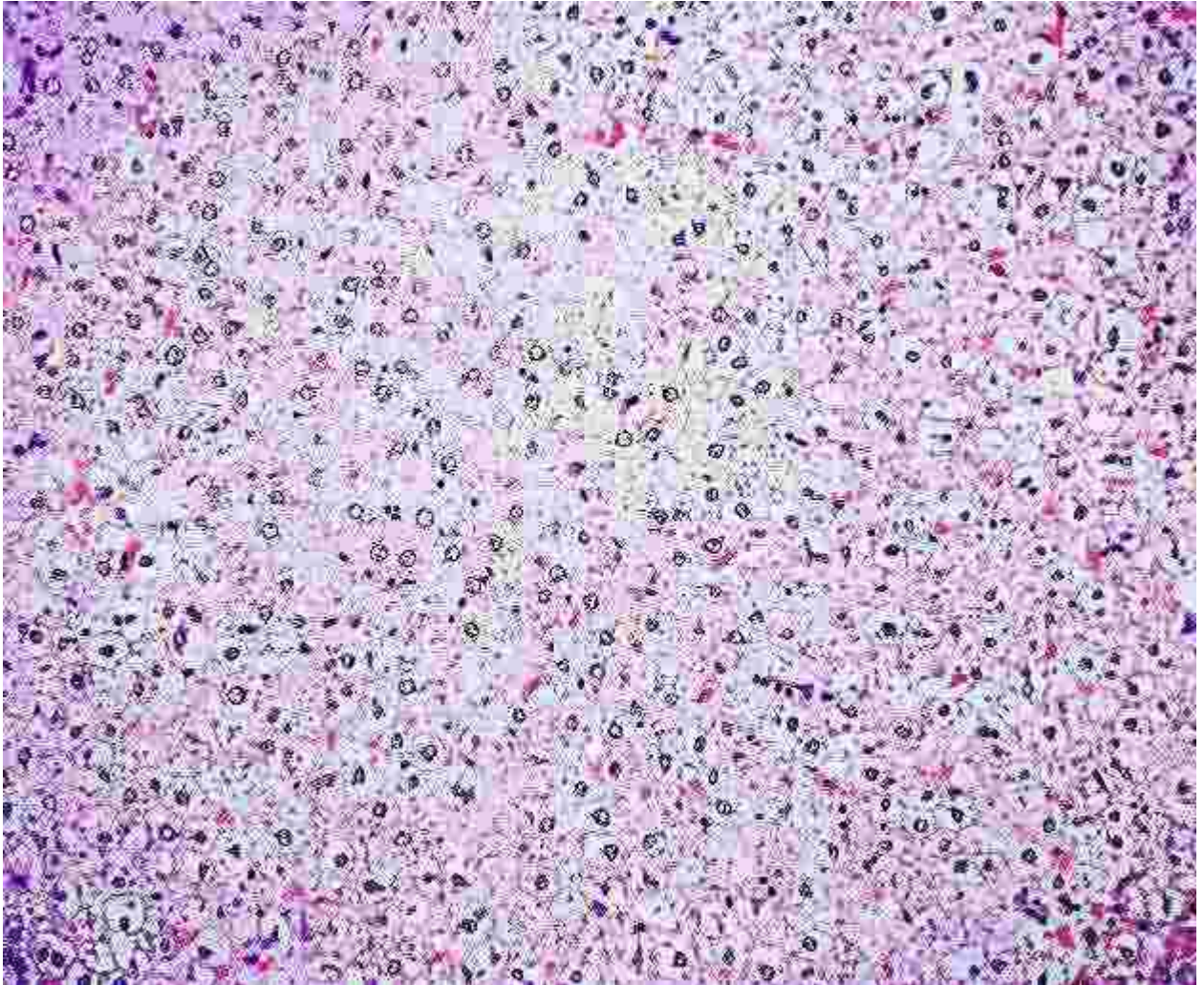


Рисунок 6.1 – Каріолізис і цитолізис гепатоцитів, вогнища ареактивного руйнування гепатоцитів печінки щура летальної підгрупи «AILF-B», 16 год після ін'єкції парацетамолу. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 200.

6.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

При світловій і електронній мікроскопії в усіх досліджених відділах ГМ експериментальних AILF-щурів виявлені незначні зміни нейронів і мікросудин та розширення перицелюлярних і периваскулярних просторів різного ступеню виразності. За результатами світлової і електронної

мікроскопії та ІГХ досліджень визначалася динамічна перебудова астроглії і ознаки активації мікроглії без суттєвих змін олігодендроцитів.

6.2.1 Гістологічна і електронномікроскопічна характеристика нейронів і мікросудин головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

В гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, в усіх досліджених відділах ГМ експериментальних AILF-щурів більшість нейронів мали звичайну мікроскопічну структуру. В корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, стріатумі та мозочку також виявлялися нейрони з незначним набряком цитоплазми і помірним набуханням просвітлених ядер, поодинокі гіперхромні нейрони з нормальними ядрами, а також одиничні зменшені в розмірах, ущільнені нейрони з каріопікнозом та помірно розширеними перицелюлярними просторами (переважно в зубчастій звивині гіпокампу) (рис. 6.2). Не відмічалось також активації перинейронального гліального сателітозу.

Капіляри, дрібні артеріоли і вени в усіх досліджених відділах ГМ експериментальних AILF-щурів мали звичайну мікроструктуру. Звертало увагу розширення периваскулярних просторів (ПВп) різного ступеня виразності (рис. 6.2). Вогнищеві крововиливи і локуси енцефалолізису в ГМ піддослідних щурів не спостерігалися.

Електронна мікроскопія підтвердила результати світлооптичних спостережень. За даними ЕМ у сенсомоторній корі ВПГМ щурів нелетальної підгрупи «AILF-A» через 24 год після введення парацетамолу більшість нейронів мали звичайну ультраструктуру ядра, цитоплазми і органел, притаманну щурам контрольної групи (рис. 6.3). Спостерігалися лише окремі нейрони з помірним набуханням ядра і різного ступеня просвітленням каріоплазми, в цитоплазмі яких визначалися збільшені в розмірах мітохондрії з набряком матриксу і частковим кристалізом, або, навпаки, мітохондрії з

надмірно електроннощільним матриксом, а також спостерігалася підвищена кількість цитоплазматичних вакуолей.

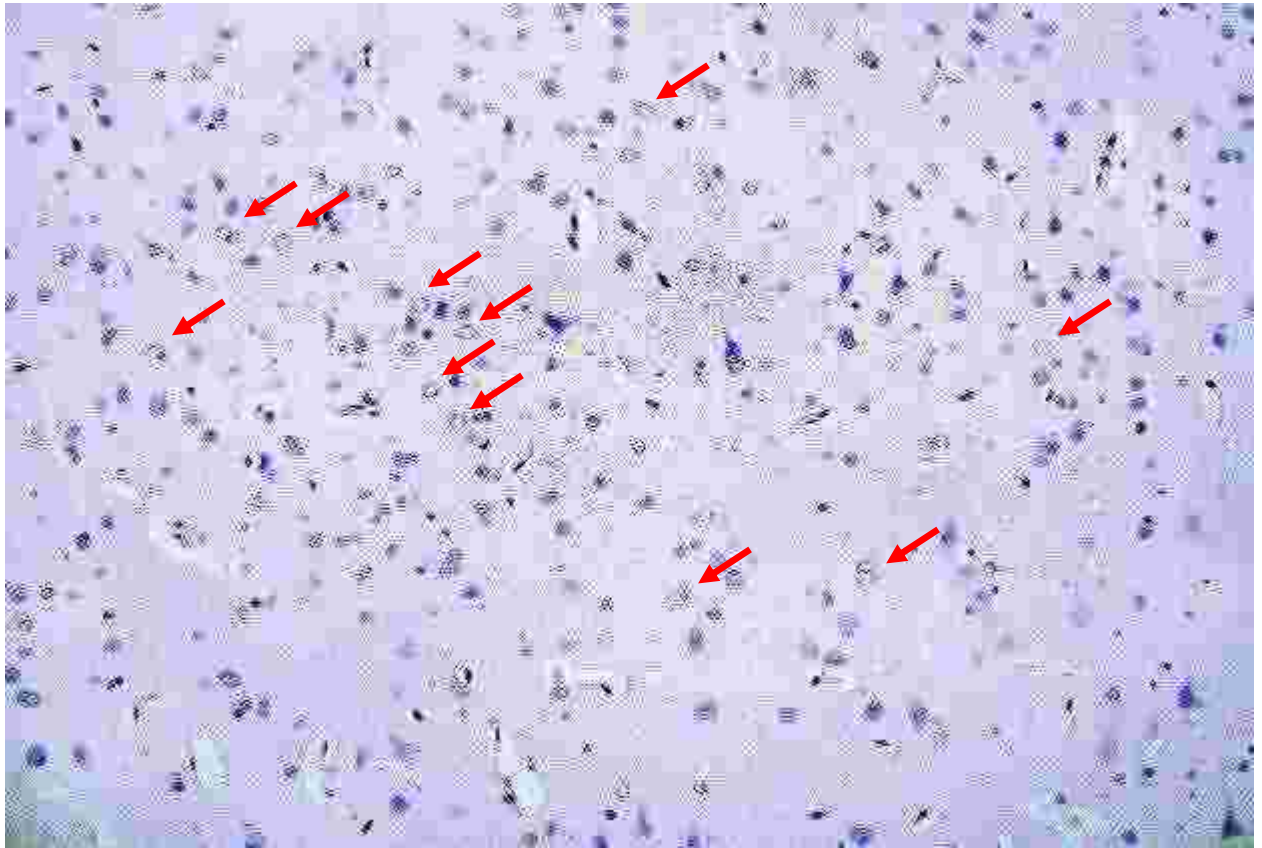


Рисунок 6.2 – Нейрони з незначним набряком цитоплазми та гіперхромні нейрони, а також поодинокі зменшені, ущільнені нейрони з каріопікнозом. Розширення перицелюлярних і периваскулярних просторів. Наявні AA2 астроцити (стрілки). Кора ГМ щура нелетальної підгрупи «AIF-A». 24 год від початку експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200.

Навколо таких нейронів визначався нейропіль нормальної ультраструктури, інколи спостерігалися помірно розширені перинейрональні відростки астроцитів. У щурів летальної підгрупи «AIF-B», через 18 годин від початку експерименту відмічалася зростання кількості нейронів з вищеописаними змінами, які зустрічалися істотно частіше, ніж у щурів нелетальної підгрупи. В поодиноких дендритах в нейропіль визначався помірний набряк дендроплазми, збільшені в розмірах мітохондрії з локальним значним набряком матриксу і частковим кристалізом, а також вакуолі різних розмірів (рис. 6.4). Перинейрональний гліальний сателітоз в корі ГМ щурів після введення парацетамолу у щурів обох груп спостерігався рідко.

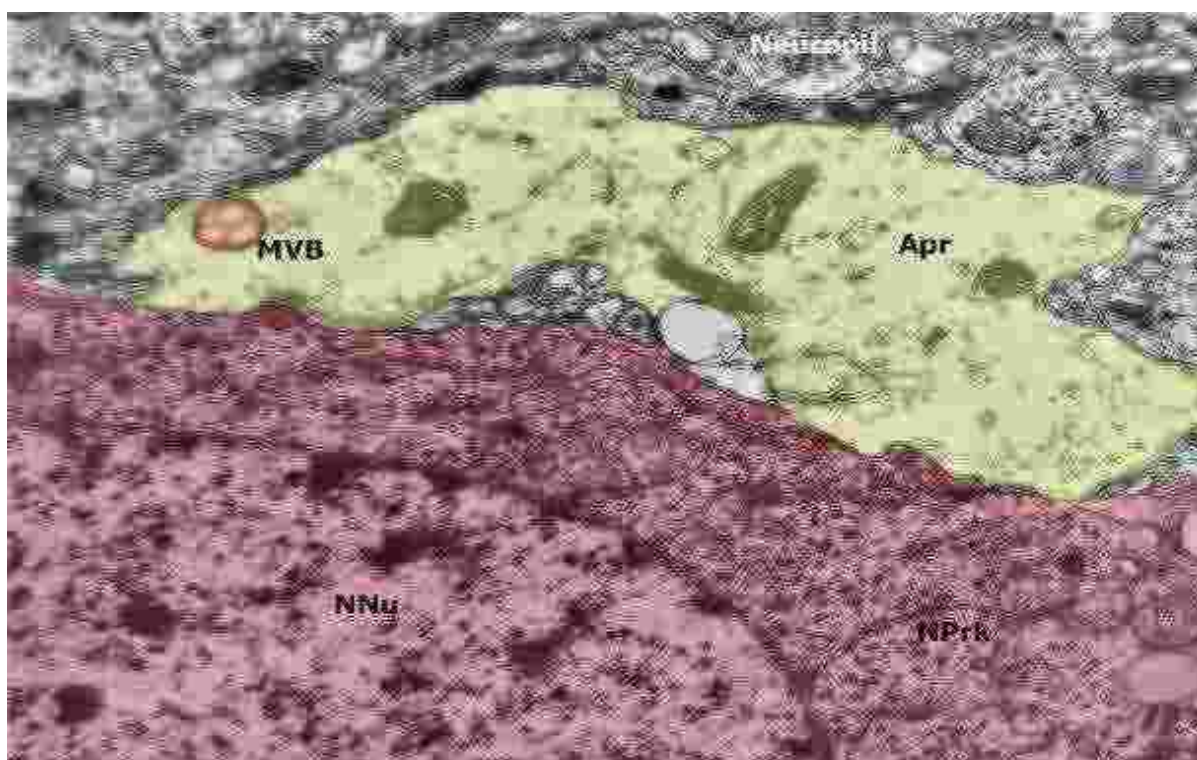


Рисунок 6.3 – Нейрон звичайної ультраструктури з незначним набуханням і прсвітленням каріоплазми та з розширенням перинейронального відростку астроцита. Кора щура контрольної групи «AILF-C». TEM, зб. x11000.

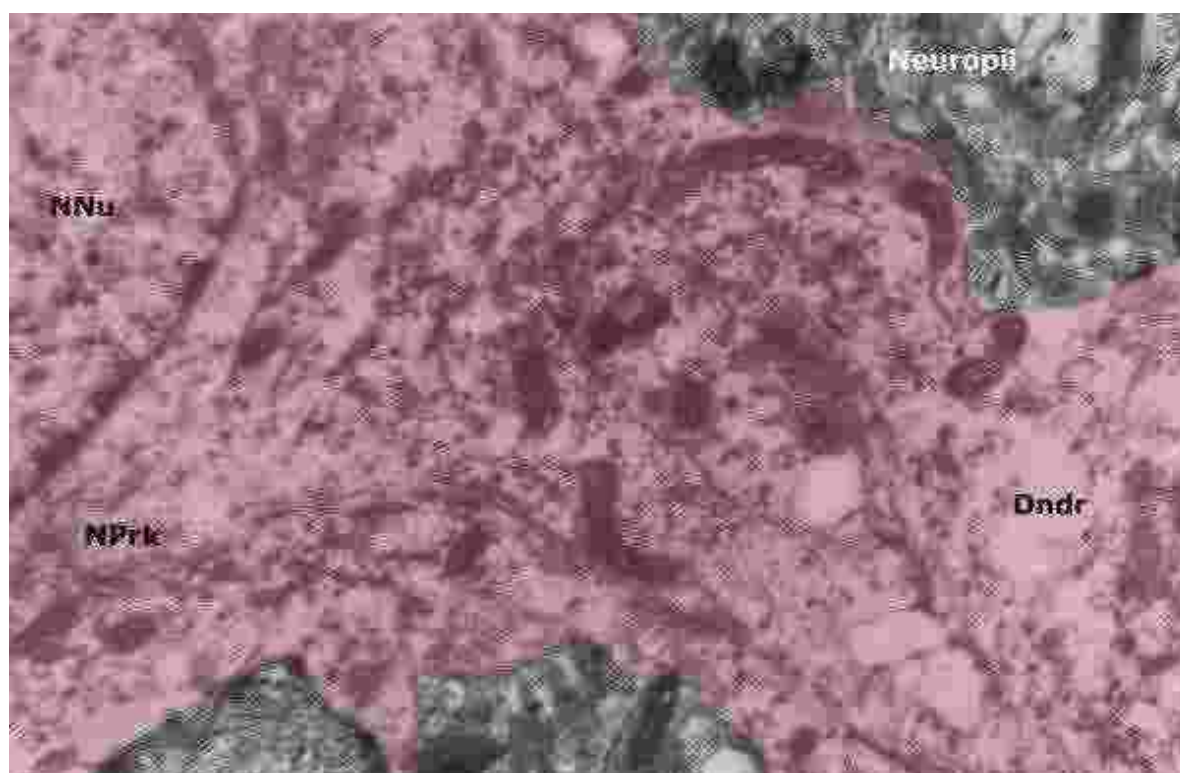


Рисунок 6.4 – Помірний набряк нейрону з перерозподілом і частковою дезінтеграцією рибосом, вогнищевою вакуолізацією гіалоплазми в сенсомоторній корі щура летальної підгрупи «AILF-B». 20 год після процедури. TEM, зб. x 11000.

Ультраструктурні зміни мікросудин кори ГМ щурів обох AILF-груп характеризувалися: 1) спадінням просвіту деяких капілярів, часто асоційованим з набряком астроцитарних периваскулярних ніжок; 2) ущільненням або, навпаки, набряком ендотеліоцитів; 3) вонищевим потовщенням базальних мембран капілярів. Розширені міжклітинні простори між базальними мембранами мікросудин та оточуючими структурами нейропілю не визначалися. Такі ультраструктурні зміни частіше спостерігалися в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B», ніж в ГМ щурів нелетальної підгрупи «AILF-A» (рис. 6.5).

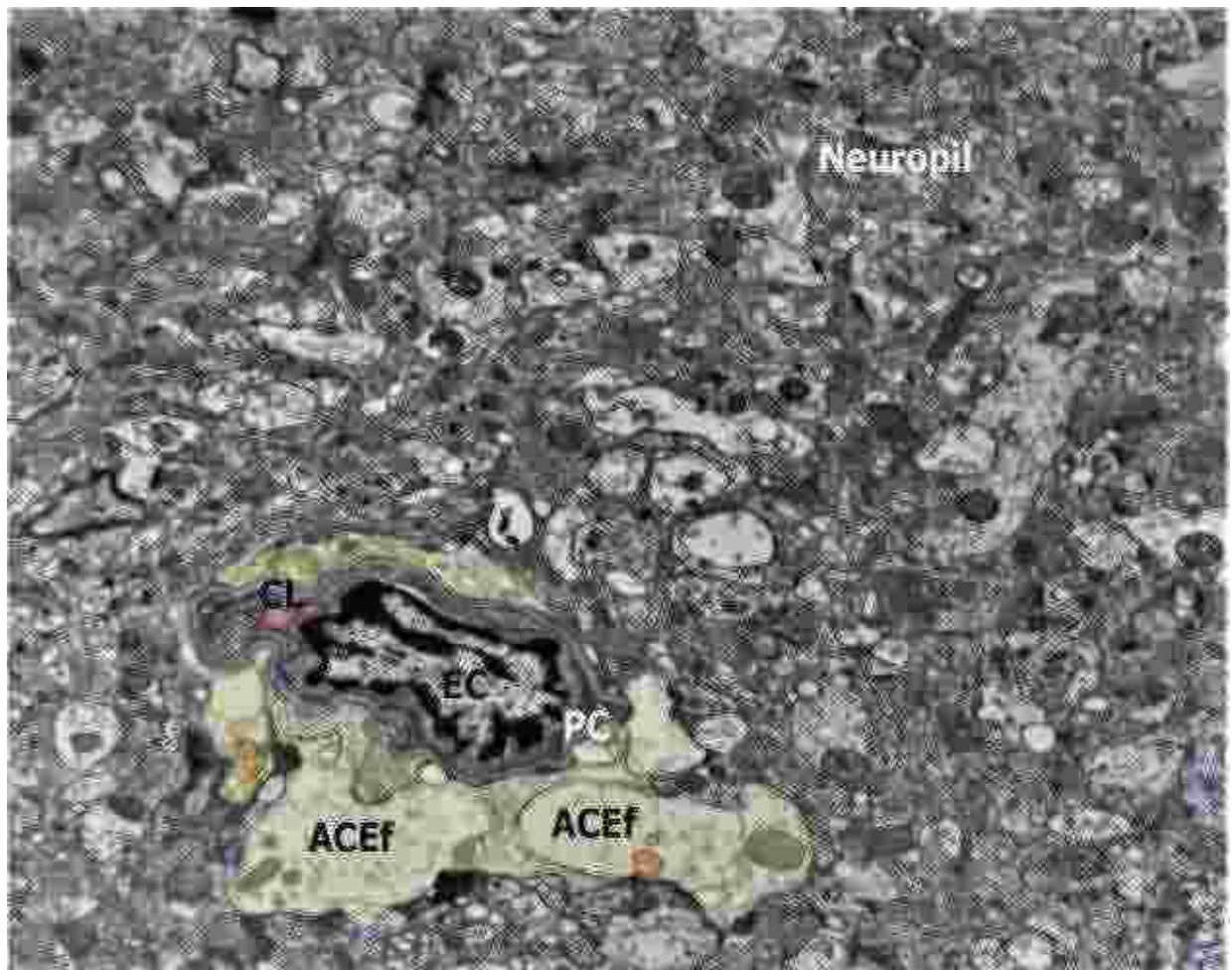


Рисунок 6.5 – Субтотальний колапс просвіту капіляра; асиметричний набряк астроцитарних периваскулярних ніжок з кількома MBT в корі ГМ щура нелетальної підгрупи «AILF-A». 24 год після процедури. TEM, зб. х 3500.

6.2.2 Мікроскопічна, електронномікроскопічна і імуногістохімічна характеристика астроглії головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

Астроцити Альцгеймера 2 типу. При патогістологічному дослідженні в ГМ щурів нелетальної «AILF-A» і летальної «AILF-B» підгруп виявлені типові астроцити Альцгеймера 2 типу, найбільш часто локалізовані в корі ВПГМ, таламусі і смугастому тілі ГМ (див. рис 6.2, рис. 6.6). За результатами ЕМ астроцити Альцгеймера 2 типу мали округле, збільшене ядро з дрібними глибками хроматину в каріоплазмі, які концентрувалися біля каріолеми, утворюючи своєрідний вузький електроннощільний обідок біля внутрішньої ядерної мембрани, а також цитоплазму з вогнищевим набуханням цитозолу, яка містила притаманні астроцитам органели (рис. 6.7). Значне набухання і розширення цитоплазми не характерне для A2-астроцитів.

У щурів підгруп «AILF-A» і «AILF-B» медіанні значення кількості A2-астроцитів достовірно ($p < 0.05$) переважали показники контрольних щурів: в корі ВПГМ – в 3.50 рази і в 4.50 рази (відповідно); в білій речовині ВПГМ – в 2.00 рази і в 3.00 рази (відповідно); в гіпокампі – в 2.50 рази і в 3.50 рази (відповідно); в таламусі – в 4.00 рази і в 5.00 рази (відповідно); в смугастому тілі – в 3.00 рази і в 4.00 рази (відповідно); в мозочку – в 4.00 рази і в 5.50 рази (відповідно). При цьому середня кількість AA2 у всіх досліджених відділах ГМ мала тенденцію ($p > 0.05$) до більш високих показників в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» відносно показників щурів нелетальної «AILF-A» (табл. 6.1; рис. 6.8).

A2 астроцити в ГМ щурів летальної групи «AILF-B» визначалися на 18 год від початку експерименту, в подальшому їх кількість динамічно зростала і одночасно з цим достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники контрольної групи в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку щурів, сягаючи максимальних показників на 24 год. експерименту (табл. 6.2, рис. 6.9).

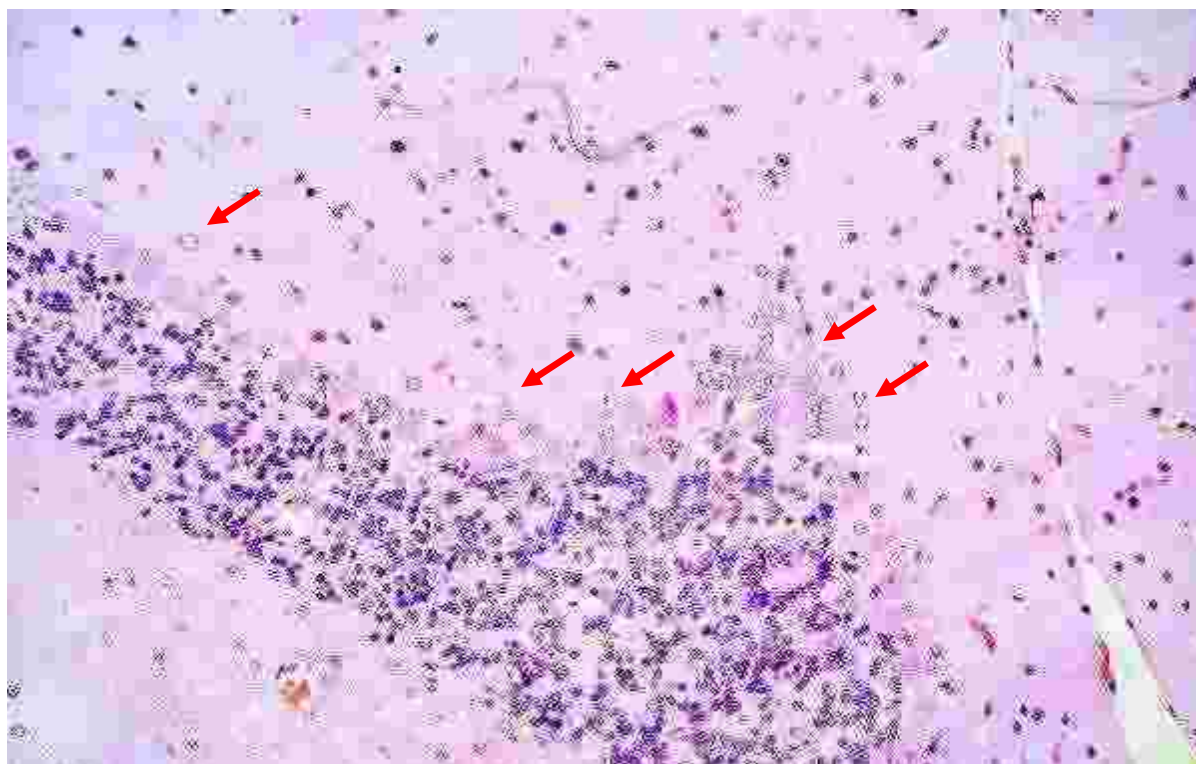


Рисунок 6.6 – Астроцити Альцгеймера 2 типу в корі мозочка (стрілки) щура летальної групи «AILF-B». 24 год після процедури. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. x 200.

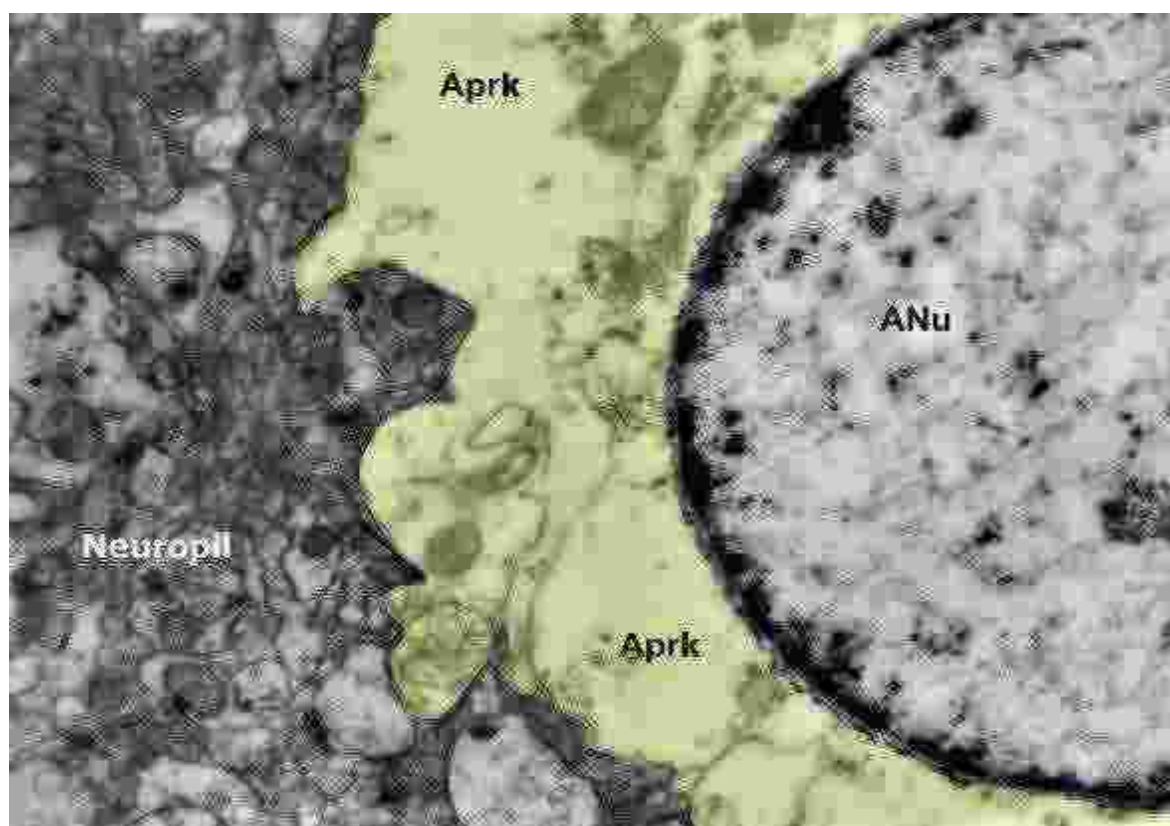
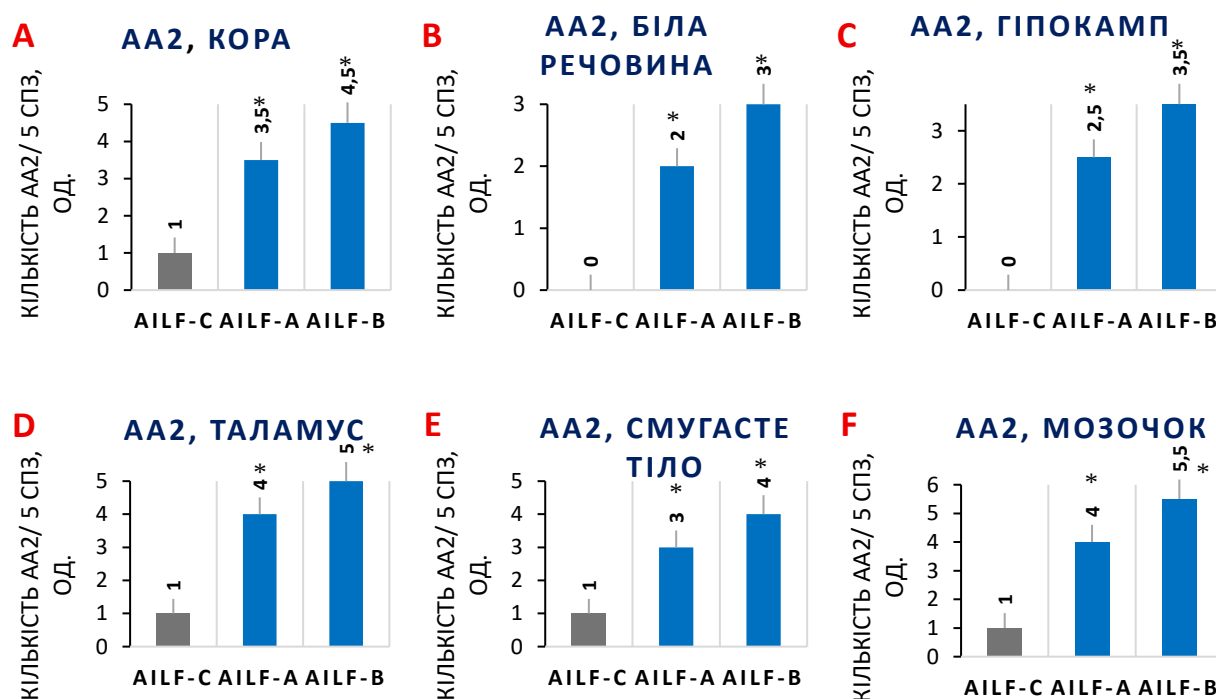


Рисунок 6.7 – Астроцит Альцгеймера 2 типу (цитоплазма виділена жовтим фоном). Маргінація хроматину ядра біля каріолеми, вогнищеве набухання цитоплазми в корі щура летальної підгрупи «AILF-B». 24 год після введення парацетамолу. TEM, зб. x 11000.

Таблиця 6.1 – Кількість АА2 в різних відділах ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B», «AILF-C» (од./5 СПЗ); Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	Група «AILF-A»	Група «AILF-B»	Група «AILF-C»
Кора	3.50 (3.00; 5.00) *	4.50 (3.00; 5.00) *	1.00 (0.00; 1.00)
Біла речовина	2.00 (2.00; 2.50) *	3.00 (2.50; 3.00) *	0.00 (0.00; 1.00)
Гіпокамп	2.50 (2.00; 3.00) *	3.50 (2.00; 4.00) *	0.00 (0.00; 1.00)
Таламус	4.00 (3.00; 6.50) *	5.00 (4.00; 7.00) *	1.00 (0.00; 2.00)
Смугасте тіло	3.00 (3.50; 4.00) *	4.00 (3.00; 5.00) *	1.00 (0.00; 1.50)
Мозочок	4.00 (2.50; 5.00) *	5.50 (4.00; 6.00) *	1.00 (0.00; 2.00)

Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з контролем ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірно порівняно з контролем ($p < 0.05$).

Рисунок 6.8 – Середня кількість АА2 в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), 33Г (С), таламусі (Д), смугастому тілі (Е), мозочку (Ф) щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».

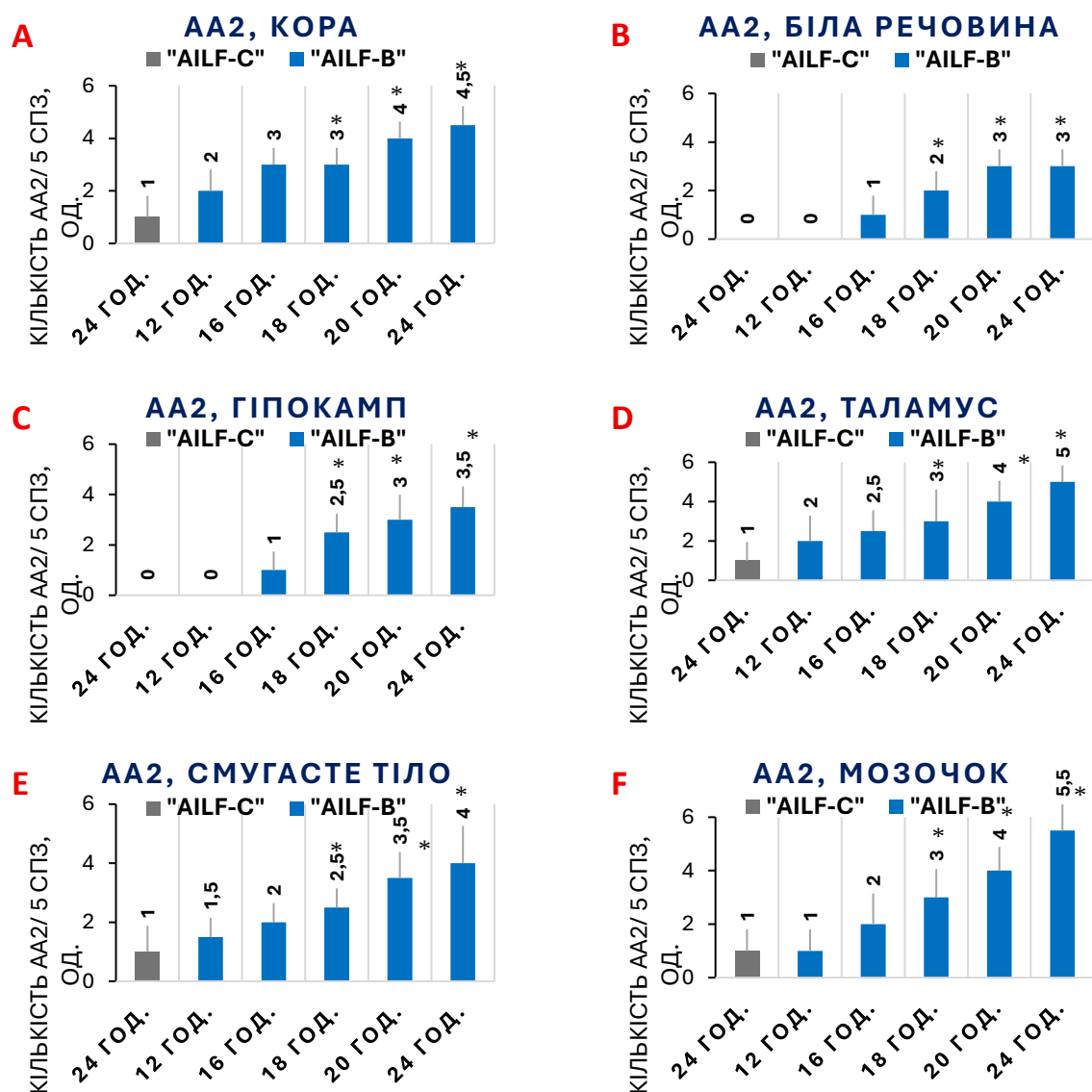
Таблиця 6.2 – Динаміка кількості АА2 в ГМ тварин летальної підгрупи «AILF-B» та групі контролю «AILF-C»; Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	AILF-B					AILF-C
	Час після ін'єкції парацетамолу					24 год.
	12 год.	16 год.	18 год.	20 год.	24 год.	
1	2	3	4	5	6	7
Кора	2.00 (0.00; 2.00)	3.00 (1.00; 3.00)	3.00 (2.00; 3.00) *	4.00 (3.00; 5.00) *	4.50 (3.00; 5.00) *	1.00 (0.00; 1.00)
Біла речовина	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (0.00; 1.00)	2.00 (1.00; 2.50)	3.00 (1.00; 3.00) *	3.00 (2.50; 3.00) *	0.00 (0.00; 1.00)

Продовження таблиці 6.2

1	2	3	4	5	6	7
Гіпокамп	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (1.00; 3.00)	2.50 (1.00; 3.00)	3.00 (2.50; 3.00) *	3.50 (3.00; 4.00) *	0.00 (0.00; 1.00)
Таламус	2.00 (1.00; 2.00)	2.50 (2.00; 3.00)	3.00 (2.50; 3.50) *	4.00 (4.00; 6.00) *	5.00 (4.00; 7.00) *	1.00 (0.00; 2.00)
Смугасте тіло	1.50 (0.00; 1.50)	2.00 (1.00; 2.00)	2.50 (2.00; 3.00) *	3.50 (2.00; 4.00) *	4.00 (3.00; 5.00) *	1.00 (0.00; 1.50)
Мозочок	1.00 (1.00; 2.00)	2.00 (2.00; 3.00)	3.00 (2.50; 3.00) *	4.00 (3.00; 5.00) *	5.50 (4.00; 6.00) *	1.00 (0.00; 2.00)

Примітка. (*) - достовірно порівняно з контролем ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірно порівняно з контролем ($p < 0.05$).

Рисунок 6.9 – Динаміка кількості АА2 в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), ЗЗГ (С), таламусі (Д), смугастому тілі (Е), мозочку (Ф) щурів летальної підгрупи «AILF-B» та показники групи контролю «AILF-C».

Субмікроскопічні зміни астроцитів кори головного мозку щурів. На 16 год після введення парацетамолу в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» спостерігалось динамічне наростання виразності набряку астроцитів з вираженим розширенням профілів астроцитарних кінцевих периваскулярних ніжок. Набряк периваскулярних ніжок астроцитів відрізнявся суттєвою асиметричністю, коли їх розширення в більшій мірі відбувалося тільки з одного боку капіляру (рис. 6.10, рис. 6.11). Навколо дрібних венул і артеріол визначалися значно розширені через набряк відростки астроцитів з частковою дезінтеграцією органел (рис. 6.12). В нейропілі неподалік від мікросудин реєструвався помірний набряк дендритів з локальним набряканням мітохондріального матриксу та частковим кристолізом (рис. 6.11), а також набряк астроцитарних відростків з аналогічними змінами мітохондрій (рис. 6.13). Такі ультраструктурні зміни більш часто зустрічалися в корі ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B».

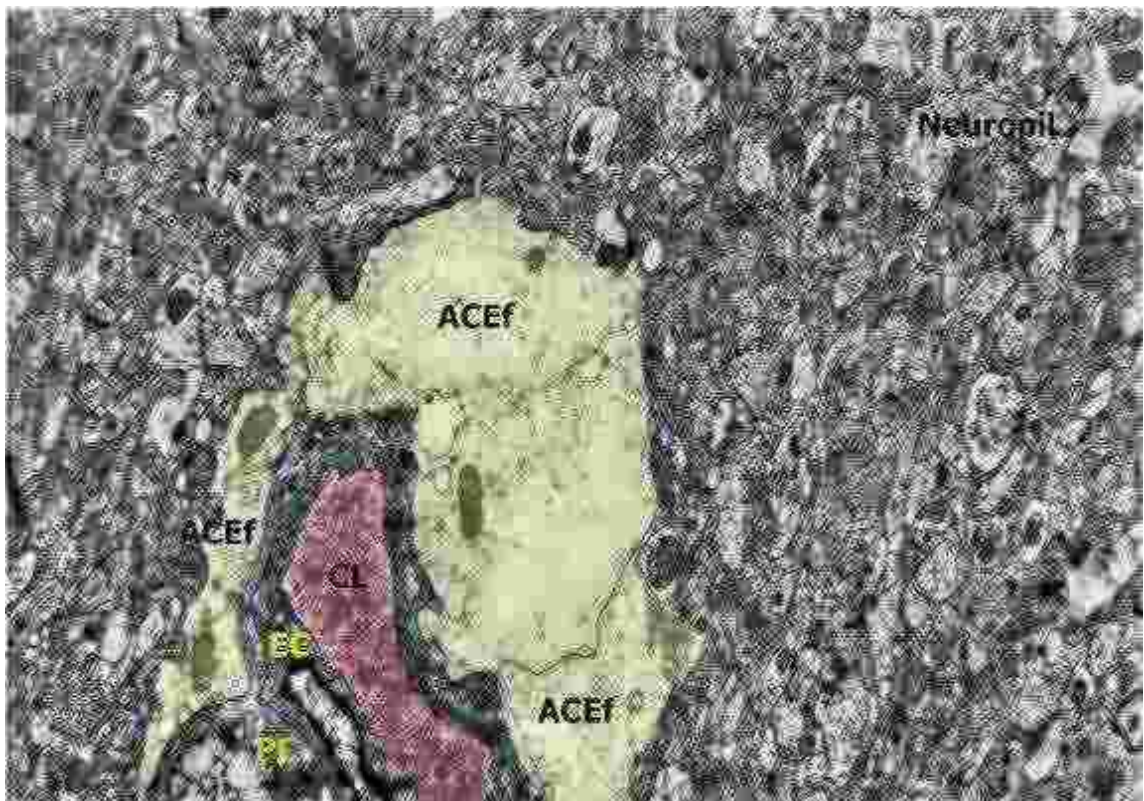


Рисунок 6.10 – Асиметричний набряк капілярних ніжок астроцитів. Кора ГМ щура летальної підгрупи «AILF-B». 24 год після процедури. ТЕМ, зб. х 3000.

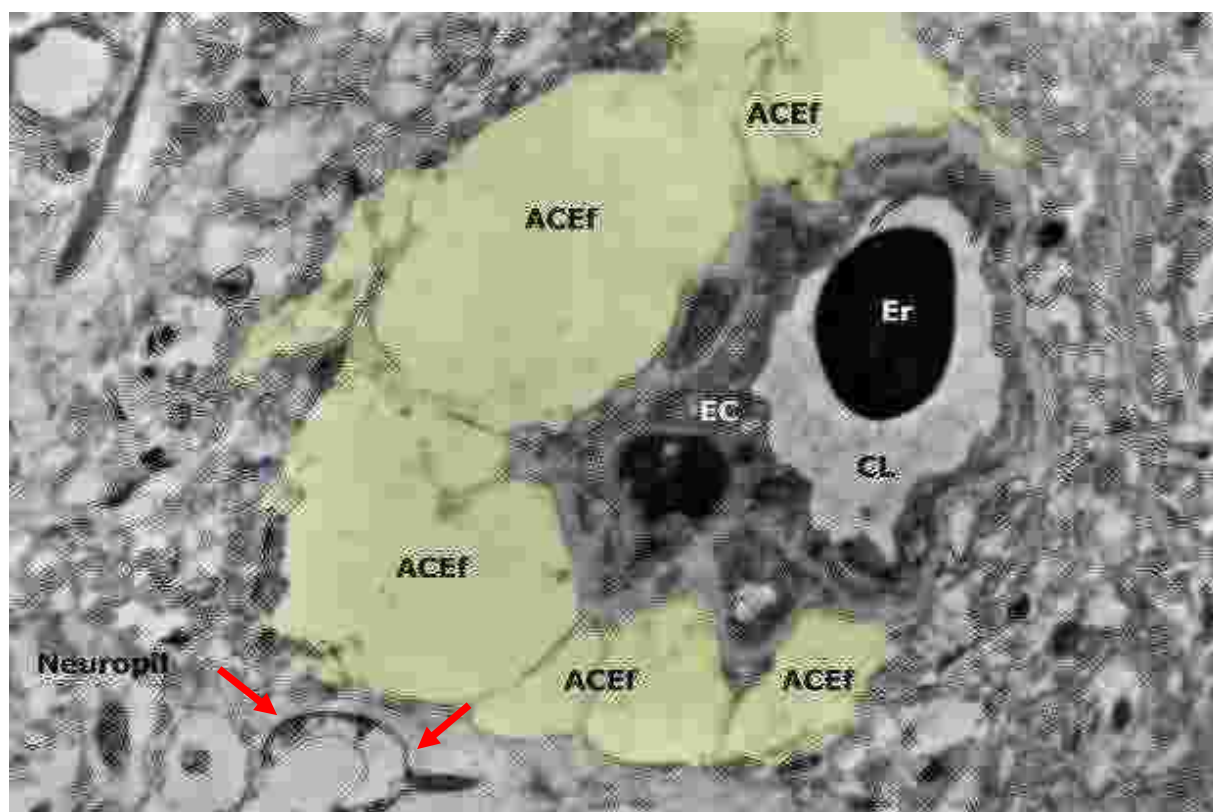


Рисунок 6.11 – Виразний асиметричний набряк капілярних ніжок астроцитів. Локальний набряк матриксу і кристалізм в мітохондріях дендритів (стрілки). Кора ГМ щура підгрупи «AILF-B», 24 год після процедури. TEM, зб. x9000.

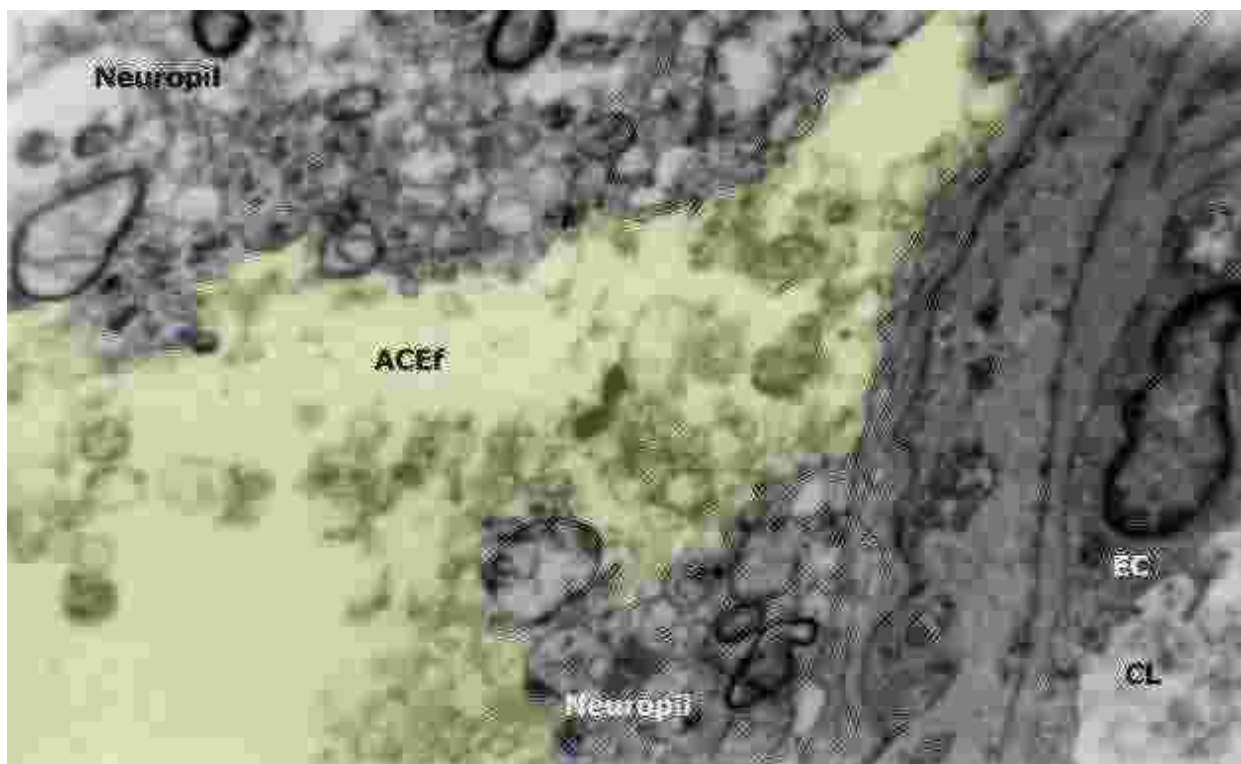


Рисунок 6.12 – Значний набряк і розширення перивенулярної ніжки астроциту з частковою дезінтеграцією органел. Кора ГМ щура підгрупи «AILF-B», 24 год після процедури. TEM, зб. x12000.

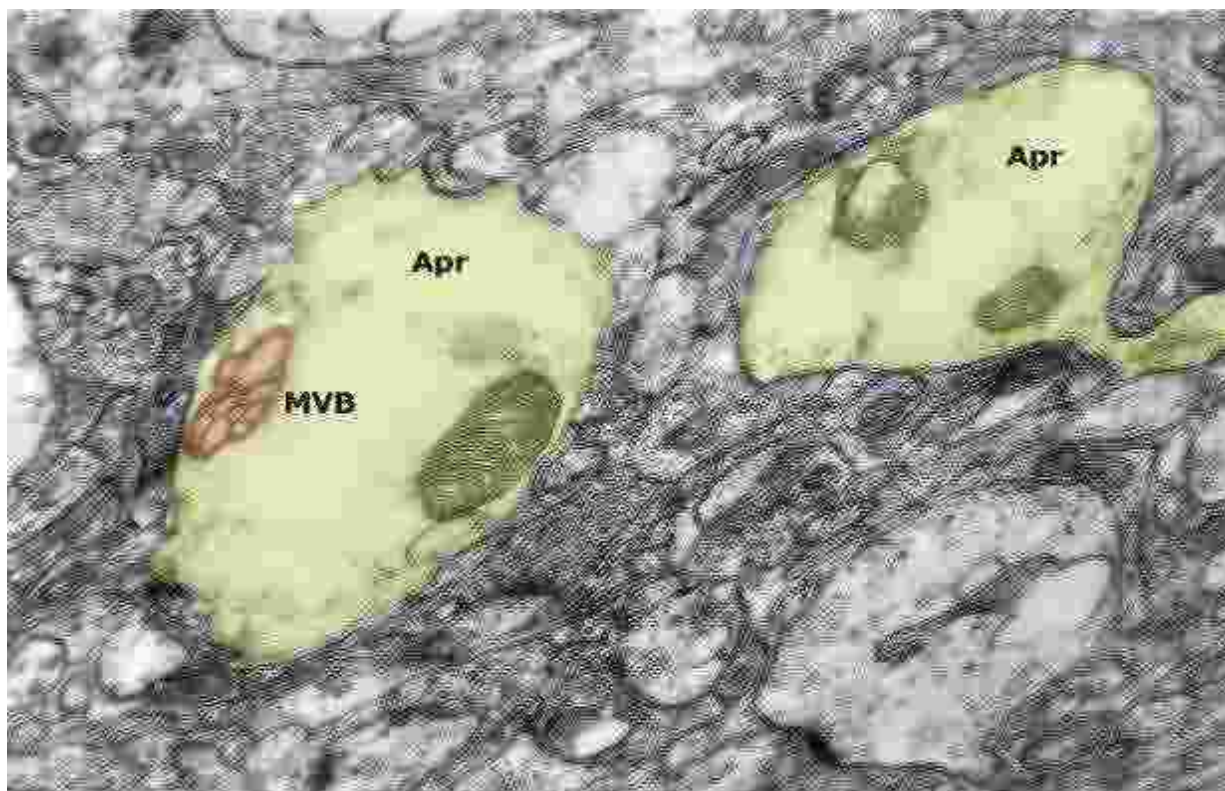


Рисунок 6.13 – Набряклі астроцитарні відростки в нейропілі з частковим кристолізмом мітохондрій та MBT в корі ГМ щура летальної підгрупи «AIFL-F». 24 год після процедури. TEM, зб. x 15000.

Одночасно з цим, в корі ГМ тварин нелетальної підгрупи «AIFL-A» на 24 год експерименту в астроцитах була відзначена активація внутрішньоклітинного транспорту і гліонейрональних та гліогліальних взаємодій через інтенсифікацію ендосомальної та екзосомальної систем. Яскравим ультраструктурним проявом активації системи ендо-, транс- та екзоцитозу в астроцитах було підвищення кількості мультивезикулярних тілець (MBT). Ці вакуолярні утворення мали розмір від 0.4 до 1.2 мкм і містили від 2 до 30 інтралюмінальних везикул (іЛВ) діаметром від 50 і більше ніж 500 нм. MBT є проявом ендоцитозу дрібних вакуолізованих ділянок навколишнього нейропілю і є різновидом пізніх ендосом. Зважаючи на те, що на різних стадіях свого формування MBT взаємодіють з іншими компонентами цитокавітальної системи та лізосомами астроцитів, MBT характеризувалися значним ультраструктурним поліморфізмом. В одних випадках MBT містили відносно велику кількість електроннопрозорих іЛВ (див. рис. 6.3, 6.5, 6.13), в інших випадках MBT представляли собою більш великі резервуари (рис. 6.14)

з залишками розрідженої електроннощільної субстанції або пластинчастих структур та мієліноподібних тілець.

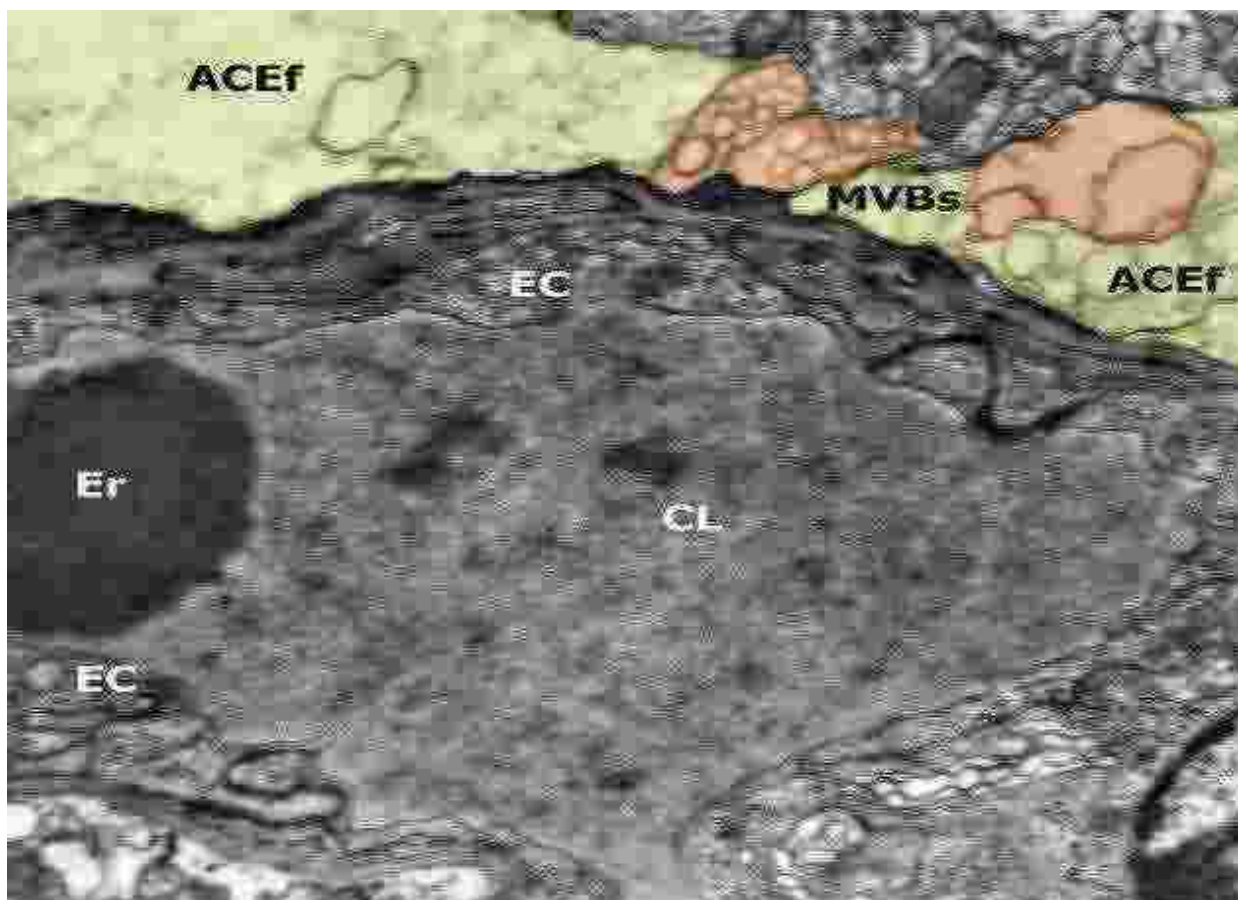


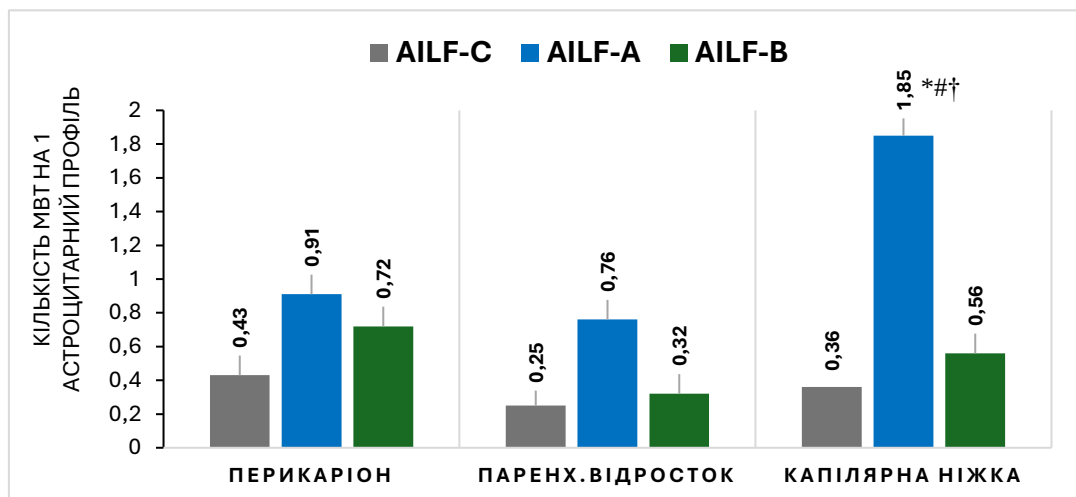
Рисунок 6.14 – Накопичення MBT в капілярних кінцевих ніжках астроцитів кори щура нелетальної підгрупи «AILF-A». 24 год після процедури. ТЕМ, зб. x 13000.

При морфометричному аналізі встановлено, що кількість та локалізація MBT залежали від динаміки стану експериментальних тварин та компартменту астроцитів, у якому вони визначалися. Так, в астроцитах кори ГМ щурів контрольної групи MBT виявлялися в поодиноких екземплярах з однаковою низькою частотою в усіх трьох компартментах астроцитів: в перикаріоні, у нейропільних астроцитарних відростках та в астроцитарних капілярних кінцевих ніжках (табл. 6.3; рис. 6.15).

Таблиця 6.3 – Загальна і медіанна кількість MBT в різних компартментах астроцитів в підгрупах «AIF-A», «AIF-B», «AIF-C»

Підгрупа	Показник	Перикаріон	Нейропільний відросток	Капілярна кінцева ніжка	Сумарна кількість MBT у підгрупі
«AIF-A»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	112/120	87/120	277/150	476 од.
	Кількість MBT / компартмент	0.91 (0.84; 1.06)	0.76 (0.63; 0.89)	1.85 (1.53; 1.92) #*†	
«AIF-B»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	126/180	84/180	102/180	312 од.
	Кількість MBT / компартмент	0.72 (0.51; 0.95)	0.32 (0.10; 0.65)	0.56 (0.47; 0.68)	
«AIF-C»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	80/150	55/150	65/150	200 од.
	Кількість MBT / компартмент	0.43 (0.12; 0.94)	0.25 (0.05; 0.73)	0.36 (0.18; 0.85)	

Примітка. * - достовірно відносно контрольних показників аналогічного компартменту; # - достовірно відносно показників «перикаріону»; † - достовірно відносно показників «нейропільного відростку» ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірно відносно контролю; # - достовірно відносно показників «перикаріону»; † - достовірно відносно показників «нейропільного («паренхіматозного») відростку» ($p < 0.05$).

Рисунок 6.15 – Медіанна кількість MBT / 1 астроцитарний профіль в підгрупах «AIF-A», «AIF-B» та групи контролю «AIF-C».

Як видно із таблиці 6.3, загальна кількість MBT в астроцитах ГМ щурів нелетальної підгрупи «AILF-A» була вищою, ніж у щурів летальної підгрупи «AILF-B» і контрольної групи «AILF-C». При цьому максимальна кількість MBT, що достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники групи контролю та летальної підгрупи, була ідентифікована в капілярних кінцевих ніжках астроцитів ГМ щурів нелетальної підгрупи «AILF-A». Кількість MBT і їх розподіл в компартментах астроцитів ГМ тварин летальної підгрупи «AILF-B» статистично не відрізнялися від аналогічних показників ГМ щурів групи контролю ($p > 0.05$) (див. табл.6.3, рис. 6.15).

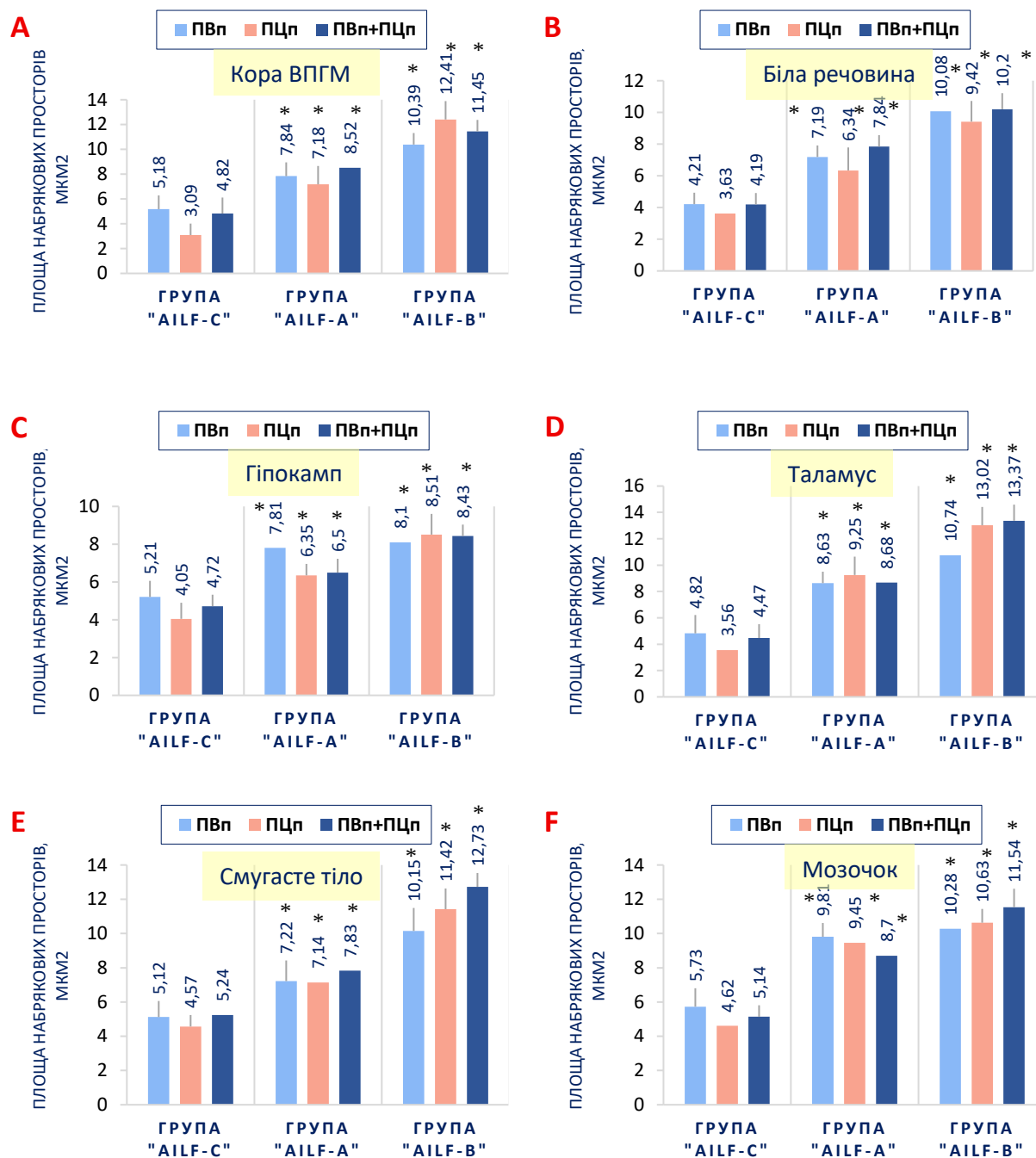
Морфометричні показники площі перицелюлярних і периваскулярних просторів тканини головного мозку. Згідно результатів електронної мікроскопії, викладених вище, доказано, що розширені перицелюлярні простори при світлової мікроскопії сірої речовини ГМ є розширеними через набряк нейропільними відростками астроцитів, а розширені периваскулярні простори насправді є розширеними набряклими кінцевими периваскулярними ніжками астроцитів. При цьому дійсного розширення міжклітинного перинейронального і периваскулярного простору не визначалося. За результатами світлооптичної морфометрії ПВп і ПЦп встановлено, що площа розширених ПВп+ПЦп в усіх досліджених відділах ГМ щурів нелетальної «AILF-A» і летальної «AILF-B» підгруп достовірно ($p < 0.05$) перевищувала аналогічні показники групи умовного контролю: в корі ВПГМ – на 76.76% і на 137.55% (відповідно); в білій речовині ВПГМ – на 87.11% і на 143.43% (відповідно); в гіпокампі – на 37.71% і на 78.60% (відповідно); в таламусі – на 94.18% і на 199.10% (відповідно); в смугастому тілі – на 49.42% і на 142.93% (відповідно); в мозочку – на 69.26% і на 124.51% (відповідно). При порівнянні показників ПВп+ПЦп в підгрупах «AILF-A» та «AILF-B» визначена лише тенденція ($p > 0.05$) до їх більших значень в летальній «AILF-B» підгрупі щурів, порівняно з нелетальною «AILF-A» підгрупою: в корі, білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку,

а також тенденцію ($p > 0.05$) до більших показників площі перицелюлярних просторів порівняно з показниками площі периваскулярних просторів в корі ВПГМ, таламусі та смугастому тілі щурів летальної підгрупи «AILF-B» (табл. 6.4).

Таблиця 6.4 – Морфометричні показники площі (мкм²) перицелюлярних і периваскулярних просторів в тканині ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B» і групи контролю

Показники	Підгрупа «AILF-A»	Підгрупа «AILF-B»	Контроль
Кора ВПГМ			
ПВп+ПЦп, мкм ²	8.52 (6.04; 9.09)*	11.45 (8.84; 12.16)*	4.82 (3.15; 5.71)
ПЦп, мкм ²	7.18 (6.15; 9.81)*	12.41 (9.26; 12.67)*	3.09 (2.75; 4.62)
ПВп, мкм ²	7.84 (6.37; 8.12)*	10.39 (8.04; 11.08)* ^П	5.18 (2.56; 5.55)
Біла речовина ВПГМ			
ПВп+ПЦп, мкм ²	7.84 (6.71; 9.85)*	10.20 (9.06; 10.73)*	4.19 (3.48; 5.39)
ПЦп, мкм ²	6.34 (5.08; 9.47)*	9.42 (8.15; 10.46)*	3.63 (2.96; 4.47)
ПВп, мкм ²	7.19 (6.72; 8.86)*	10.08 (7.12; 11.18)*	4.21 (3.09; 5.64)
Гіпокамп			
ПВп+ПЦп, мкм ²	6.50 (6.11; 8.26)*	8.43 (7.01; 10.15)*	4.72 (3.53; 5.67)
ПЦп, мкм ²	6.35 (6.21; 7.84)*	8.51 (6.10; 8.76)*	4.05 (2.86; 5.35)
ПВп, мкм ²	7.81 (7.47; 8.15)*	8.10 (7.96; 9.26)*	5.21 (4.38; 6.05)
Таламус			
ПВп+ПЦп, мкм ²	8.68 (6.53; 9.14)*	13.37 (8.89; 14.62)*	4.47 (3.64; 5.40)
ПЦп, мкм ²	9.25 (7.28; 9.42)*	13.02 (9.20; 13.98)*	3.56 (2.93; 4.42)
ПВп, мкм ²	8.63 (6.45; 9.55)*	10.74 (8.12; 11.70)* ^П	4.82 (3.90; 5.36)
Смугасте тіло			
ПВп+ПЦп, мкм ²	7.83 (6.97; 9.45)*	12.73 (9.15; 13.79)*	5.24 (4.86; 6.03)
ПЦп, мкм ²	7.14 (6.62; 9.24)*	11.42 (9.03; 11.61)*	4.57 (3.93; 5.06)
ПВп, мкм ²	7.22 (6.85; 8.29)*	10.15 (7.19; 10.64)* ^П	5.12 (4.70; 5.81)
Мозочок			
ПВп+ПЦп, мкм ²	8.70 (6.17; 9.54)*	11.54 (9.08; 13.12)*	5.14 (4.07; 5.63)
ПЦп, мкм ²	9.45 (6.71; 10.05)*	10.63 (9.86; 13.05)*	4.62 (3.60; 5.18)
ПВп, мкм ²	9.81 (7.42; 10.73)*	10.28 (8.57; 11.19)*	5.73 (4.89; 5.31)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем ($p < 0.05$); (П) – тенденція до різниці між показниками ПЦп і ПВп ($p > 0.05$).



Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем ($p < 0.05$).

Рисунок 6.16 – Медіанні значення площі набрякових просторів (в μm^2) в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), 3ЗГ (С), таламусі (Д), смугастому тілі (Е), корі та білій речовині мозочку (F) щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».

Імуногістохімічна характеристика астроглії головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

Дослідження експресії GFAP. ІГХ дослідження білку проміжних філаментів астроцитів ГМ контрольних щурів показало, що кортикальна астрогліальна GFAP-позитивна популяція представлена переважно протоплазматичними формами, які своїми васкулярними кінцевими ніжками контурували зовнішній шар ГЕБ. GFAP⁺-астроцити білої речовини мали типові морфологічні риси фіброзного (фібрилоутворюючого) морфотипу, а в гіпокампі, таламусі, смугастому тілі та мозочку обидва морфотипи астроцитів поєднувалися із переважанням фіброзного. Усі досліджувані відділи ГМ характеризувалися неперекриваючим територіальним розташуванням GFAP⁺-астроцитів, що відповідало ознакам нереактивного стану астроглії (рис. 6.17).

Після AILF-процедури в усіх досліджених відділах ГМ щурів виявлено різке зменшення кількості та розмірів GFAP⁺ астроцитів та їх відростків. Відростки були тоншими і коротшими, в основному це були несудинні відростки і в набагато меншій кількості – судинні кінцеві ніжки (рис. 6.18).

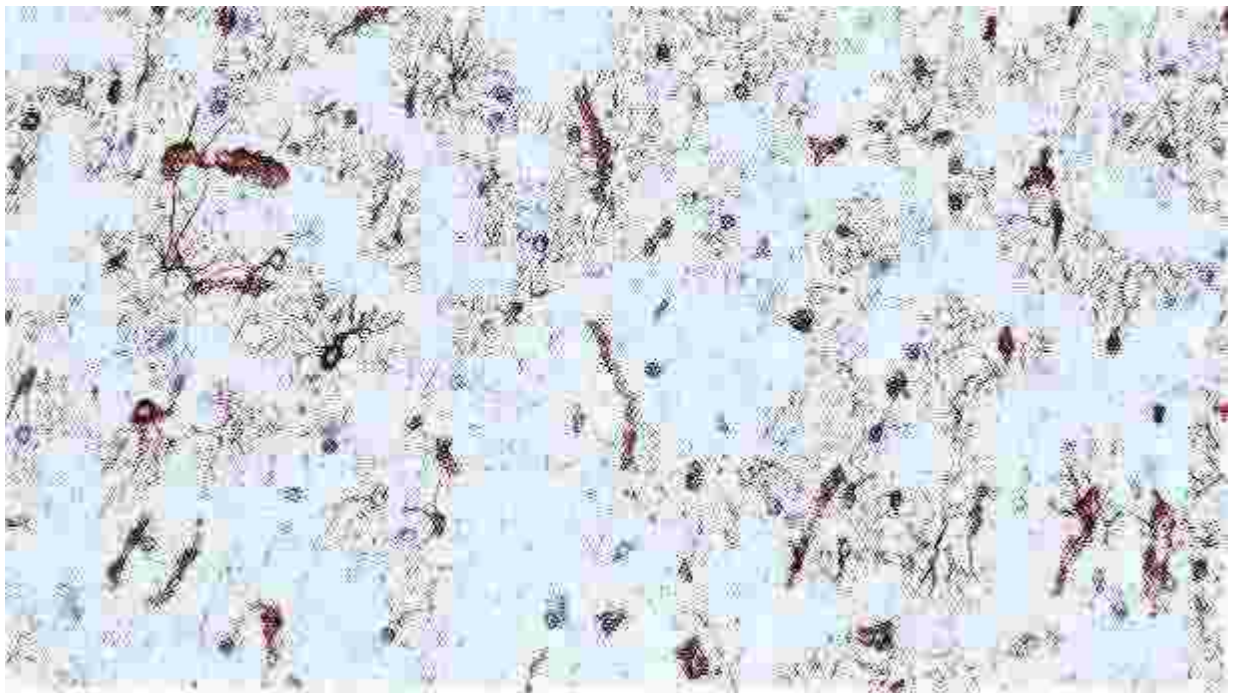


Рисунок 6.17 – Експресія GFAP в корі головного мозку контрольного щура групи «AILF-C» через 24 год після фіктивної процедури. Мо monoclonal GFAP Ab (clone ASTRO6), зб. x200.

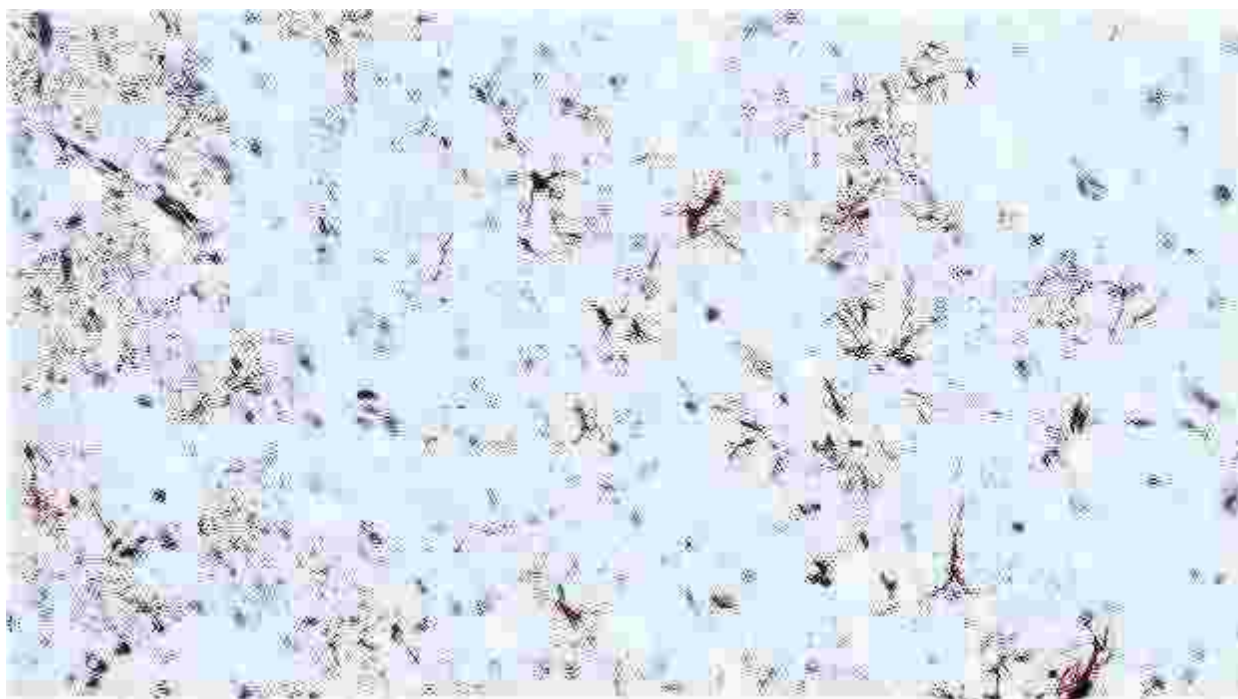


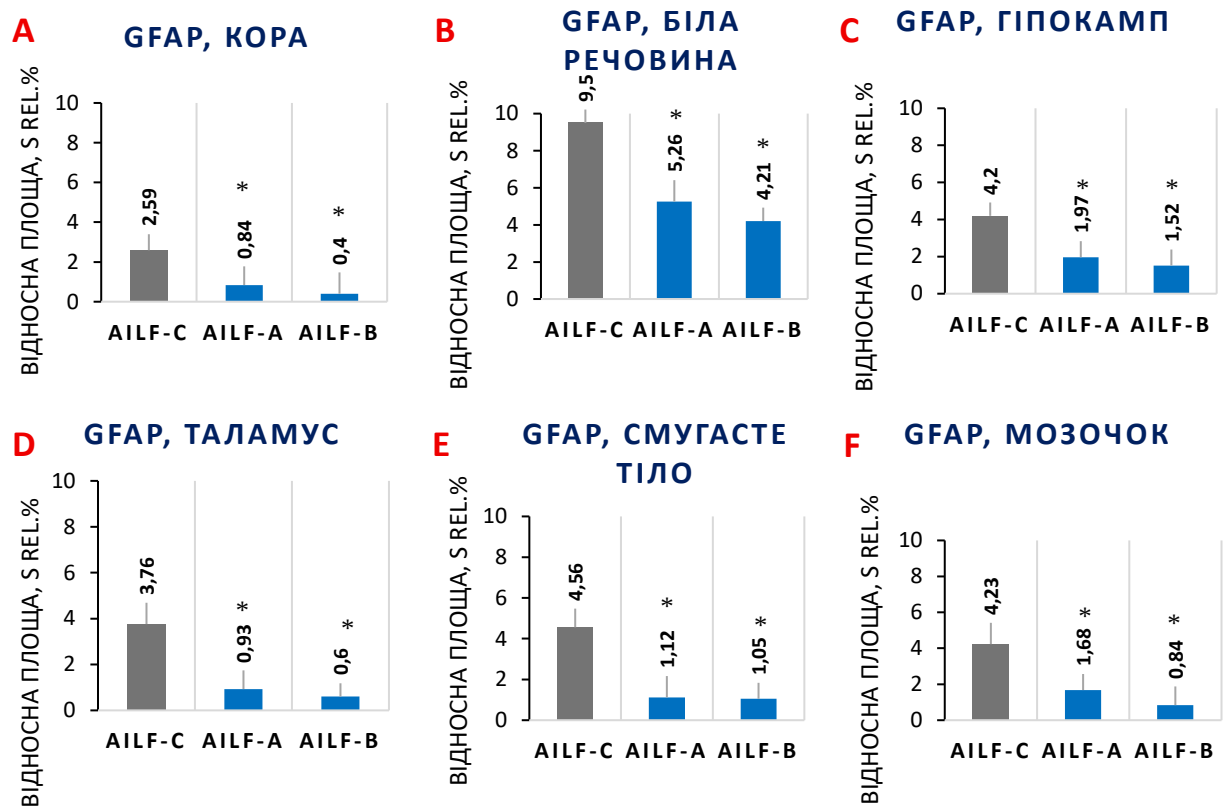
Рисунок 6.18 – Експресія GFAP в корі головного мозку щура, летальної підгрупи «AILF-B» на 24 год постін'єкційного періоду. Мо monoclonal GFAP Ab (clone ASTRO6), зб. x200.

ІГХ дослідження також виявило в усіх досліджених відділах ГМ щурів обох підгруп (нелетальної «AILF-A» і летальної «AILF-B») виражене і достовірне зниження площі експресії GFAP відносно показників щурів контрольної групи (табл. 6.5., рис. 6.19).

Таблиця 6.5 – Показники експресії GFAP (S rel%) у різних відділах ГМ щурів груп «AILF-A», «AILF-B», «AILF-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«AILF-A»	«AILF-B»	«AILF-C»
Кора	0.84 (0.48; 2.07) *	0.40 (0.34; 1.82) *	2.59 (2.48; 4.21)
Біла речовина	5.26 (4.70; 5.92) *	4.21 (3.21; 5.76) *	9.50 (6.31; 10.69)
Гіпокамп	1.97 (1.42; 2.35) *	1.52 (0.93; 2.24) *	4.20 (2.58; 4.89)
Таламус	0.93 (0.41; 2.10) *	0.60 (0.31; 1.90) *	3.76 (2.92; 4.71)
Смугасте тіло	1.12 (1.08; 3.25) *	1.05 (0.96; 3.18) *	4.56 (3.79; 5.84)
Мозочок	1.68 (1.34; 3.32) *	0.84 (0.63; 3.26) *	4.23 (3.55; 4.62)

Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0.05$).

Рисунок 6.19 – Медіанні значення експресії GFAP в ГМ щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».

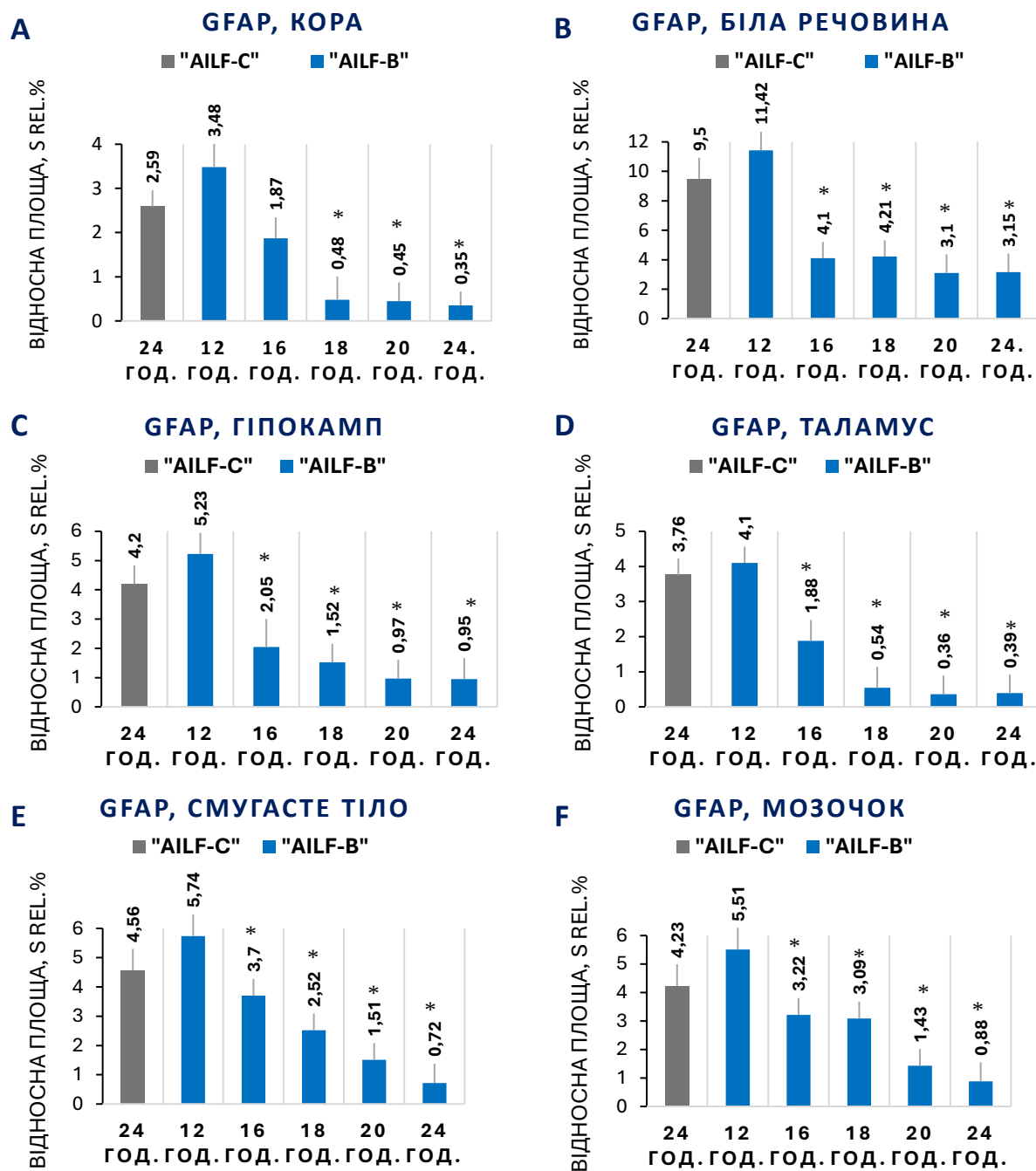
Достовірне ($p < 0.05$) зниження відносної площі GFAP-позитивного матеріалу відносно показників контролю в летальній підгрупі «AILF-B» і в нелетальній підгрупі «AILF-A» становило: в корі ВПГМ – в 6.47 рази і в 3.08 рази (відповідно); в білій речовині ВПГМ – в 2.25 рази і в 1.8 рази (відповідно); в гіпокампі – в 2.76 рази і в 2.34 рази (відповідно); в таламусі – в 6.26 рази і в 4.04 рази (відповідно); в смугастому тілі – в 4.34 рази і в 4.07 рази (відповідно); в мозочку – в 5.05 рази і в 2.51 рази (відповідно). Визначалася тенденція ($p > 0.05$) до більш значущого зменшення відносної площі GFAP-імунопозитивного матеріалу в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B», порівняно з нелетальною підгрупою «AILF-A». Із наведених на рисунку 6.19 даних видно, що у щурів в обох «AILF»-підгрупах більш виразне зниження експресії GFAP спостерігалось в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку ГМ ($p > 0.05$). Мінімальні значення експресії GFAP в ГМ щурів летальної і нелетальної підгруп спостерігалось на 24 год експерименту.

Цікавою особливістю було те, що у щура летальної групи, що помер першим на 12 годині постін'єкційного періоду, було відзначено тенденцію до підйому рівнів експресії GFAP відносно показників контрольної групи у всіх досліджених відділах ГМ, але показники щурів, що загинули на 16 год., 18 год., 20 год. і 24 год., навпаки, характеризувалися поступовим динамічним зниженням, окрім сенсомоторної кори ГМ, де достовірне ($p<0.05$) зниження експресії GFAP відносно контролю відбулося лише з 18 год. після AILF-процедури (табл. 6.6, рис. 6.20).

Таблиця 6.6 – Показники експресії GFAP (S rel%) у різних відділах ГМ тварин летальної підгрупи «AILF-B» в динаміці постін'єкційного періоду та в групі контролю «AILF-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«AILF-B»					«AILF-C» 24 год.
	Час після ін'єкції парацетамолу					
	12 год.	16 год.	18 год.	20 год.	24 год.	
Кора	3.48 (3.24; 4.21)	1.87 (1.85; 2.76)	0.48 (0.46; 1.48) *	0.45 (0.32; 1.10) *	0.35 (0.31; 0.54) *	2.59 (2.48; 4.21)
Біла речовина	11.42 (7.93; 11.34)	4.10 (3.57; 5.92) *	4.21 (3.23; 4.56) *	3.10 (2.37; 4.10) *	3.15 (2.29; 4.06) *	9.50 (6.31; 10.69)
Гіпокамп	5.23 (3.41; 5.52)	2.05 (1.38; 2.50) *	1.52 (0.96; 1.62) *	0.97 (0.90; 1.76) *	0.95 (0.81; 1.38) *	4.20 (2.58; 4.89)
Таламус	4.10 (3.28; 4.86)	1.88 (1.45; 2.77) *	0.54 (0.50; 2.02) *	0.36 (0.30; 1.98) *	0.39 (0.34; 2.05) *	3.76 (2.92; 4.71)
Смугасте тіло	5.74 (3.53; 5.98)	3.70 (3.23; 3.76) *	2.52 (2.40; 3.14) *	1.51 (1.26; 2.08) *	0.72 (0.51; 2.15) *	4.56 (3.79; 5.84)
Мозочок	5.51 (4.36; 5.72)	3.22 (2.85; 3.43) *	3.09 (2.74; 3.20) *	1.43 (1.05; 1.86) *	0.88 (0.68; 2.07) *	4.23 (3.55; 4.62)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p<0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками групи контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 6.20 – Динаміка експресії GFAP в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в постін'єкційному періоді відносно групи контролю «AILF-C».

Імуногістохімічне дослідження експресії GS. В усіх досліджених відділах ГМ щурів контрольної групи «AILF-C» через 24 год виявлена експресія GS: найвищий рівень – у сенсомоторній корі ВПГМ та найнижчий рівень – у підкірковій білій речовині ВПГМ. В усіх досліджених відділах ГМ контрольних тварин GS-позитивними були переважно судинні астрогліальні кінцеві ніжки і в набагато меншій кількості – позасудинні астроцитарні відростки в нейропілі (рис. 6.21).

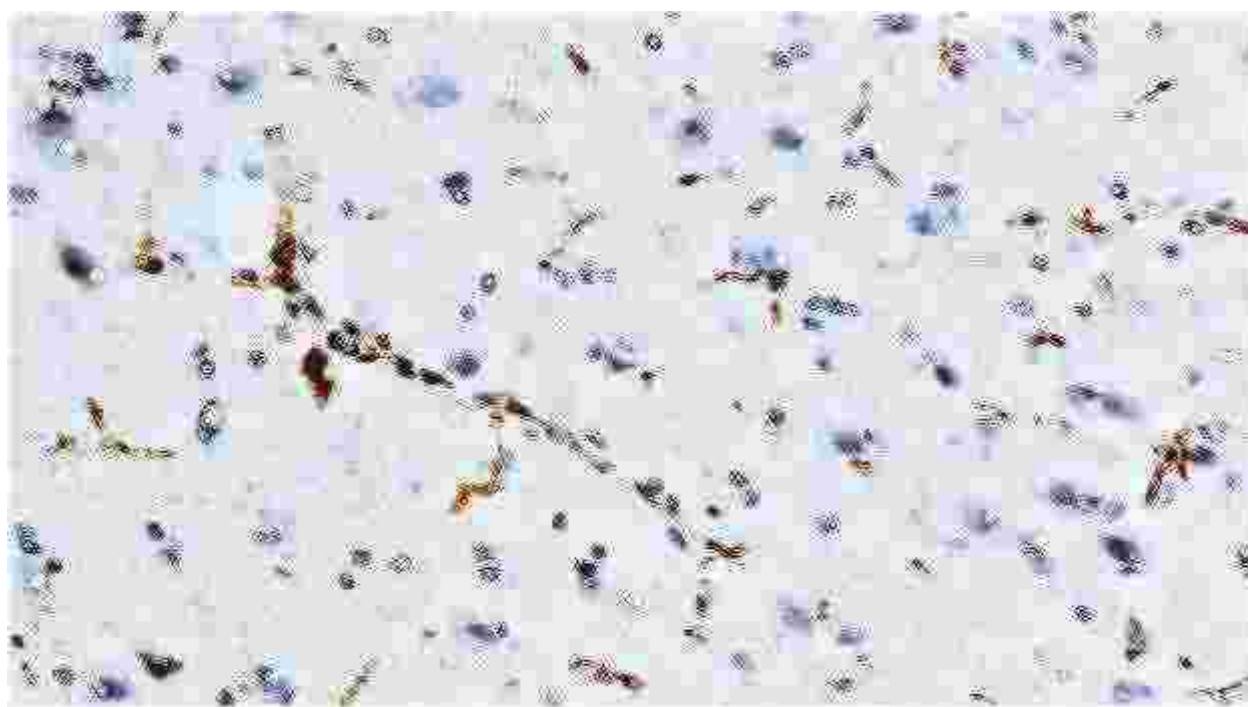


Рисунок 6.21 – Експресія GS в корі головного мозку контрольного щура (група «AILF-C») через 24 год після фіктивної процедури (Rb polyclonal anti-GS Ab). 3б. x200.

ІГХ дослідження ГМ щурів після процедури AILF виявило суттєве збільшення площі GS-імунопозитивного матеріалу, пов'язане з появою експресії GS в цитоплазмі перикаріонів астроцитів, а також з появою в усіх досліджених відділах ГМ рівномірно розподілених GS-позитивних астрогліальних відростків (рис. 6.22).

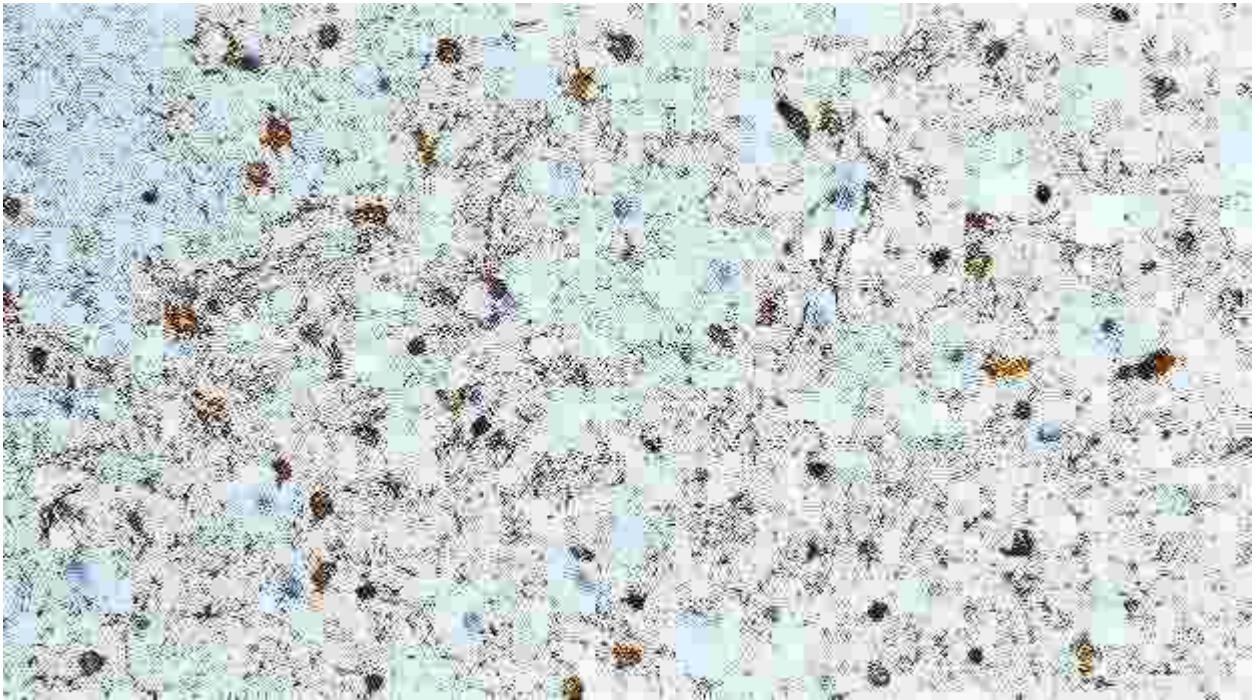


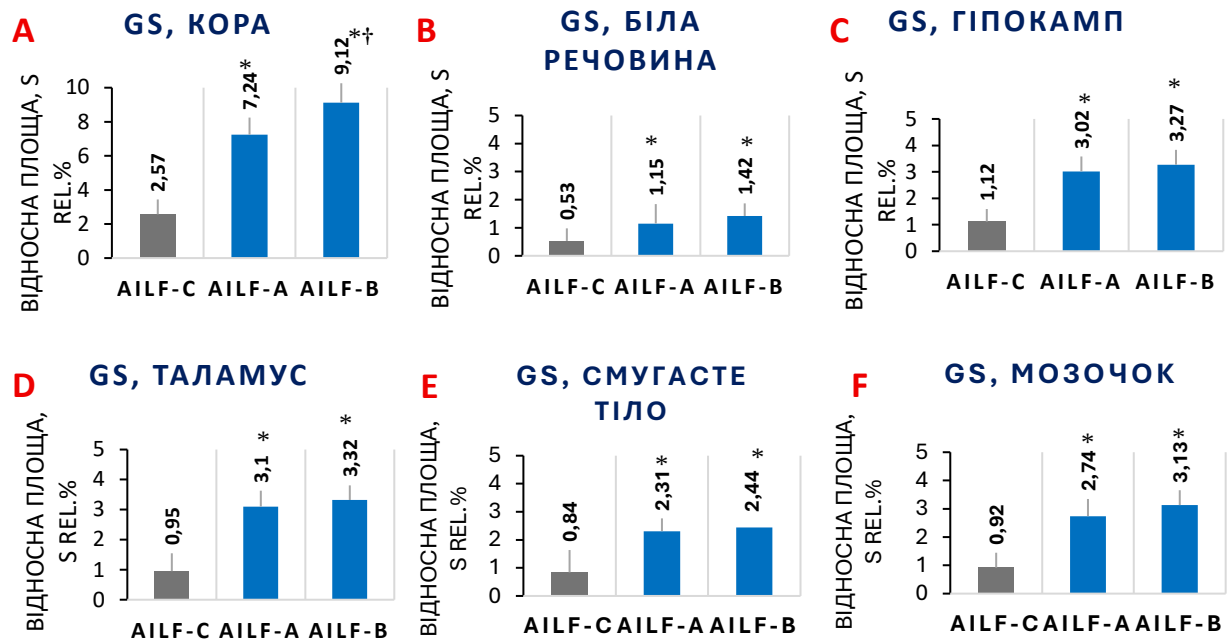
Рисунок 6.22 – Експресія GS в корі головного мозку щура летальної підгрупи «AILF-B» на 24 год постін'єкційного періоду (Rb polyclonal anti-GS Ab). 36. x200.

У експериментальних тварин нелетальної «AILF-A» і летальної «AILF-B» підгруп достовірно підвищення площі експресії GS, відносно контрольної групи, визначалося в усіх досліджених відділах ГМ, але найсуттєвіше збільшення реєструвалося в сенсомоторній корі ВПГМ, таламусі та в мозочку. При цьому прослідковувалася тенденція ($p>0.05$) до більш значущого підвищення експресії GS в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B», порівняно з нелетальною групою «AILF-A», а в корі ВПГМ підвищення експресії GS було статистично достовірним ($p<0.05$) (табл. 6.7, рис. 6.23).

Таблиця 6.7 – Показники експресії GS в ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B» і групи «AILF-C» (Srel.%); Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	AILF-A	AILF-B	AILF-C
Кора	7.24 (4.35; 7.63) *	9.12 (7.86; 10.04) *†	2.57 (2.26; 3.63)
Біла речовина	1.15 (0.97; 2.12) *	1.42 (1.30; 2.23) *	0.53 (0.24; 0.84)
Гіпокамп	3.02 (2.91; 4.28) *	3.27 (3.04; 4.88) *	1.12 (0.53; 1.90)
Таламус	3.10 (2.23; 3.24) *	3.32 (2.11; 3.90) *	0.95 (0.23; 1.65)
Смугасте тіло	2.31 (2.17; 3.72) *	2.44 (2.17; 4.16) *	0.84 (0.34; 1.23)
Мозочок	2.74 (2.51; 4.03) *	3.13 (2.84; 4.69) *	0.92 (0.58; 1.82)

Примітка. (*) достовірні відмінності порівняно з контрольною групою; (†) достовірні відмінності з підгрупою «AILF-A» ($p<0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (†) достовірні відмінності з підгрупою «AILF-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 6.23 – Медіанні значення експресії GS в ГМ щурів групи контролю «AILF-C» та в підгрупах «AILF-A» і «AILF-B».

Рівень ІГХ експресії GS в ГМ щурів летальної «AILF-B» і нелетальної «AILF-A» підгруп достовірно ($p < 0.05$) перевищував показники щурів групи контролю: в корі ВПГМ – в 3.52 рази і в 2.79 рази (відповідно); в білій речовині ВПГМ – в 2.67 рази і в 2.16 рази (відповідно); в гіпокампі – в 2.91 рази і в 2.69 рази (відповідно); в таламусі – в 3.49 рази і в 3.26 рази (відповідно); в смугастому тілі – в 2.90 рази і в 2.75 рази (відповідно); в мозочку – в 3.40 рази і в 2.97 рази (відповідно). В ГМ щурів обох «AILF»-підгруп найбільш виразне підвищення експресії GS спостерігалось в корі ВПГМ, таламусі та в мозочку (див. рис. 6.23).

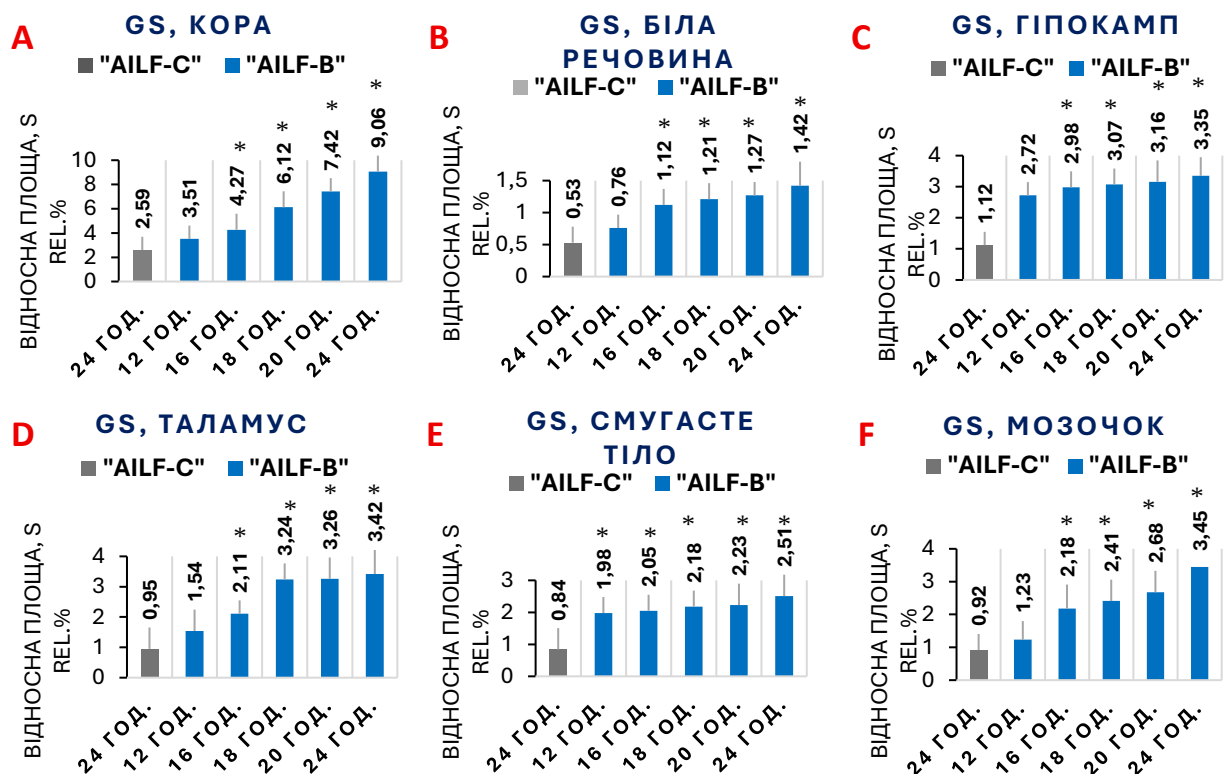
У тварин летальної підгрупи «AILF-B» протягом постін'єкційного періоду підвищення площі експресії GS у ГМ мало зростаючу динаміку з максимальними показниками на 24 год експерименту. Перше достовірне ($p < 0.05$) перевищення площі експресії GS показників щурів групи контролю було зафіксоване в смугастому тілі ГМ щура, що помер на 12 год експерименту, а достовірне перевищення контрольних показників у всіх

досліджених відділах ГМ спостерігалось з 16-ї год постін'єкційного періоду у всіх померлих тварин групи «AILF-B» (табл. 6.8, рис. 6.24).

Таблиця 6.8 – Показники експресії GS (S rel%) в різних відділах ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в динаміці постін'єкційного періоду та в групі контролю «AILF-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«AILF-B»					«AILF-C»
	Час після ін'єкції парацетамолу					24 год.
	12 год.	16 год.	18 год.	20 год.	24 год.	
Кора	3.51 (2.84; 4.15)	4.27 (3.97; 5.17) *	6.12 (5.23; 7.03) *	7.42 (6.10; 9.17) *	9.06 (8.42; 10.25) *	2.59 (2.26; 3.63)
Біла речовина	0.76 (0.65; 1.07)	1.12 (0.90; 1.24) *	1.21 (1.15; 1.39) *	1.27 (1.06; 2.12) *	1.42 (1.30; 2.23) *	0.53 (0.24; 0.84)
Гіпокамп	2.72 (1.46; 2.83)	2.98 (2.34; 3.62) *	3.07 (2.68; 3.47) *	3.16 (2.91; 4.32) *	3.35 (3.04; 4.88) *	1.12 (0.53; 1.90)
Таламус	1.54 (1.47; 1.85)	2.11 (1.94; 2.23) *	3.24 (2.19; 3.45) *	3.26 (2.05; 3.73) *	3.42 (2.23; 4.21) *	0.95 (0.23; 1.65)
Смугасте тіло	1.98 (1.63; 2.06) *	2.05 (1.86; 2.15) *	2.18 (1.93; 2.87) *	2.23 (2.10; 3.56) *	2.51 (2.40; 4.32) *	0.84 (0.34; 1.23)
Мозочок	1.23 (1.06; 2.69)	2.18 (1.95; 2.50) *	2.41 (2.13; 2.69) *	2.68 (2.51; 3.82) *	3.45 (2.97; 4.70) *	0.92 (0.58; 1.82)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 6.24 – Динаміка експресії GS в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в постін'єкційному періоді відносно групи контролю «AILF-C».

Імуногістохімічне дослідження експресії AQP4. У контрольних щурів групи «AILF-C» через 24 год найвищий показник експресії AQP4 виявлено у сенсомоторній корі ВПГМ і гіпокампі, а найнижчий – у підкірковій білій речовині ВПГМ. AQP4-імунопозитивність в усіх досліджених відділах ГМ контрольних тварин була асоційована з судинними астрогліальними кінцевими ніжками і в меншій мірі – з астрогліальними відростками в нейропілі (рис. 6.25).

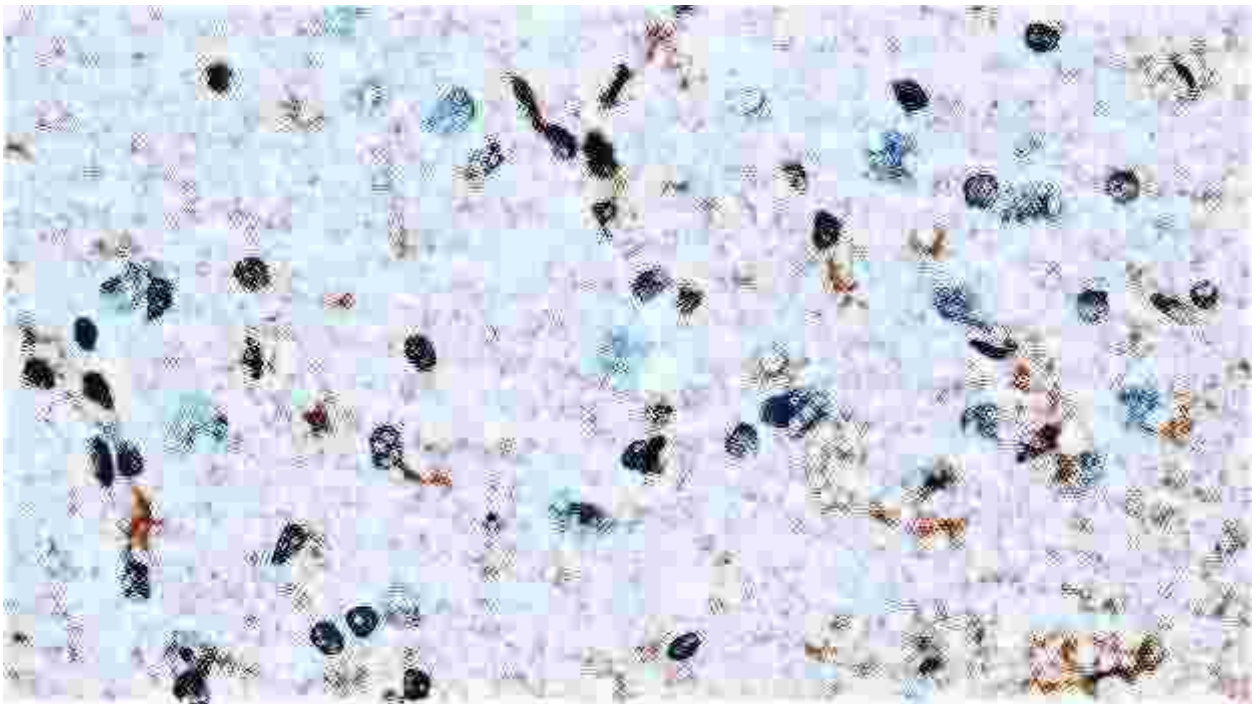


Рисунок 6.25 – Експресія AQP4 в корі ГМ контрольного щура групи «AILF-C» через 24 год. після фіктивної процедури (Rb polyclonal anti-AQP4 Ab). Зб. x400.

В ГМ щурів летальної «AILF-B» і нелетальної «AILF-A» групи після введення парацетамолу визначено суттєве збільшення площі експресії AQP4, пов'язане з астрогліальними судинними кінцевими ніжками, відростками астроцитів в нейропілі та з відростками термінальної субпіальної астроглії, через що нейропілі усіх відділів ГМ цих щурів набув помірного або слабкого AQP4-імуномічення (рис. 6.26).

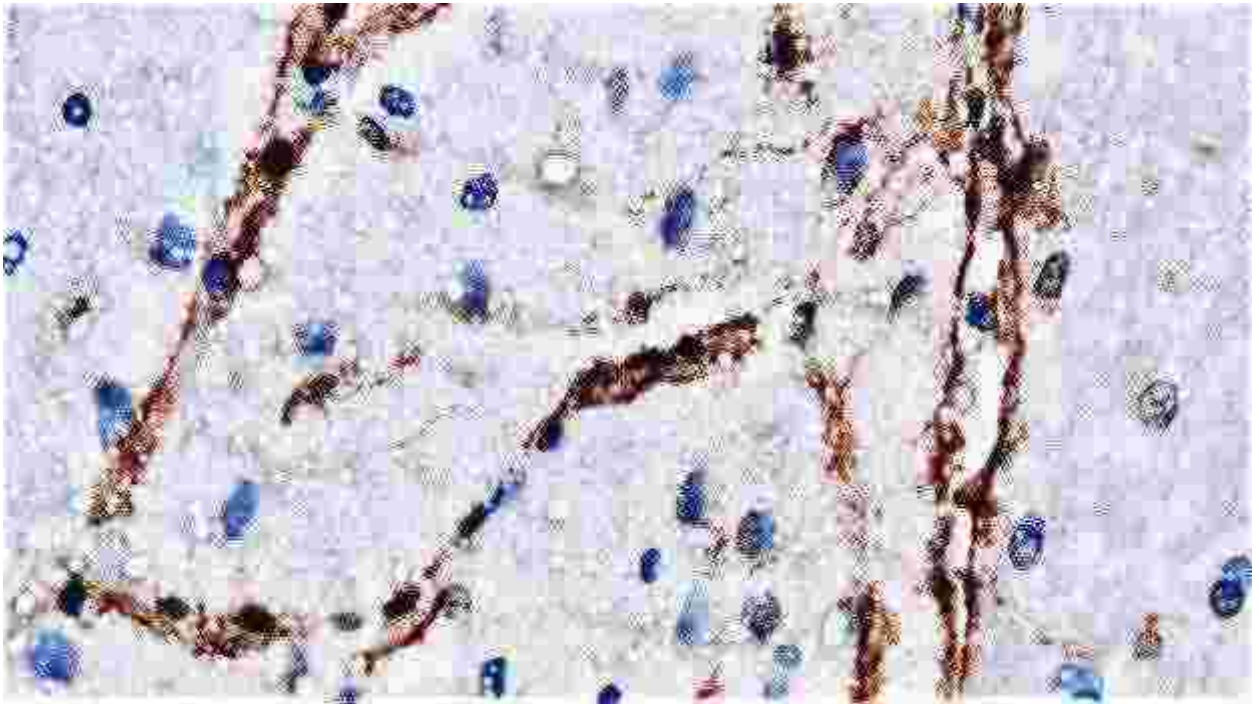


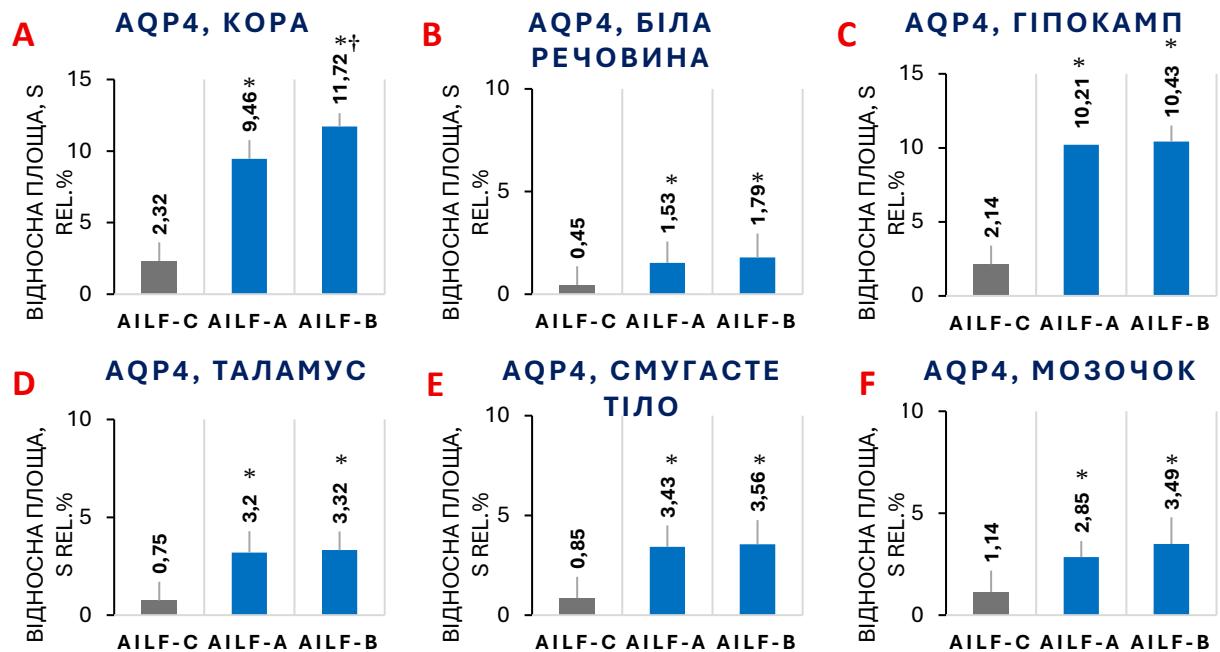
Рисунок 6.26 – Експресія AQP4 в корі ГМ щура летальної підгрупи «AILF-B» через 24 год. після процедури AILF (Rb polyclonal anti-AQP4 Ab). Зб. x400.

Достовірне зростання площі експресії AQP4 в ГМ щурів підгруп «AILF-A» і «AILF-B», відносно щурів групи контролю «AILF-C», відзначалося в усіх досліджених відділах ГМ з найбільшим підвищенням в сенсомоторній корі ВПГМ та гіпокампі. В ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» прослідковувалася тенденція ($p>0.05$) до більш значущого підвищення експресії AQP4 порівняно з показниками ГМ щурів нелетальної підгрупи «AILF-A», при цьому в корі ВПГМ таке перевищення експресії AQP4 було статистично достовірним ($p<0.05$) (табл. 6.9, рис. 6.27).

Таблиця 6.9 – Експресія AQP4 в ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B», «AILF-C» (Srel.%); Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«AILF-A»	«AILF-B»	«AILF-C»
Кора	9.46 (7.68; 9.72) *	11.72 (10.11; 12.54) *†	2.32 (2.12; 3.45)
Біла речовина	1.53 (1.10; 1.85) *	1.79 (1.27; 1.92) *	0.45 (0.25; 1.06)
Гіпокамп	10.21 (8.93; 10.54) *	10.43 (9.15; 10.87) *	2.14 (2.07; 3.23)
Таламус	3.20 (2.89; 4.43) *	3.32 (3.10; 4.56) *	0.75 (0.43; 1.68)
Смугасте тіло	3.43 (2.91; 4.59) *	3.56 (3.25; 4.77) *	0.85 (0.36; 1.72)
Мозочок	2.85 (1.74; 4.22) *	3.49 (3.23; 4.38) *	1.14 (0.79; 1.54)

Примітка. (*) достовірні відмінності порівняно з контрольною групою; (†) достовірні відмінності з підгрупою «AILF-A» ($p<0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (†) достовірні відмінності з підгрупою «AILF-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 6.27 – Медіанні значення експресії AQP4 в ГМ щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».

ІГХ експресія AQP4 в ГМ щурів летальної «AILF-B» і нелетальної «AILF-A» підгруп достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники контролю: в корі ВПГМ – в 5.05 рази і в 4.07 рази (відповідно); в білій речовині ВПГМ – в 3.97 рази і в 3.40 рази (відповідно); в гіпокампі – в 4.87 рази і в 4.77 рази (відповідно); в таламусі – в 4.42 рази і в 4.26 рази (відповідно); в смугастому тілі – в 4.18 рази і в 4.03 рази (відповідно); в мозочку – в 3.06 рази і в 2.50 рази (відповідно). В ГМ щурів обох «AILF»-підгруп найбільш виразне підвищення експресії AQP4 відносно контролю спостерігалось в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі та смугастому тілі ГМ щурів (див. табл. 6.9, рис. 6.27).

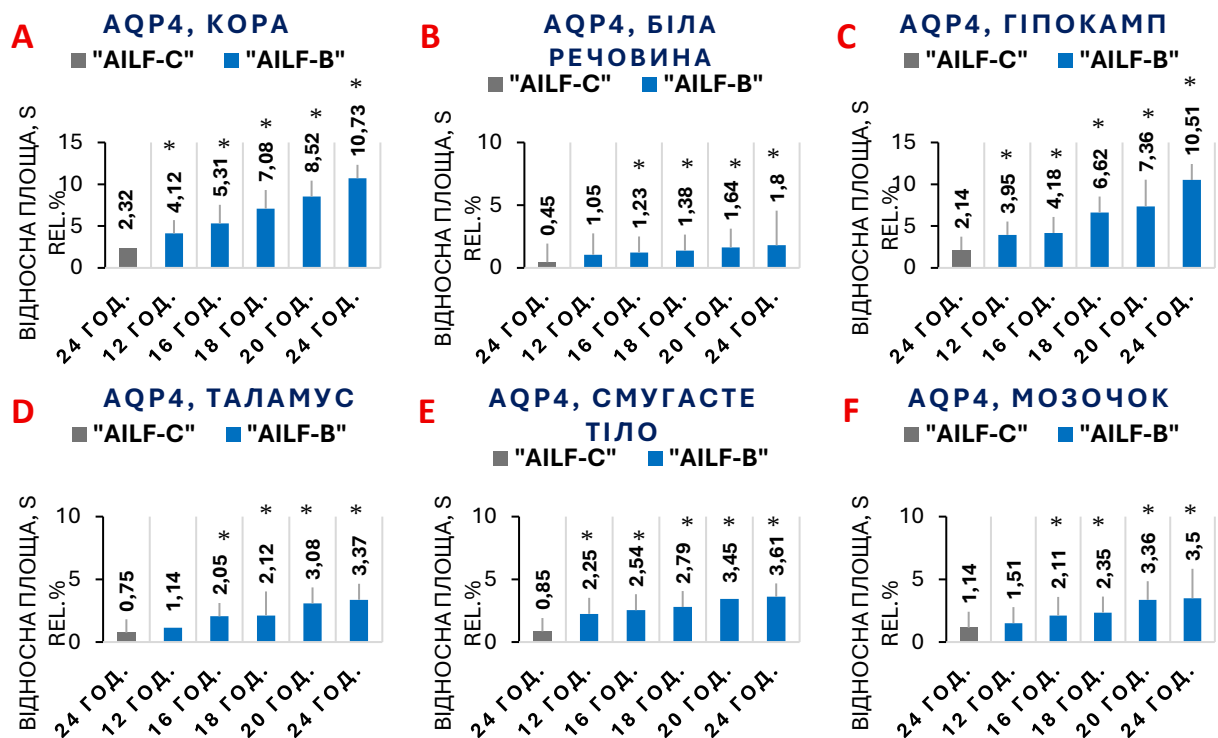
У щурів летальної підгрупи «AILF-B» підвищення площі експресії AQP4 у ГМ мало зростаючу динаміку протягом постін'єкційного періоду з максимальними показниками на 24 год експерименту. Перше достовірне ($p < 0.05$) перевищення показників експресії AQP4 групи контролю було зафіксоване в корі ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ щура летальної підгрупи «AILF-B», що помер на 12 год після ін'єкції парацетамолу, тоді як в

білій речовині, таламусі та мозочку перше достовірне підвищення експресії AQP4 зафіксоване на 16-й год експерименту (табл. 6.10, рис. 6.28).

Таблиця 6.10 – Показники експресії AQP4 (S rel%) в різних відділах ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в динаміці постін'єкційного періоду та в групі контролю «AIFL-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«AIFL-B»					«AIFL-C»
	Час після ін'єкції парацетамолу					24 год.
	12 год.	16 год.	18 год.	20 год.	24 год.	
Кора	4.12 (3.73; 4.34) *	5.31 (4.57; 5.56) *	7.08 (5.63; 7.19) *	8.52 (8.28; 10.04) *	10.73 (10.56; 12.69) *	2.32 (2.12; 3.45)
Біла речовина	1.05 (0.86; 1.13)	1.23 (1.20; 1.44) *	1.38 (1.12; 1.45) *	1.64 (1.51; 1.84) *	1.80 (1.36; 1.97) *	0.45 (0.25; 1.06)
Гіпокамп	3.95 (3.46; 4.07) *	4.18 (3.21; 4.32) *	6.62 (5.34; 6.72) *	7.36 (7.23; 9.87) *	10.51 (9.72; 10.90) *	2.14 (2.07; 3.23)
Таламус	1.14 (0.88; 1.26)	2.05 (1.93; 2.16) *	2.12 (2.06; 2.52) *	3.08 (2.94; 3.14) *	3.37 (3.24; 4.61) *	0.75 (0.43; 1.68)
Смугасте тіло	2.25 (1.92; 2.48) *	2.54 (2.16; 2.67) *	2.79 (2.33; 3.10) *	3.45 (3.21; 3.67) *	3.61 (3.32; 4.81) *	0.85 (0.36; 1.72)
Мозочок	1.51 (1.48; 1.80)	2.11 (2.07; 2.25) *	2.35 (2.26; 2.54) *	3.36 (3.28; 4.14) *	3.50 (3.23; 4.42) *	1.14 (0.79; 1.54)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 6.28 – Динаміка експресії AQP4 в ГМ щурів летальної підгрупи «AIFL-B» в постін'єкційному періоді відносно групи контролю «AIFL-C».

6.2.3 Електронномікроскопічна і імуногістохімічна характеристика мікроглії головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

Ультраструктурні особливості мікроглії

Електронномікроскопічне дослідження ГМ піддослідних щурів вказаної експериментальної моделі виявило 4 морфотипи мікроглії, що мають певні функціональні відмінності.

Наглядова (патрульна) мікроглія. Кортикальні наглядові мікрогліоцити ідентифіковані як невеликі округло-трикутні клітини діаметром 5–8 мкм з витягнутими або округлими ядрами діаметром 4-5 мкм з компактною (без розширень) каріотекою та численними дрібними інвагінаціями цитоплазми. Мікрогліоцити з осміюфільною цито- і каріоплазмою мали кілька основних відростків неправильної форми товщиною 1-4 мкм, що відходили з полюсів цитоплазмати під тупими кутами, а також невеликі ламелоподії (рис. 6.29). Осміюфільний зернистий ядерний гетерохроматин локалізувався на периферії ядра поблизу нуклеолеми і утворював дрібні скупчення в електроннощільній центральній каріоплазмі. Ядро оточував обідок (шириною 1-2 мкм) щільної цитоплазми, яка містила велику кількість рибосом, подовжені цистерни ендоплазматичного ретикулуму (ЕР), комплексу Гольджі, мітохондрії з щільно упакованими кристами, лізосоми, та інколи – ліпідні включення. Характерною для наглядової мікроглії була наявність невеликих карманів вільного міжклітинного простору, який оточував контури клітини. Наглядова мікроглія в корі ГМ контрольних і AILF-щурів найчастіше локалізувалася в нейропілі і не мала будь-яких міжклітинних контактів (рис. 6.29).

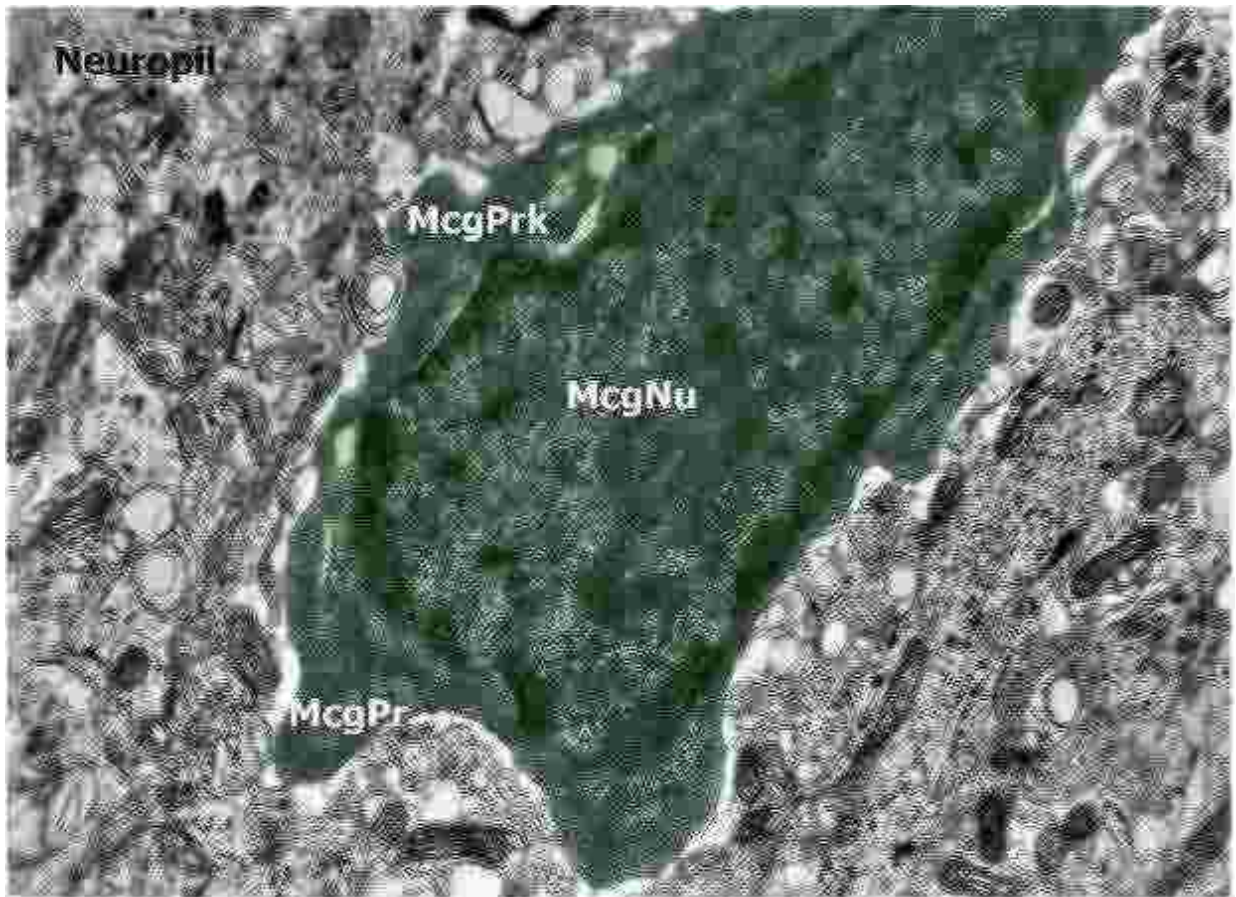


Рисунок 6.29 – Ультраструктура наглядного мікрогліоциту кори щура контрольної групи «AIF-C». TEM, зб. x 11000.

Амебоїдна мікроглія. При трансформації наглядного морфотипу в амебоїдну мікроглію клітина набувала більш округлої форми і більш широкий обідок перикаріону, що містив більшу кількість лізосом і різного виду вакуолі. Характерною ознакою амебоїдного мікрогліоциту була конденсація хроматину ядра біля каріолеми, ретракція основних відростків, наявність коротших і тонкіших цитоплазматичних випинань/шипів (ламелоподій і філоподій), які інколи оточені карманами вільного міжклітинного простору. Амебоїдні мікрогліоцити часто були локалізовані поблизу набряклих астроцитів або синапсів з ознаками дегенеративних змін або серед пухкого набряклого нейропілю (рис. 6.30). Амебоїдна мікроглія, як правило, спостерігалася в ГМ AIF-тварин і у щурів контрольної групи зустрічалася достатньо рідко.

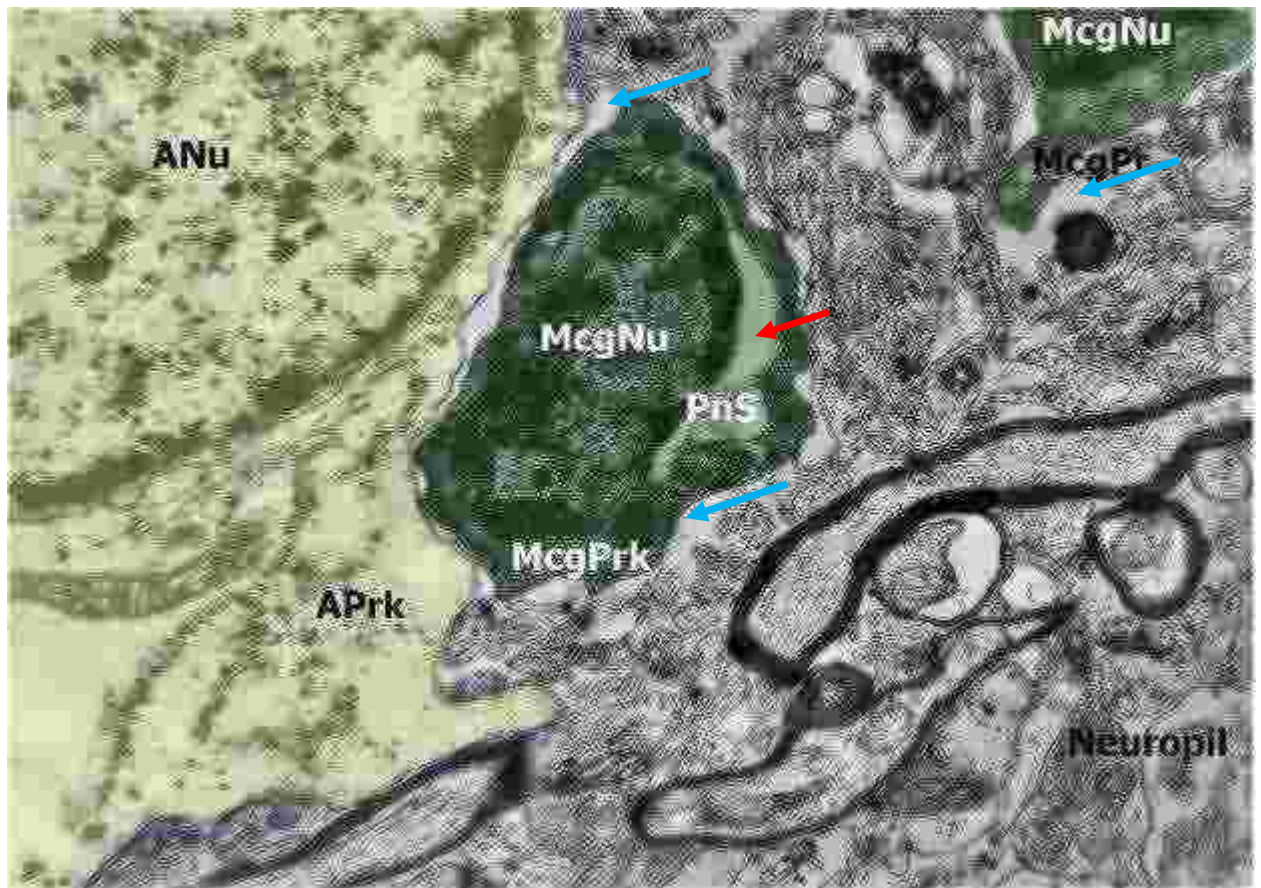


Рисунок 6.30 – Ультраструктура амебоїдного мікрогліоциту з крапковими контактами з плазмолемою астроциту з ознаками незначного набряку. Розширення каріотеки (червона стрілка) та наявність карманів вільного міжклітинного простору навколо мікрогліоцитів (блакитні стрілки). Нижні шари кори ГМ щура летальної групи «AILF-B». TEM, зб. x 10000.

Паличкоподібна мікроглія. На ультраструктурному рівні паличкоподібні мікрогліоцити визначалися за їх витягнутою формою та наявністю різної кількості тонких бічних відростків, що відходили від цитоплазми під гострими та тупими кутами. Довжина профілів тіл таких клітин (10-17 мкм) удвічі перевищувала їх ширину (5-8 мкм). Витягнуті ядра (4-5 мкм у поперечній ширині) займали майже весь об'єм клітин і були оточені вузьким перикаріоном з електронно-щільною цитоплазмою, бідною на ендосоми та різноманітні включення (рис. 6.31). Паличкоподібна мікроглія була виявлена лише в ГМ щурів експериментальної групи «AILF-A».

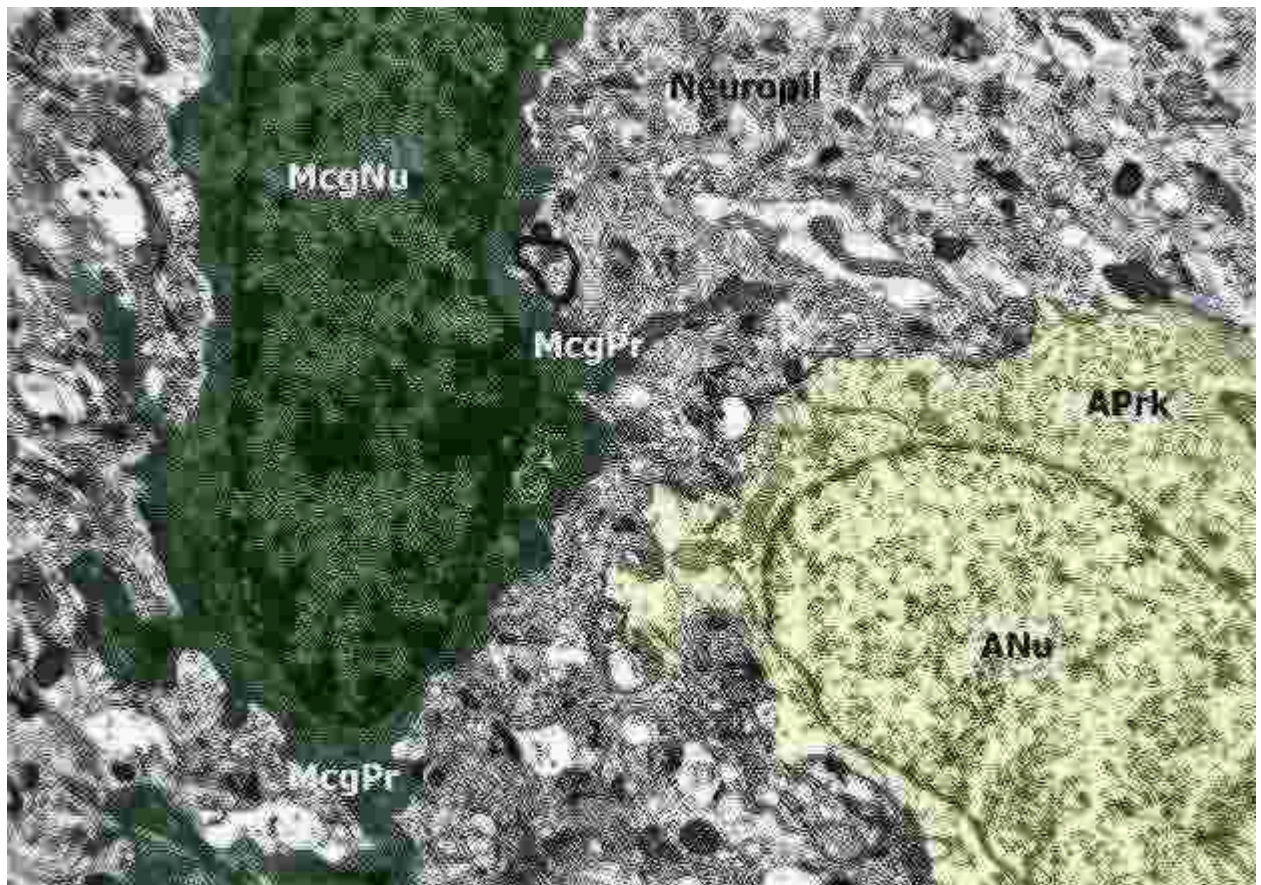


Рисунок 6.31 – Ультраструктура паличкоподібного мікрогліоциту з тонкими бічними відростками, що відходять від цитоплазми під різними кутами. Скупчення мітохондрій в перикаріоні астроцита на боці мікрогліоцита. Кора ГМ щура нелетальної групи «AILF-A», 24 год. після введення парацетамолу. TEM, зб. x 8500.

Гіпертрофічно-подібна мікроглія. На сьогодні в літературних джерелах немає точного опису ультраструктури гіпертрофічної мікроглії і її ідентифікація залишається проблематичною. За результатами виконаних нами електронномікроскопічних досліджень гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити мали значно збільшене тіло (до 10-15 мкм в діаметрі) округло-трикутної або овально-округлої форми, ядро (діаметром до 7-8 мкм) та декілька товстих коротких відростків. Збільшені соматичні профілі таких мікрогліоцитів співставні за розмірами з профілями градчастих («gitter cell-like») мікрогліоцитів. В перикаріоні і відростках більшості гіпертрофічно-подібних мікрогліоцитів рідко містилися лізосоми, фагоцитований матеріал і ліпідні включення (за винятком гранул ліпофусцину), що вказувало на незначну

фагоцитарну активність, а також мітохондрії, цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму і комплексу Гольджі (рис. 6.32). Тіла клітин і її відростки були часто оточені кишнями вільного позаклітинного простору, що вказувало на міграційну здатність клітин. Гіпертрофічно-подібна мікроглія не була виявлена в корі контрольних щурів і була присутня лише в ГМ щурів експериментальних груп «AILF-A» і «AILF-B».

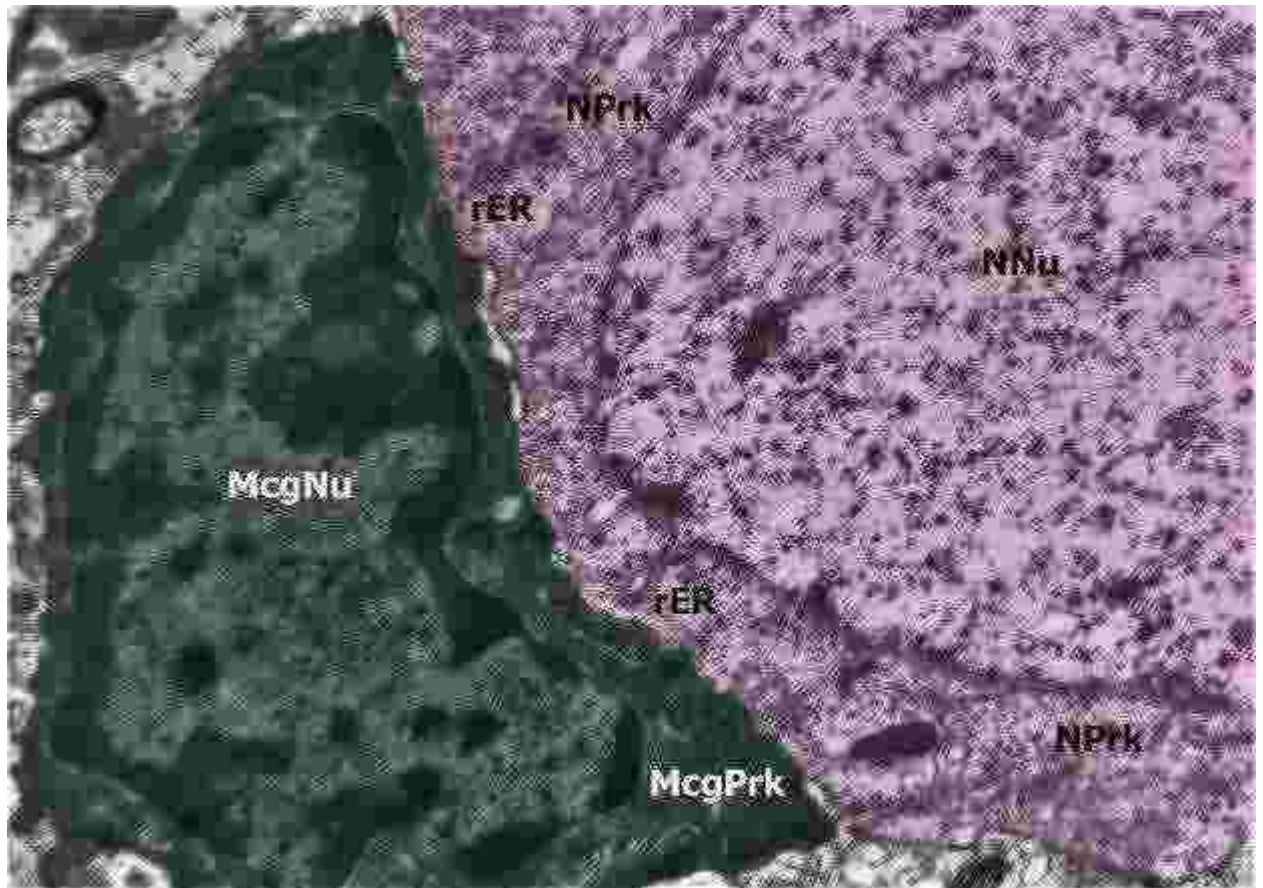


Рисунок 6.32 – Ультраструктура гіпертрофічно-подібного мікрогліоциту, що формує довгий безпосередній контакт з нейроном, в якому визначається незначне просвітлення каріоплазми і одиничні конденсовані мітохондрії. Переміщення ядра нейрону ближче до міжклітинного контакту; наявність контактів гранулярного ЕПР с плазмомемою нейрону. Кора ГМ щура летальної групи «AILF-B», 20 год. після введення парацетамолу. TEM, зб. x 11000.

Більша частина (92.00%) мікроглії кори ГМ щурів контрольної групи «AILF-C» була представлена наглядним морфотипом. Ця ж тенденція була помічена в ГМ щурів нелетальної «AILF-A» і летальної «AILF-B» груп, при тому, що відсоток цих форм був нижчим (60.00% та 76.67%, відповідно) за рахунок появи інших реактивних морфотипів (табл 6.11; рис. 6.33).

Ознаки активації мікроглії в корі ГМ стали очевидними на 12 год після введення парацетамолу з появою амебоїдного морфотипу, який склав 13.33% мікрогліоцитів у щурів летальної підгрупи «AILF-B» і 20% – у щурів нелетальної підгрупи AILF-A на 24 год експерименту (табл 6.11; рис. 6.33).

Таблиця 6.11 – Кількість і відсоткова частина кожного з морфотипів мікроглії в корі ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B», «AILF-C»

Підгрупи	Морфотипи мікроглії				Загальна кількість мікрогліоцитів
	Наглядаюча	Амебоїдна	Паличковидна	Гіпертрофічно-подібна	
AILF-A	12 (60.00%)	4 (20.00%)	2 (10.00%)	2 (10.00%)	20 (100.00%)
AILF-B	23 (76.67%)	4 (13.33%)	0 (0.00%)	3 (10.00%)	30 (100.00%)
AILF-C	23 (92.00%)	2 (8.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	25 (100.00%)
Загальна кількість оцінених мікрогліоцитів в моделі AILF					75 од.

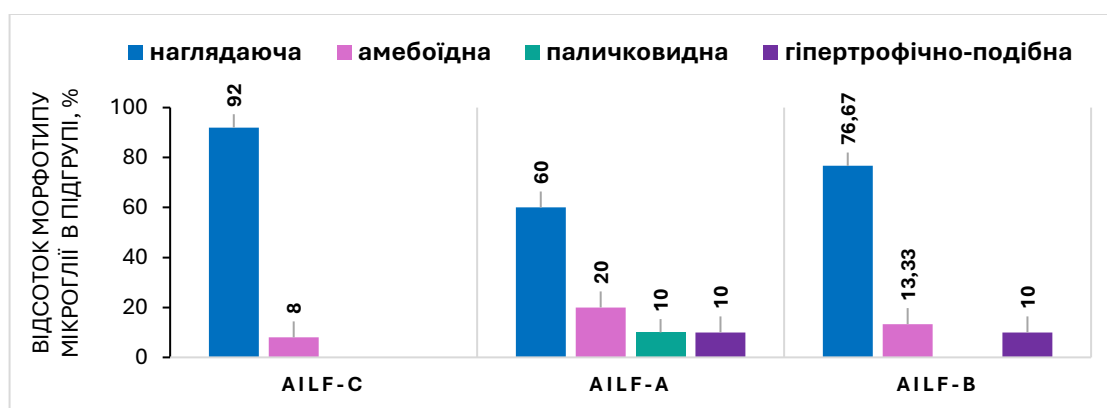


Рисунок 6.33 – Відсоткове співвідношення різних морфотипів мікроглії в корі ГМ щурів підгруп «AILF-C», «AILF-A» і «AILF-B».

В ГМ щурів підгруп «AILF-A» і «AILF-B» наглядова та амебоїдна мікроглія часто визначалася серед набряклого нейропілю та в тісній взаємодії з набряклими астроцитами, периваскулярними астроцитарними кінцевими ніжками і вкрай рідко – в контакті з нейронами. Взаємодія між амебоїдними

мікрогліоцитами та набряклими астроцитарними перикаріонами проявлялася у вигляді взаємного зміщення ядер двох клітин назустріч одне одному та у встановленні крапкових контактів між невеликими випинаннями мікрогліального перикаріону та плазмалею перикаріону астроцитів (див. рис. 6.30). Іноді активація мікрогліально-астроцитарної взаємодії визначалася асиметричним розширенням мікрогліальної карітеки з боку, протилежного міжклітинному контакту (див. рис. 6.30). Важливо відзначити, що ці астроцитно-мікрогліальні контакти були найпоширенішим типом міжклітинної взаємодії в ГМ щурів груп «AILF-A» і «AILF-B» і були рідкими в корі ГМ щурів групи контролю.

Амебоїдна реактивна мікроглія без фагоцитованого матеріалу в цитоплазмі зрідка виявлялася в безпосередній близькості до перикаріону пошкоджених нейронів з накопиченням конденсованих мітохондрій, невеликих вакуолярних включень. При такій взаємодії не утворювалися спеціалізовані контакти клітинних плазмалем, між ними завжди залишався простір, заповнений профілями набряклих астроцитарних відростків, але в нейроні біля тісно прилеглих астроцитарних відростків часто визначалися прилеглі до плазматичної мембрани цистерни гранулярного ЕПР. Астроцитарні відростки, у свою чергу, встановлювали прямі контакти з сомою та/або філоподіями амебоїдної мікроглії і, таким чином, діяли як посередники зв'язку між мікроглією та нейронами (рис. 6.34). Незважаючи на наявність активації амебоїдної мікроглії поруч з пошкодженими нейронами, мікрогліальний перикаріон дуже рідко містив будь-які фагоцитовані включення, лізосоноподібні структури і ніколи не включав ліпофусциноподібні гранули.

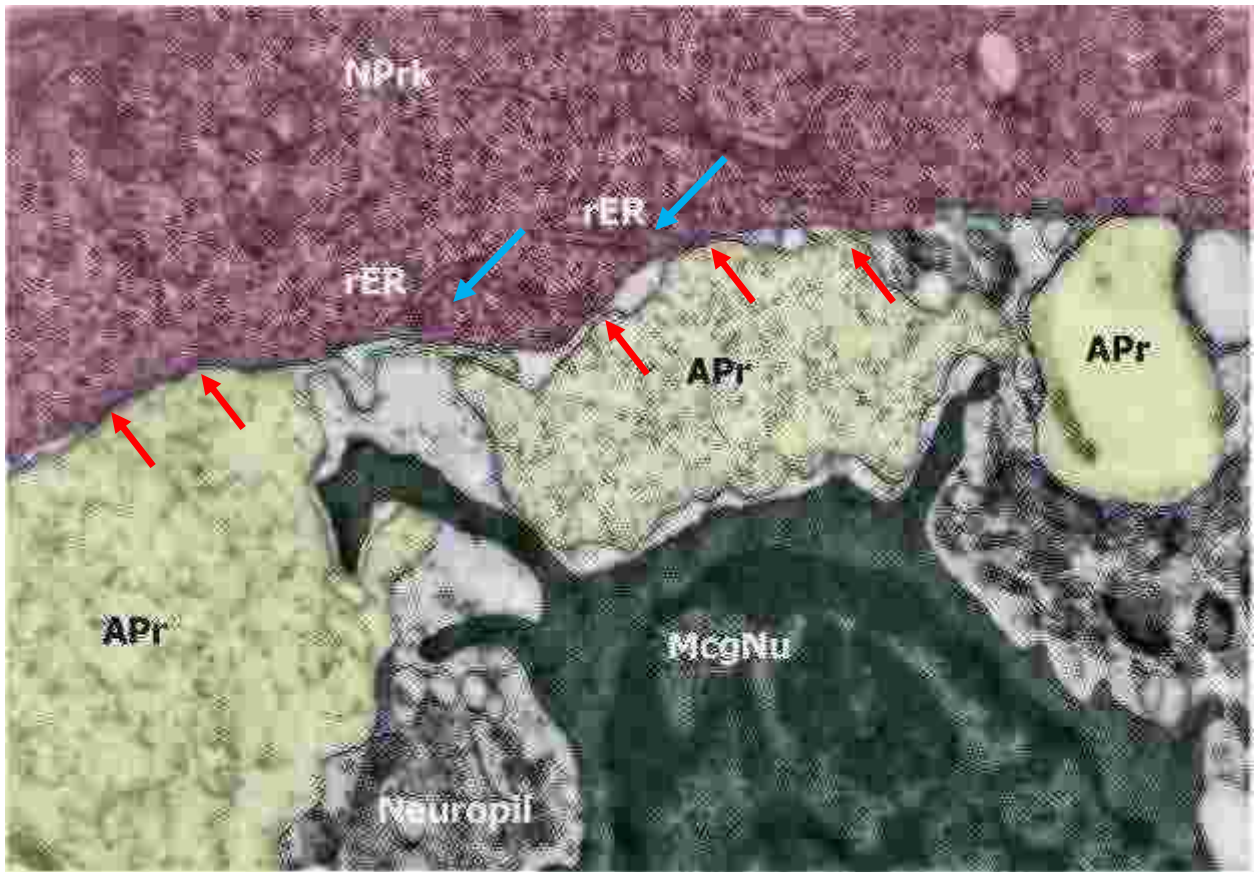


Рисунок 6.34 – Ультраструктура амебоїдного мікрогліоциту, який контактує філоподіями з астроцитарними відростками, що, в свою чергу, утворили прямі контакти (червоні стрілки) з частково пошкодженим нейроном. До цих контактів в нейроні прилягають мітохондрії і цистерни гранулярного ЕПР (блакитні стрілки). Кора щура летальної групи «AILF-B», 24 год після введення парацетамолу. TEM, зб. x 14000.

Паличкоподібна мікроглія була ідентифікована у щурів, що вижили через 24 год після введення парацетамолу, вона складала 10.00% (2/20) від досліджених мікрогліоцитів підгрупи «AILF-A» і 2.66% (2/75) від усіх мікрогліоцитів, проаналізованих в моделі AILF. Паличковидна мікроглія не виявлена ні в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B», ні в ГМ щурів контрольної групи (див. табл. 6.11; див. рис. 6.33). Паличковидні мікрогліоцити знаходилися в безпосередній близькості або в прямому контакті з набряклими астроцитами, де визначалася деградація ядерного хроматину та органели з частковою дезінтеграцією, а також із відростками таких астроцитів. Міжклітинні комунікації проявлялися у вигляді спрямування тонких мікрогліальних відростків до цитоплазматичних виступів сусідніх набряклих

астроцитів, в яких ядра були переміщені до плазмолемі, зверненої до мікроглії, а перикаріон навколо цих ділянок містив скупчення мітохондрій і мембран ЕПР (див. рис. 6.31; рис. 6.35). При взаємодії з астроцитами паличковидна і амебоїдна мікроглія встановлювали своїми відростками прямі контакти з плазмолемою астроцитів (див. рис. 6.30; див. рис. 6.34; рис. 6.35).

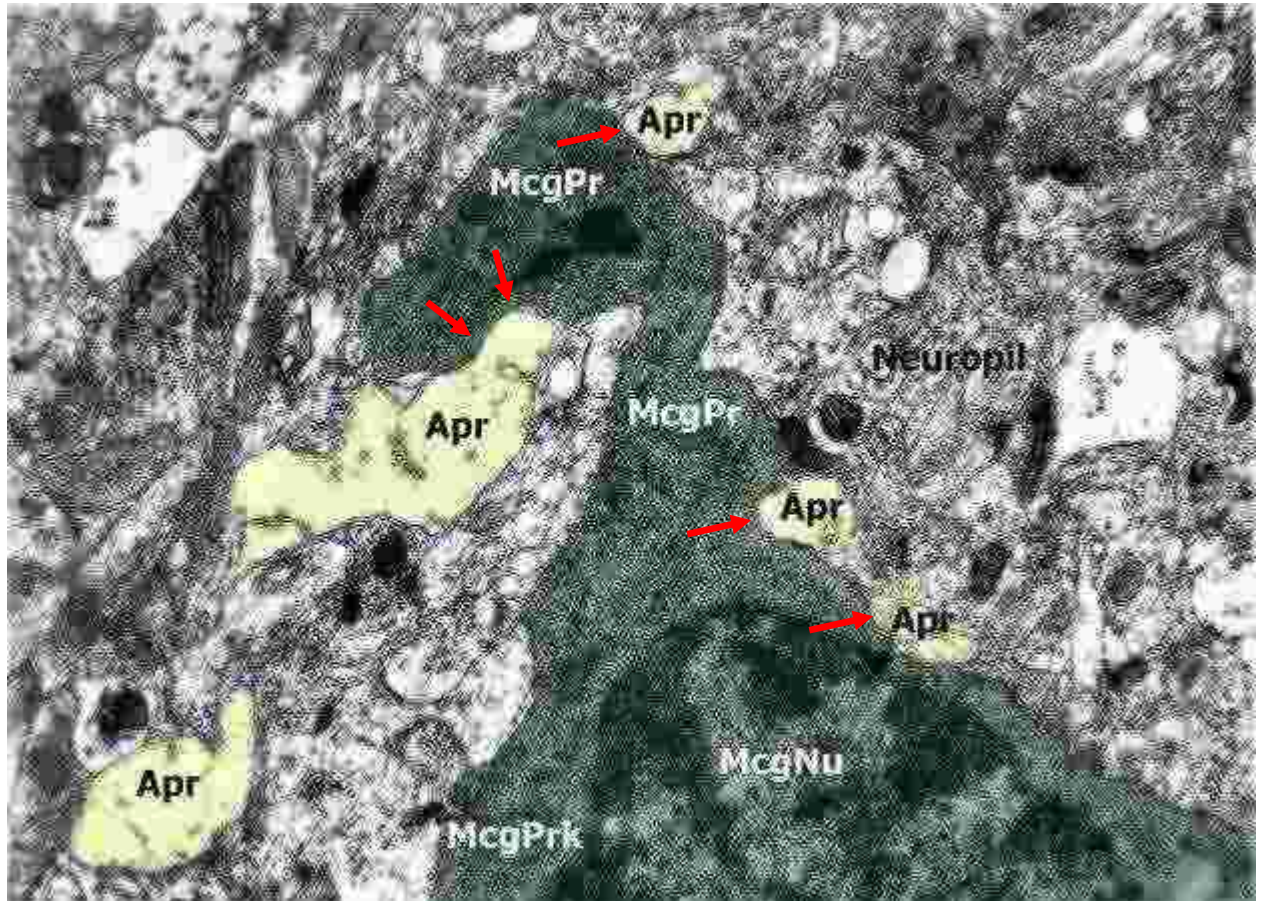


Рисунок 6.35 – Ультраструктура паличковидного мікрогліоциту, що утворює прямий контакт (стрілки) з астроцитарними відростками. Кора ГМ щура нелетальної підгрупи «AILF-A», 24 год після процедури. TEM, зб. x 16000.

Гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити складали 10% мікрогліоцитів ГМ щурів летальної (3/30) і нелетальної (2/20) підгруп (через 20 год і 24 год відповідно) (див. табл. 6.11; див. рис. 6.33). Гіпертрофічно-подібна мікроглія (без фагоцитованого матеріалу) своїми відростками часто контактувала з капілярами, в яких визначалися набряк та апоптоз ендотеліоцитів, вакуолізація перицитів і значно набряклі астроцитарні перикапілярні кінцеві ніжки. Рідко відростки таких мікрогліоцитів майже повністю огортали капіляр з

розширеними перикапілярними кінцевими ніжками астроцитів, залишаючи лише невеликі віконця міжклітинних просторів (рис. 6.36).

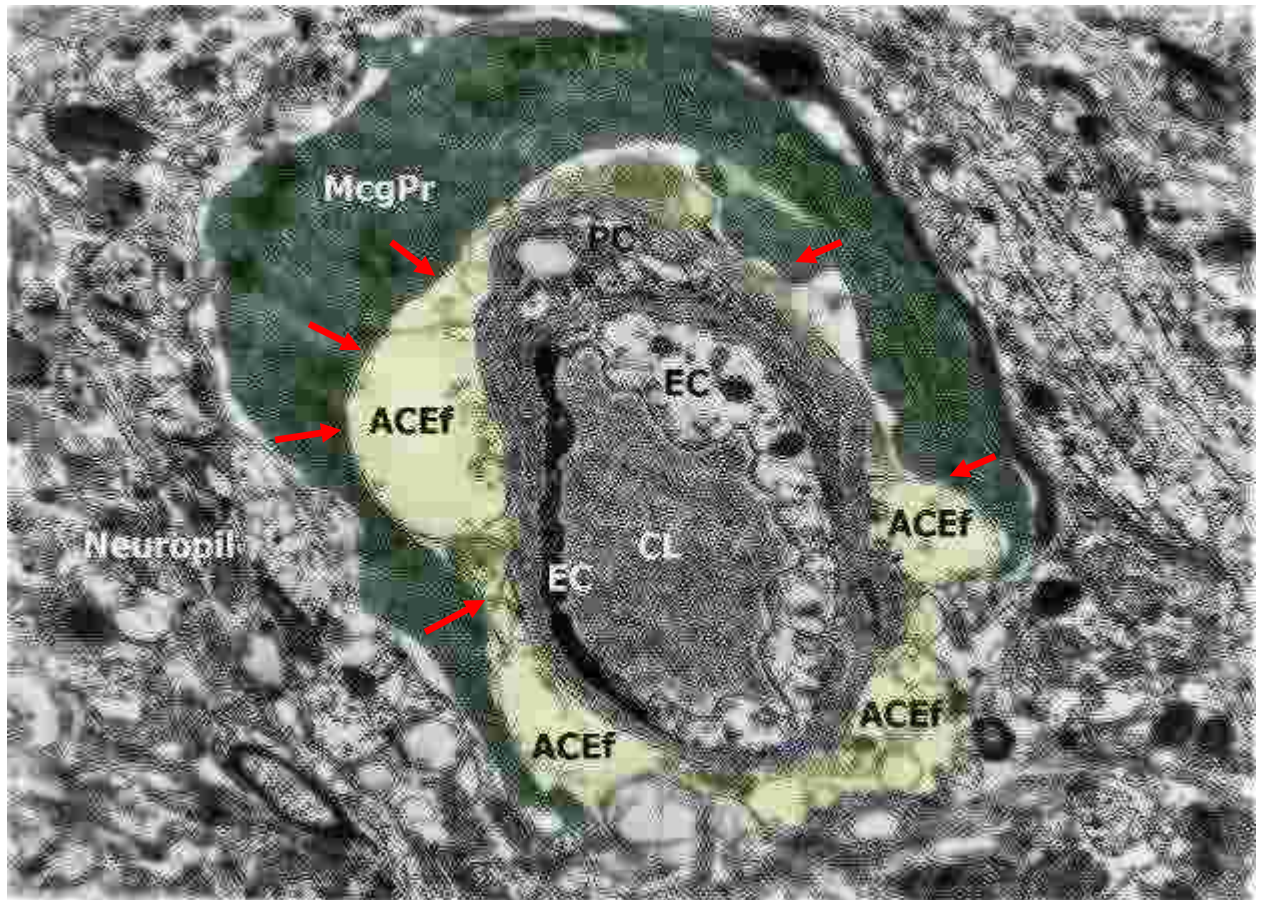


Рисунок 6.36 – Ультраструктура юкставаскулярного гіпертрофічно-подібного мікрогліюциту, що утворює прямий контакт (стрілки) з астроцитарними капілярними кінцевими ніжками. Кора ГМ щура нелетальної групи «AILF-A», 24 год після введення парацетамолу. TEM, зб. x 9000.

На 20 год після ін'єкції парацетамолу в ГМ щурів летальної групи «AILF-B» визначалася тісна мікрогліально-нейронна взаємодія, при якій гіпертрофічно-подібні мікрогліюцити без фагоцитованого матеріалу своєю плазмолемою тісно прилягали до плазмолеми нейронів з набряком ядра і цитоплазми, що містила частково пошкоджені мітохондрії та цистерни ЕПР. Мікрогліальні ядерця були переміщені у бік міжклітинного контакту, тоді як в нейронах до області контакту були зміщені ядра (див. рис. 6.32). Перикаріони гіпертрофічно-подібної мікроглії в зонах плазмалемних контактів містили невелику кількість ендосом, іноді – підвищене число лізосом, а також поодинокі дрібні фагоцитарні включення, що відображало їх низьку фагоцитарну активність.

В астроцитах, що контактували з мікрогліоцитами, не визначалися ознаки активації ендосомальної системи або присутність MBT (див. рис. 6.30, 6.34, 6.35, 6.36).

Імуногістохімічне дослідження експресії CD68 мікроглією головного мозку щурів з гострою парацетамол-індукованою печінковою недостатністю

При світловій морфометрії та підрахунку в ГМ площі CD68-імунопозитивного матеріалу враховувалася експресія CD68 в цитоплазмі та відростках тільки позасудинних мікрогліоцитів (рис. 6.37). Підрахунок загальної площі позасудинного CD68-імунопозитивного матеріалу дав змогу проаналізувати ступінь активації всього мікрогліального пулу клітин, тоді як відсоткова частка саме амебоїдних CD68⁺-мікрогліоцитів відображала ступінь залучення реактивної мікроглії до процесів фагоцитозу.

У щурів контрольної групи «AIF-C» через 24 год у всіх досліджених відділах ГМ виявлено низький рівень клітинної експресії CD68.

В ГМ щурів нелетальної «AIF-A» підгрупи показники площі експресії CD68 мікрогліоцитами і їх відростками достовірно ($p < 0.05$) перевищували показники контролю тільки в білій речовині ВПГМ та в смугастому тілі: на 50.80% і на 103.57% (відповідно), тоді як відсоткова частка CD68⁺-амебоїдних мікрогліоцитів мала лише тенденцію до збільшення відносно контролю в усіх досліджених відділах ГМ (табл. 6.12, рис. 6.38, рис. 6.39).

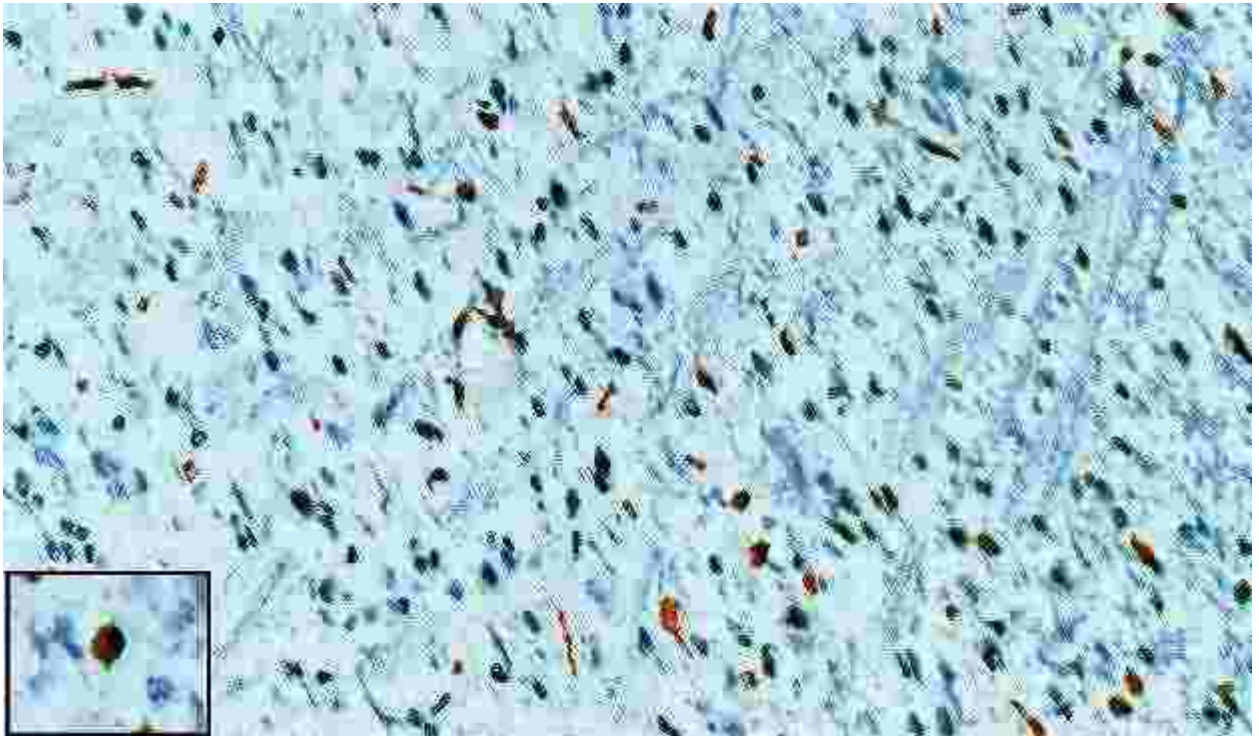
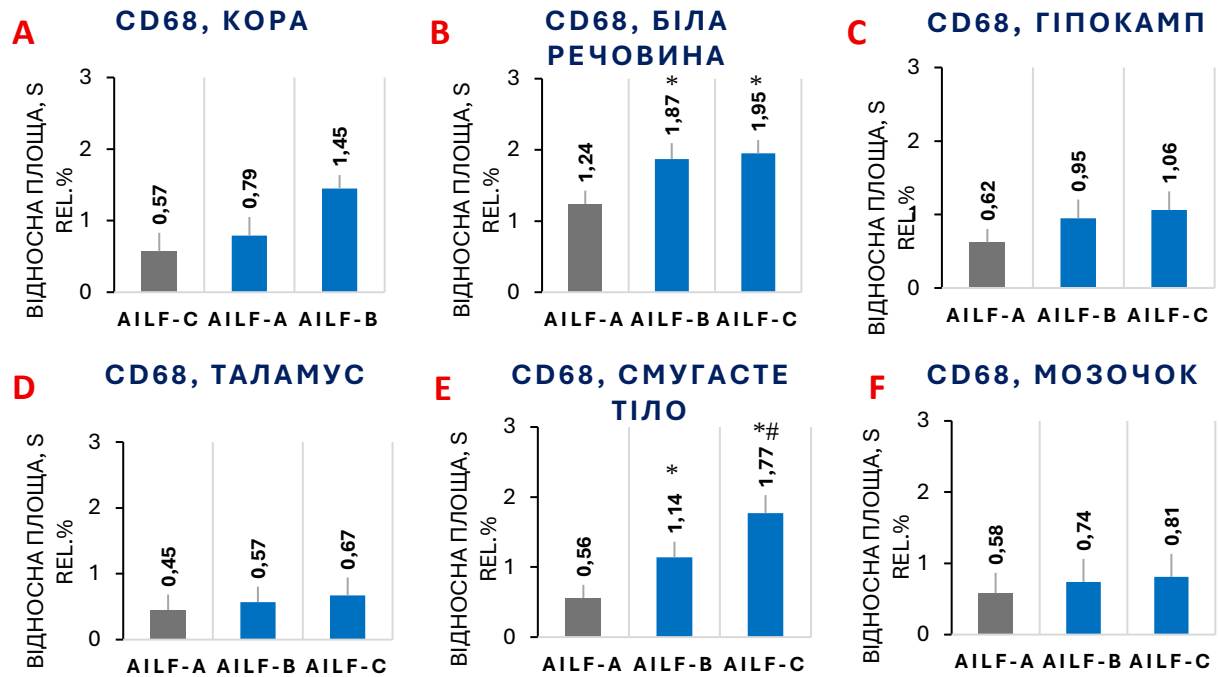


Рисунок 6.37 – Експресія CD68 у хвостатому ядрі/скорлупі померлого щура (підгрупа «AILF-B») через 24 год після процедури. На вставці – збільшене зображення амебоїдної клітини (Мо anti-CD68, clone PG-M1). x200.

Таблиця 6.12 – Площа позасудинного CD68⁺-імунопозитивного матеріалу і відсоткова частка CD68⁺-амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ щурів підгруп «AILF-A», «AILF-B», «AILF-C»; Ме (Q1; Q3).

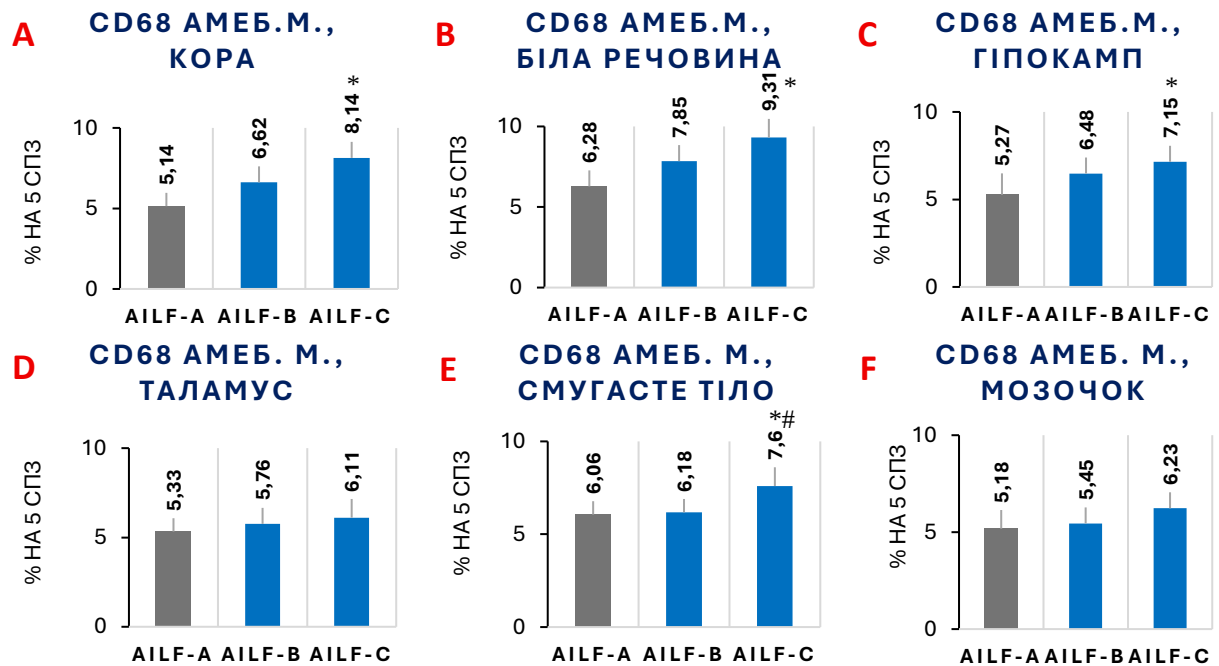
	Група «AILF-A»		Група «AILF-B»		Група «AILF-C»	
	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ
Кора	0.79 (0.52; 1.80)	6.62 (5.73; 7.05)	1.45 (0.93; 2.10)	8.14 (6.54; 10.08)*	0.57 (0.43; 1.56)	5.14 (4.36; 6.27)
Біла речовина	1.87 (1.74; 1.92)*	7.85 (6.05; 8.73)	1.95 (1.63; 2.15)*	9.31 (8.19; 10.43)*	1.24 (0.85; 1.58)	6.28 (4.55; 6.95)
Гіпокамп	0.95 (0.57; 1.27)	6.48 (5.73; 7.26)	1.06 (0.74; 1.53)	7.15 (6.69; 8.34)*	0.62 (0.39; 0.97)	5.27 (4.22; 5.89)
Таламус	0.57 (0.29; 0.73)	5.76 (4.32; 5.90)	0.67 (0.46; 0.91)	6.11 (5.43; 6.62)	0.45 (0.35; 0.86)	5.33 (4.15; 6.69)
Смугасте тіло	1.14 (0.89; 1.48)*	6.18 (5.86; 6.35)	1.77 (1.53; 1.84)*#	7.60 (6.71; 7.82)*#	0.56 (0.46; 0.74)	6.06 (4.59; 6.24)
Мозочок	0.74 (0.41; 0.89)	5.45 (5.11; 5.86)	0.81 (0.43; 1.16)	6.23 (5.20; 6.56)	0.58 (0.40; 0.96)	5.18 (4.63; 5.26)

Примітка. (*) - достовірна різниця в тому ж відділі ГМ порівняно з контролем; (#) - достовірна різниця порівняно з групою «AILF-A».



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «AILF-A», ($p < 0.05$).

Рисунок 6.38 – Медіанні значення площі експресії CD68 в ГМ щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «AILF-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 6.39 – Медіанні значення частки CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ щурів групи контролю «AILF-C» та підгруп «AILF-A» і «AILF-B».

В ГМ щурів летальної «AILF-B» підгрупи загальні показники площі CD68⁺-імунопозитивного матеріалу достовірно ($p < 0.05$) перевищували показники контролю також тільки в білій речовині ВПГМ та в смугастому тілі:

на 57.25% і на 216.07% (відповідно); між тим відсоткова частка CD68⁺-амебоїдних мікрогліоцитів була достовірно ($p<0.05$) більше контрольної: в корі ВПГМ – на 58.36%; білій речовині ВПГМ – на 48.24%; гіпокампі – на 35.67% та смугастому тілі – на 25.41%, а в таламусі і мозочку характеризувалася лише тенденцією до збільшення ($p>0.05$). В смугастому тілі і площа експресії CD68, і відсоток CD68⁺-амебоїдних мікрогліоцитів достовірно ($p<0.05$) перевищували навіть показники нелетальної «AILF-A» підгрупи (див. табл. 6.12, див. рис. 6.38, рис. 6.39).

У групі «AILF-B» тенденція ($p>0.05$) до підвищення площі експресії CD68 мікрогліоцитами і їх відростками та відсотка амебоїдних мікрогліоцитів характеризувалася динамічним зростанням у всіх досліджених відділах ГМ починаючи вже з 12 год постін'єкційного періоду і досягло максимальних рівнів на 24 год експерименту. Достовірне ($p<0.05$) зростання площі експресії CD68 відносно контролю було відмічено з 18 год в білій речовині ВПГМ та в смугастому тілі, а зростання відсотка амебоїдних форм – з 16 год експерименту в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі (табл. 6.13, рис. 6.40, рис. 6.41).

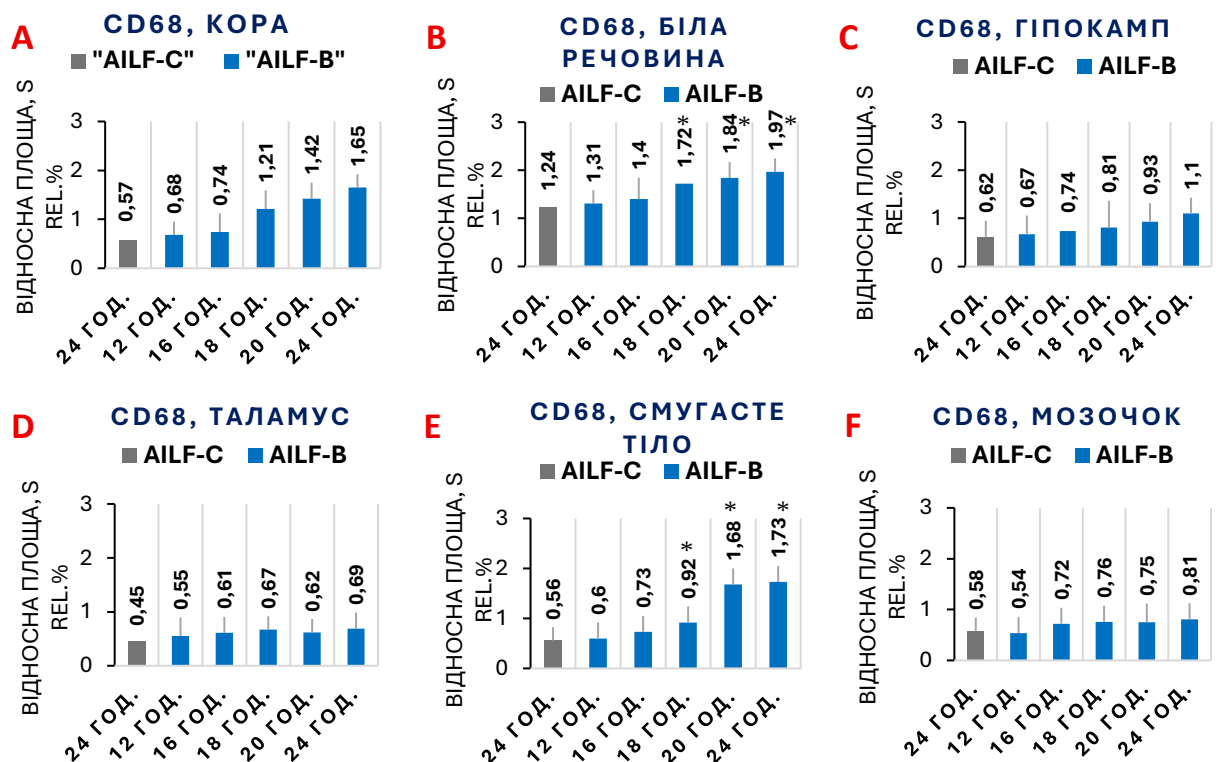
Таблиця 6.13 – Експресія CD68 (S rel%) і відсоток CD68⁺-амебоїдних клітин в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в динаміці постін'єкційного періоду та в групі контролю «AILF-C»; Me (Q1; Q3)

«AILF-B»						«AILF-C»
Час після ін'єкції парацетамолу						24 год.
	12 год.	16 год.	18 год.	20 год.	24 год.	
1	2	3	4	5	6	7
Кора						
Srel.%	0.68 (0.51; 1.12)	0.74 (0.42; 1.05)	1.21 (0.72; 1.54)	1.42 (1.12; 2.07)	1.65 (0.93; 2.10)	0.57 (0.43; 1.56)
% амеб.	5.26 (4.83; 6.47)	7.41 (6.55; 7.86)*	7.54 (6.60; 8.52)*	7.83 (7.21; 9.86)*	8.20 (7.06; 10.02)*	5.14 (4.36; 6.27)
Біла речовина						
Srel.%	1.31 (0.93; 1.62)	1.40 (1.09; 1.53)	1.72 (1.63; 1.80)*	1.84 (1.68; 1.95)*	1.97 (1.70; 2.18)*	1.24 (0.85; 1.58)
% амеб.	7.45 (7.06; 8.63)	8.07 (7.57; 9.34)*	8.11 (7.65; 9.98)*	9.64 (8.20; 10.15)*	9.71 (8.29; 10.47)*	6.28 (4.55; 6.95)
Гіпокамп						
Srel.%	0.67 (0.52; 0.91)	0.74 (0.68; 0.82)	0.81 (0.74; 1.06)	0.93 (0.80; 1.35)	1.10 (0.77; 1.50)	0.62 (0.39; 0.97)

Продовження таблиці 6.13

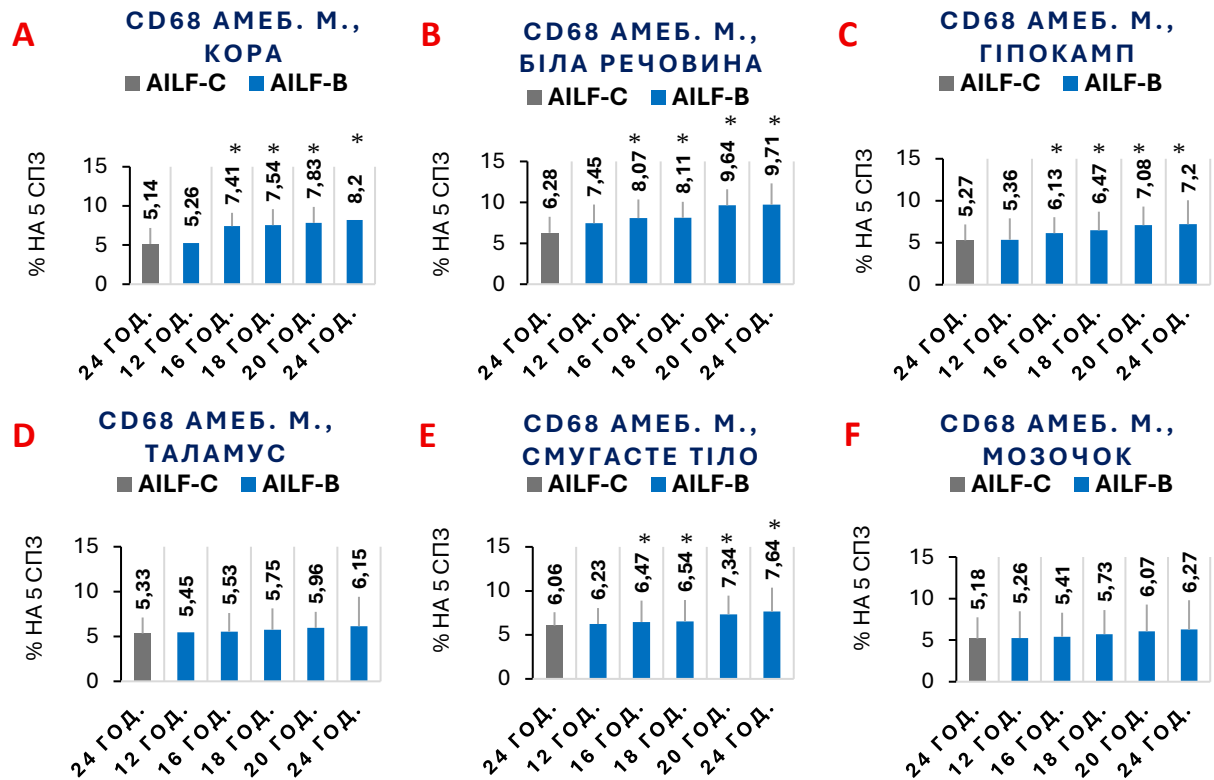
1	2	3	4	5	6	7
% амєб.	5.36 (4.89; 6.45)	6.13 (6.01; 7.40)*	6.47 (6.32; 7.96)*	7.08 (6.46; 8.22)*	7.20 (6.67; 8.34)*	5.27 (4.22; 5.89)
Таламус						
Srel.%	0.55 (0.40; 0.76)	0.61 (0.37; 0.72)	0.67 (0.43; 0.80)	0.62 (0.50; 0.85)	0.69 (0.42; 0.93)	0.45 (0.35; 0.86)
% амєб.	5.45 (4.32; 6.60)	5.53 (4.38; 6.58)	5.75 (4.79; 6.54)	5.96 (5.32; 6.60)	6.15 (5.76; 6.65)	5.33 (4.15; 6.69)
Смугасте тіло						
Srel.%	0.60 (0.54; 0.71)	0.73 (0.69; 0.82)	0.92 (0.84; 1.14)*	1.68 (1.64; 1.75)*	1.73 (1.58; 1.82)*	0.56 (0.46; 0.74)
% амєб.	6.23 (5.45; 6.41)	6.47 (5.52; 6.68)*	6.54 (5.98; 6.70)*	7.34 (6.57; 7.71)*	7.64 (6.80; 7.93)*	6.06 (4.59; 6.24)
Мозочок						
Srel.%	0.54 (0.35; 0.86)	0.72 (0.47; 0.98)	0.76 (0.41; 1.07)	0.75 (0.53; 1.12)	0.81 (0.56; 1.20)	0.58 (0.40; 0.96)
% амєб.	5.26 (4.75; 5.43)	5.41 (4.80; 5.75)	5.73 (4.66; 6.04)	6.07 (5.12; 6.50)	6.27 (5.30; 6.61)	5.18 (4.63; 5.26)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 6.40 – Динаміка площі експресії CD68 в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в постін'єкційному періоді відносно групи контролю «AILF-C».



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 6.41 – Динаміка відсотку CD68-амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ щурів летальної підгрупи «AILF-B» в постін'єкційному періоді відносно групи контролю «AILF-C».

Резюме

Результати гістологічних досліджень показали, що у експериментальних щурів підгруп «AILF-A» і «AILF-B» в тканині печінки розвинулися суттєві патологічні зміни: в більшості часточок виявлено каріо- і цитолізис гепатоцитів, вогнища ареактивного руйнування гепатоцитів з помірною лімфоцитарною інфільтрацією деяких портальних трактів.

За результатами ЕМ і ІГХ досліджень в ГМ щурів протягом першої доби після реалізації моделі гострої парацетамол-індукованої печінкової недостатності відбуваються ознаки суттєвої реактивації і перебудови астроглії та мікроглії, асоційовані з незначними деструктивними змінами в нейронах та відсутністю суттєвих змін олігодендроцитів і перинейронального гліального сателітозу. В корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, стріатумі та мозочку експериментальних щурів виявляються нечисельні групи нейронів з помірним набряком і вакуолізацією цитоплазми і набуханням просвітлених ядер,

поодинокі незначно ущільнені нейрони з нормальними ядрами, а також одиничні зменшені в розмірах, ущільнені нейрони з каріопікнозом та помірно розширеними перинейрональними відростками астроцитів. В цитоплазмі змінених нейронів визначаються мітохондрії з набряком матриксу і частковим кристолізмом, або, навпаки, мітохондрії з надмірно електроннощільним матриксом. В поодиноких дендритах нейропілю визначається помірний набряк дендроплазми, збільшені в розмірах мітохондрії з локальним значним набряком матриксу і частковим кристолізмом, а також вакуолі різних розмірів. Такі ультраструктурні зміни більш притаманні щурам летальної підгрупи «AILF-B», порівняно з нелетальною підгрупою «AILF-A».

Ультраструктурні зміни судинного русла кори ГМ щурів обох AILF-груп характеризуються спадінням просвіту окремих капілярів, значним асиметричним набряком астроцитарних периваскулярних ніжок; ущільненням або, навпаки, набряком ендотеліоцитів; вогнищевим потовщенням базальних мембран.

У всіх досліджених відділах ГМ щурів обидвох AILF-підгруп (з 12 год у щурів летальної підгрупи) відбувається гетерогенне збільшення площі експресії AQP4 в астрогліальних судинних кінцевих ніжках, нейропільних відростках та відростках термінальної субпіальної астроглії, а також площі експресії GS в цитоплазмі і відростках астроцитів. Показники експресії AQP4 та GS мають тенденцію ($p > 0.05$) до більших значень у щурів летальної підгрупи порівняно з нелетальною. Гіперекспресія GS і AQP4 може вказувати на зростання потреби в детоксикаційній конвертації аміаку, а також на активне залучення аквапоринового механізму в розвитку набряку ГМ. Одночасно з цим, в усіх досліджених відділах ГМ щурів обох AILF-підгруп (з 16 год у щурів летальної підгрупи) визначається виразне гетерогенне зниження експресії GFAP. Різке зменшення кількості та розмірів GFAP⁺ астроцитів вказує на часткову втрату гліофібрил з руйнуванням цитоскелету та зміною їх клітинного обсягу і форми. Визначається тенденція ($p > 0.05$) до більш значущого зменшення площі експресії GFAP⁺ у щурів летальної підгрупи,

порівняно з нелетальною, що співвідноситься з більшою кількістю AA2 в ГМ щурів летальної підгрупи.

Зниження експресії GFAP за часом співпадає з маніфестацією набрякових змін астроцитів, ультраструктурні явища чого у щурів летальної підгрупи «AILF-B» починається з 16 год після введення парацетамолу з поступового наростання набряку та розширення профілів астроцитарних кінцевих периваскулярних ніжок, нейропільних та перинейрональних відростків. За результатами світлооптичної морфометрії встановлено, що площа розширених периваскулярних і перицелюлярних просторів у всіх досліджених відділах ГМ щурів нелетальної і летальної підгруп значно перевищує показники щурів групи контролю. В корі, таламусі та смугастому тілі ГМ щурів летальної підгрупи відзначається тенденція до превалювання показників площі розширених перицелюлярних просторів над периваскулярними, що вказує на більш виражений набряк перинейрональних астроцитарних відростків у відділах ГМ, що більш чутливі до впливу аміаку. Набрякові зміни астроцитарних тіл характеризуються набуханням каріоплазми і збільшенням ядра, нерівномірним набуханням і розширенням перікаріону, локальним набряком матриксу та частковим кристолізom мітохондрій, появою чисельних вакуолей, а також частковою дезінтеграцією рибосом та мембран інших органел.

Через 18 год після введення парацетамолу в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку щурів летальної підгрупи визначаються A2 астроцити, кількість яких в подальшому сягає максимуму у всіх досліджених відділах ГМ на 24 год експерименту. У щурів нелетальної підгрупи кількість AA2 також перевищувала контрольні значення, але відзначалася тенденція до менш виразного A2-астроцитозу. За результатами ЕМ астроцити Альцгеймера 2 типу мають округле, збільшене ядро з дрібними глибокими хроматину в каріоплазмі, які концентруються біля каріолеми, утворюючи своєрідний вузький електроннощільний обідок біля внутрішньої ядерної мембрани, а також цитоплазму з вогнищевим набуханням цитозолу, вакуолізацією і

розширенням цистерн ЕПР, а також органелами, притаманними астроцитам. Значне набухання і розширення цитоплазми не характерне для А2 астроцитів. Поряд з цим, у корі ВПГМ щурів нелетальної підгрупи визначаються морфологічні ознаки функціональної активації частини астроцитів у вигляді підсиленого ендо-, транс- та екзоцитозу з достовірним підвищенням кількості і перерозподілом MBТ в астроцитарні капілярні кінцеві ніжки.

Клітини мікрогліального пулу піддаються помірній реактивації. З 18 год після введення парацетамолу в білій речовині ВПГМ та смугастому тілі ГМ щурів летальної і на 24 год у щурів нелетальної підгруп відзначається зростання площі позасудинної експресії CD68. Електронномікроскопічне дослідження кори ВПГМ AILF-щурів дозволило підтвердити появу та більш детально охарактеризувати 3 реактивних морфотипи AILF-мікроглії: амебоїдний (відносно більш розповсюджений), паличкоподібний та гіпертрофічно-подібний. При цьому, ІГХ дослідження підтвердило достовірне зростання відсотку амебоїдних форм лише в ГМ щурів летальної підгрупи (в корі та білій речовині ВПГМ, гіпокампі і смугастому тілі) починаючи з 16 год після введення парацетамолу. На ультраструктурному рівні найбільш частим видом міжклітинної взаємодії є встановлення тісних контактів амебоїдної мікроглії з профілями астроцитарних перикаріонів і відростків. Рідкісні гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити без ультраструктурних ознак фагоцитарної активності помічені в тісному контакті з компонентами ГЕБ та профілями нейронів. Гетерогенність реактивних морфотипів мікроглії вказує на різні прояви мікрогліального ремоделювання та залучення до процесів фагоцитозу.

Результати даного розділу було опубліковано в наступних роботах [144-156].

РОЗДІЛ 7

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АБДОМІНАЛЬНОМУ СЕПСИСІ У ЩУРІВ

7.1 Характеристика стану експериментальних тварин, змін печінки і очеревини

З 20-ї по 38-му годину після ушивання черевної порожнини у експериментальних щурів з перев'язкою та пункцією сліпої кишки, спостерігалася самоізоляція і млявість, наростали діарея, периорбітальна ексудація, ознобне тремтіння тіла, пілоерекція, аритмічне дихання; поступово тварини підгрупи «CLP-B» через втрату можливості тримати позу заваливалися в лежаче положення без ознак свідомості.

При патогістологічному дослідженні у всіх експериментальних щурів підгруп «CLP-A» і «CLP-B» суттєві патологічні зміни виявлені в печінці: у всіх печінкових дольках – балонна дистрофія, вогнищевий лізис цитоплазми гепатоцитів і некроз окремих гепатоцитів, дрібновогнищева слабка інфільтрація лейкоцитами в дольках печінки (рис. 7.1А). Описані зміни були більш виразними у щурів летальної підгрупи порівняно з нелетальною.

Каловий перитоніт мікроскопічно проявлявся вогнищевою лейкоцитарною інфільтрацією очеревини біля залишків калових мас переважно в складках кишки. Розповсюдженого (розлитого) та виразного гнійного запалення очеревини не спостерігалось (рис. 7.1В).

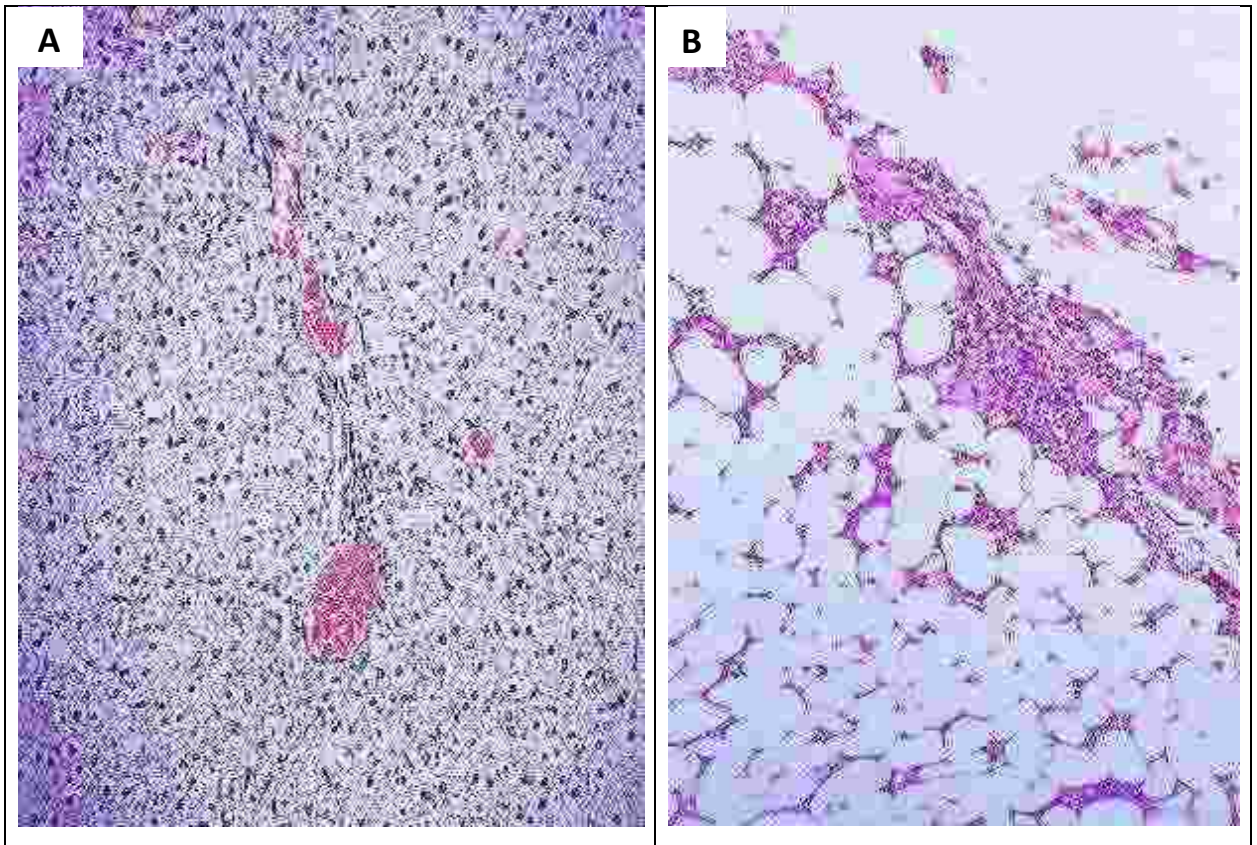


Рисунок 7.1 – Розповсюджена балонна дистрофія і некроз гепатоцитів, слабка лейкоцитарна інфільтрація портальних трактів (А) і вогнищеве гнійне запалення очеревини і сальнику (В) у щура підгрупи «CLP-B» на 22 год після CLP. Забарвлення Г-Е. Зб. x100, x50.

7.2 Патоморфологічна характеристика головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

Патогістологічне дослідження різних відділів ГМ щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом показало відсутність в ГМ вогнищ гнійного запалення та незначні патологічні зміни нейронів і мікросудин. За результатами світлової і електронної мікроскопії та ІГХ досліджень визначалася структурно-функціональна перебудова астроглії, ознаки активації мікроглії без патологічних змін олігодендроцитів.

7.2.1 Гістологічна і електронномікроскопічна характеристика нейронів і мікросудин головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

В мікропрепаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, в усіх досліджених відділах ГМ експериментальних щурів більшість нейронів мали

звичайну мікроскопічну структуру. В частці нейронів кори ВПГМ, гіпокампу, таламусу, смугастого тіла та мозочку визначалися селективні зміни, серед яких переважали ущільнення цитоплазми нервових клітин, помірний каріопікноз та помірний перинейрональний нейрогліальний сателітоз. Також виявлялися нейрони з незначним набряком цитоплазми і помірним набуханням просвітлених ядер та поодинокі гіперхромні нейрони з нормальними ядрами (рис. 7.2А). Капіляри, дрібні артеріоли і вени в усіх досліджених відділах ГМ експериментальних щурів мали звичайну структуру; навколо мікросудин визначалися розширені периваскулярні простори (ПВп) різного ступеня виразності (рис. 7.2В). На кордоні нижніх шарів кори ВПГМ і прилеглої білої речовини визначалися нечисленні дрібні вогнища енцефалолізису. Вогнищеві крововиливи в ГМ експериментальних щурів не спостерігалися.

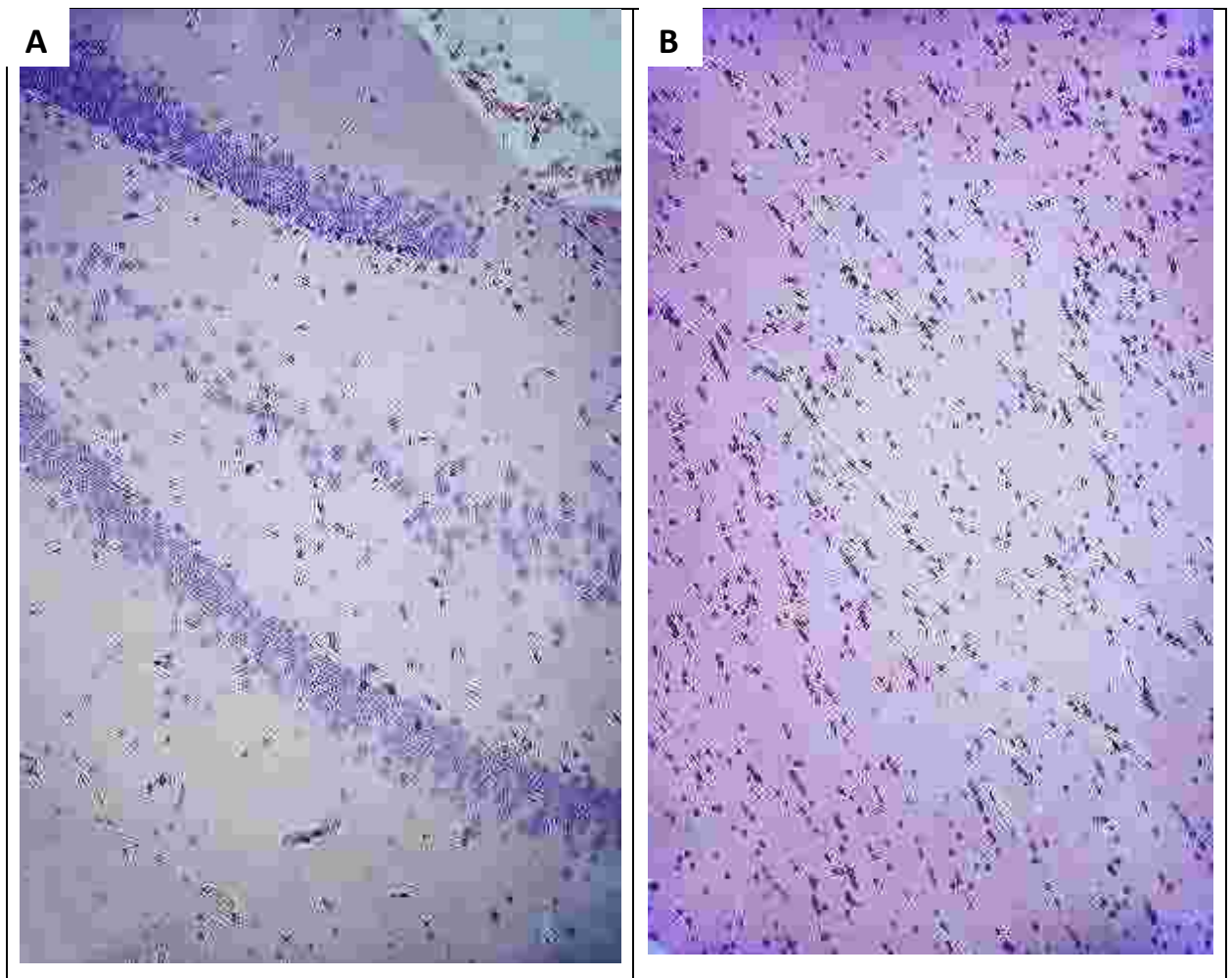


Рисунок 7.2 – Ущільнені нейрони в гіпокампі і периваскулярний набряк білої речовини ВПГМ щура летальної підгрупи «CLP-B» 22 год після CLP-процедури. Зabarвлення гематоксилін-еозином. 3б. x 100.

Електронна мікроскопія встановила, що в нейронах кори ВПГМ щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» і летальної підгрупи «CLP-B» мало місце набухання мітохондрій з просвітленням матриксу та кристолізom різного ступеня, а також розширення цистерн ендоплазматичної сітки і вакуолей комплексу Гольджі різної інтенсивності. В корі ВПГМ визначалися два основних типи патологічно змінених нейронів: або окремі просвітлені нейрони зі збільшеним і просвітленим через набухання каріоплазми ядром, та просвітленою через набухання цитозолю цитоплазмою з частково втраченими цистернами ендоплазматичної сітки і редукцією рибосом, яка містила набряклі мітохондрії з кристолізom; або окремі ущільнені нейрони з набуханням мітохондрій, помірним розширенням цистерн ендоплазматичної сітки в ущільненій, зменшеній цитоплазмі, в якій містилося ядро з помірним каріопікнозом (рис. 7.3), рідше – ядро звичайної ультраструктури або просвітлене ядро з частковою дезінтеграцією хроматину. Інколи навколо ущільнених нейронів визначався перинейрональний сателітоз з наявністю декількох олігодендрогліальних клітин (рис. 7.4). Патологічно змінені нейрони в корі ВПГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» були більш розповсюдженими, серед них переважали ущільнені нервові клітини і рідше спостерігалися нейрони з набряком просвітленої цитоплазми і збільшеним ядром через набухання каріоплазми (рис. 7.5).

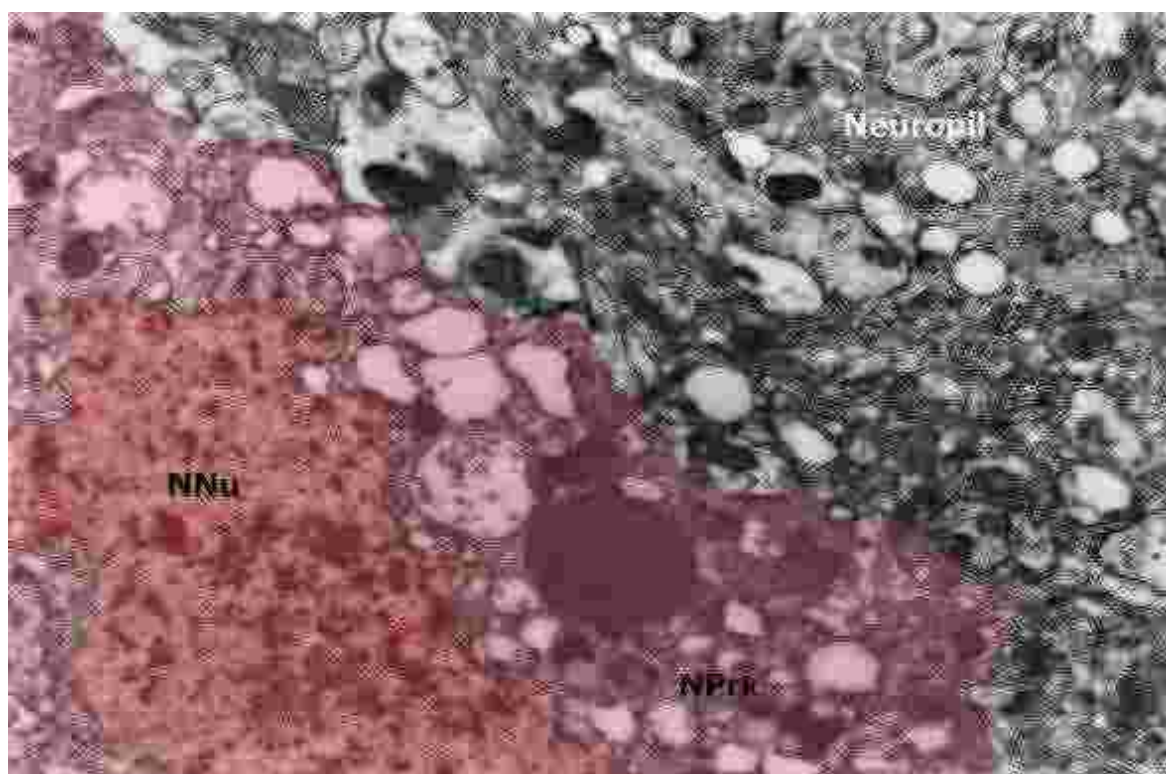


Рисунок 7.3 – Нейрон з набуханням і просвітленням матриксу мітохондрій та кристалізом різного ступеня, а також з розширеними цистернами ЕПС різної інтенсивності в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-B», 20 год після операції. TEM, зб. x 10 000.

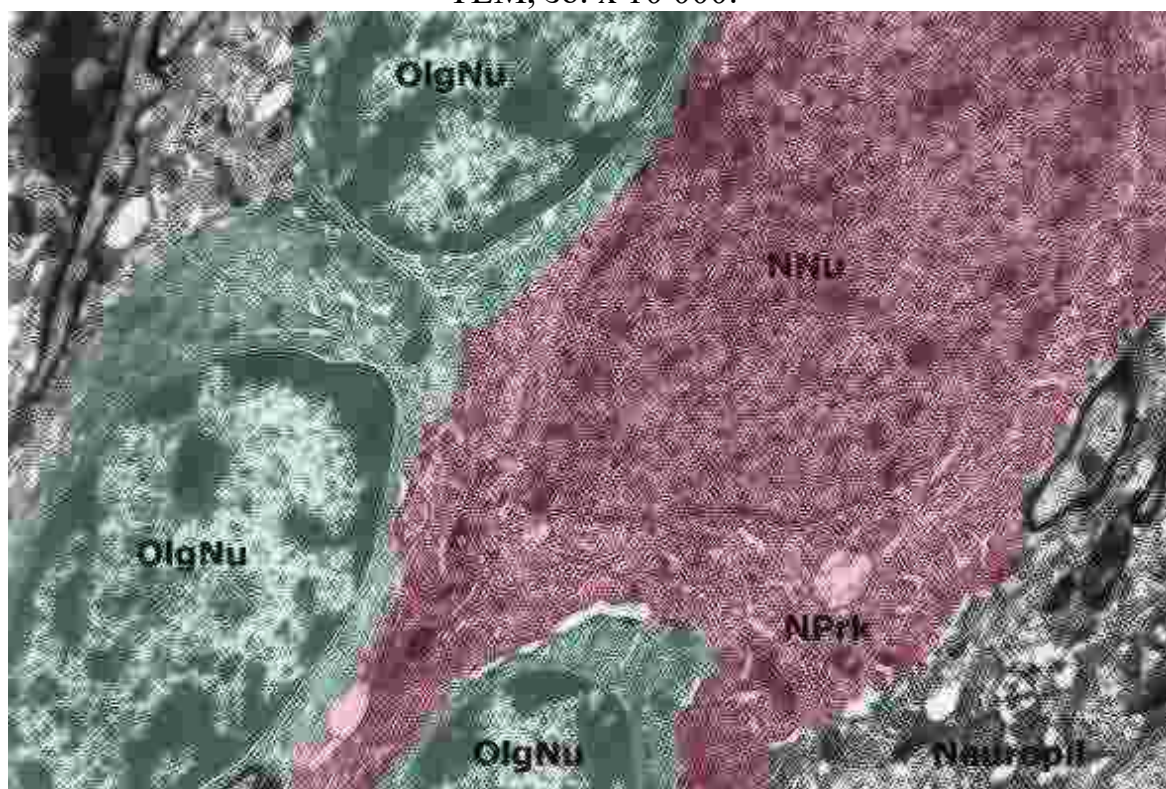


Рисунок 7.4 – Нейрон з ущільненою цитоплазмою і набуханням мітохондрій та з перинейрональними олігодендрогліальними сателітами в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-A», 48 год після CLP-операції. TEM, зб. x 10 000.

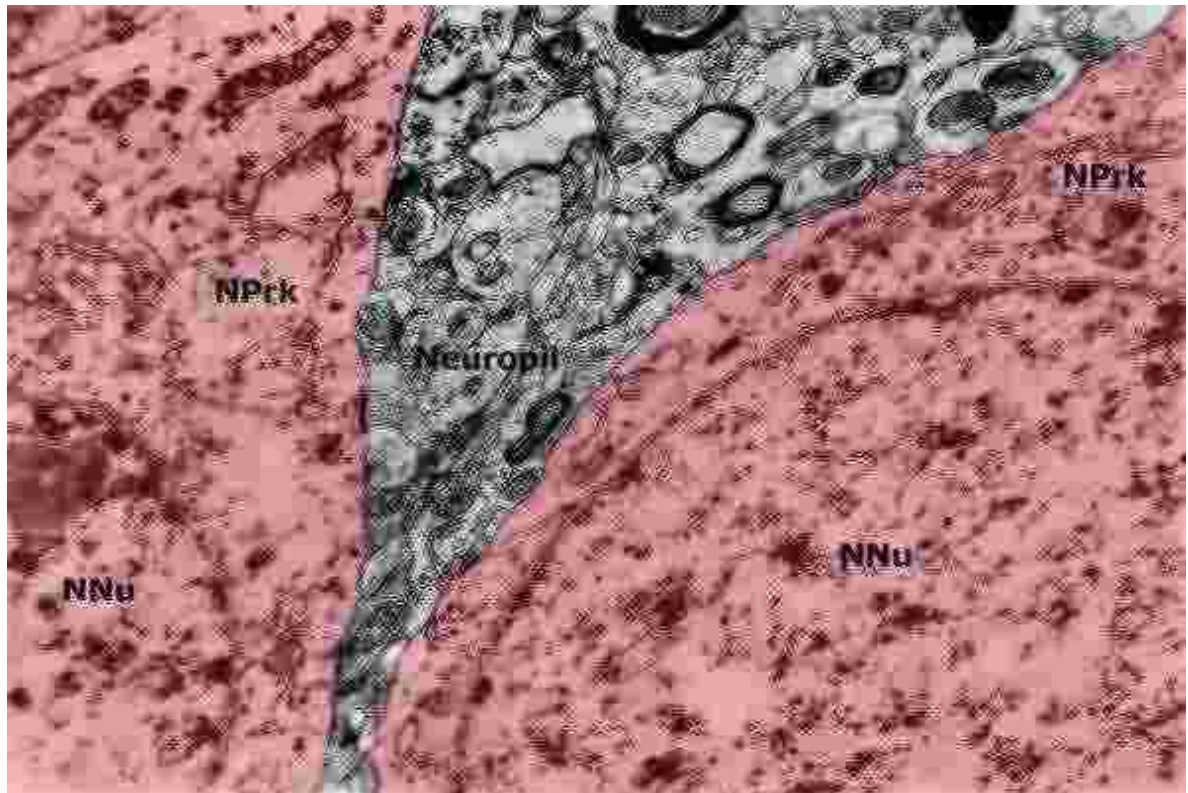


Рисунок 7.5 – Два нейрони з набуханням цитозолю і мітохондрій, з втратою цистерн ендоплазматичної сітки і редукцією рибосом цитоплазми, зі збільшеними через набухання каріоплазми ядрами в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-B», 20 год після операції. TEM, зб. x 12000.

На противагу ультраструктурно нормальним судинам МЦР сенсомоторної кори ВПГМ контрольних щурів, у щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» МЦР кори ГМ характеризувалося ознаками оборотної зупинки кровотоку, що проявлялася складжуванням еритроцитів та сегментарною паретичною дилатацією капілярних просвітів. У тварин летальної підгрупи «CLP-B» зміни в судинах МЦР були більш значущими і виражалися різного ступеню конденсацією плазми крові, складжуванням еритроцитів утворенням поодиноких тромбів, ущільненням цитоплазми та апоптозом окремих ендотеліоцитів і перицитів (рис. 7.6A). В базальних мембранах капілярів визначалися локуси незначного розширення, а навколо капілярів виявлялися розширені астроцитарні капілярні кінцеві ніжки через їх набряк різного ступеню: від слабого до значно виразного (рис. 7.6B).

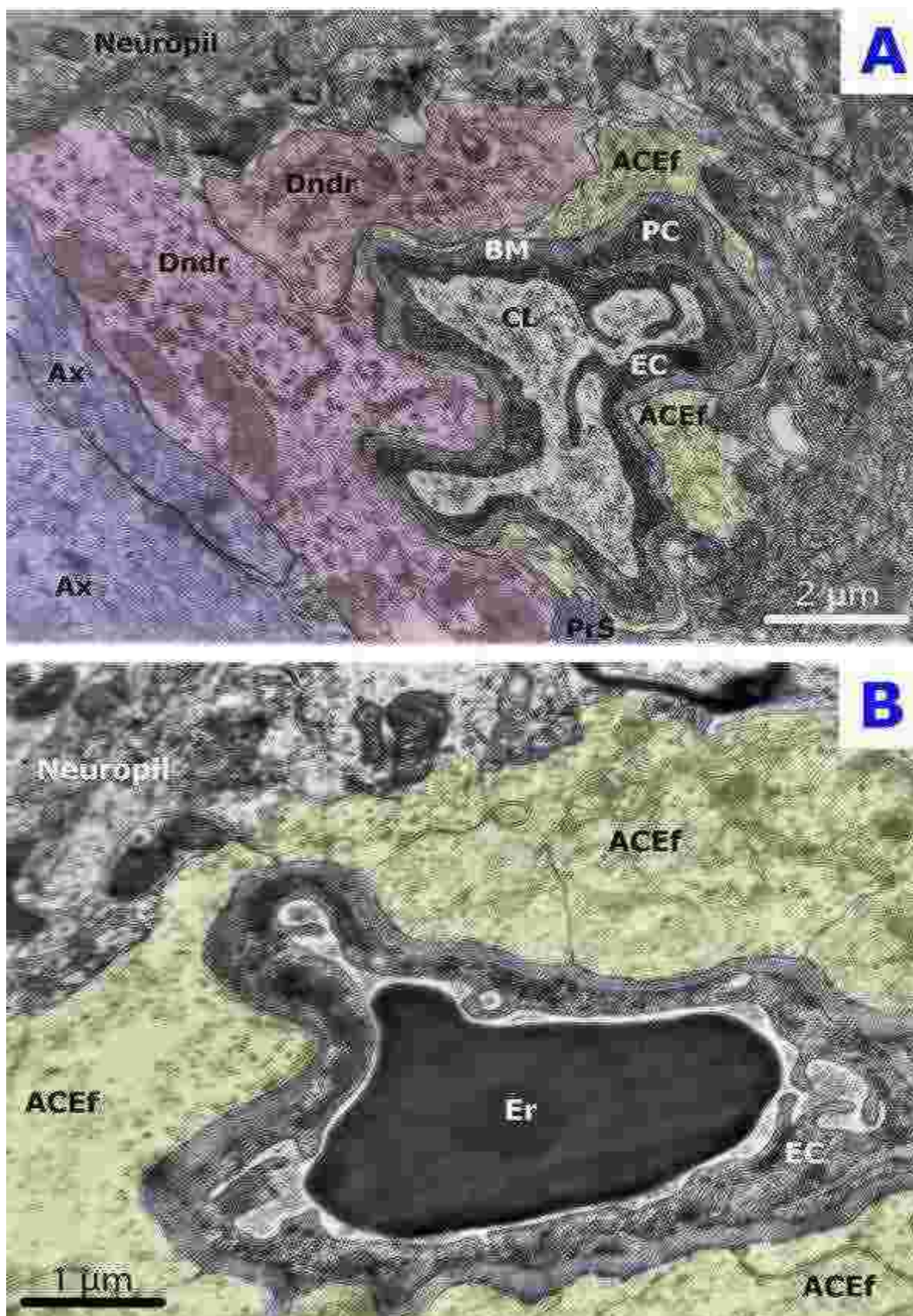


Рисунок 7.6 – **А.** Ущільнення цитоплазми ендотеліоцитів і перициту капіляру в корі ВПГМ щура. **В.** Потовщення базальної мембрани і виразний набряк астроцитарних капілярних ніжок в корі ВПГМ щура. Підгрупа «CLP-B», 38 год після операції. TEM.

7.2.2 Мікроскопічна, електронномікроскопічна і імуногістохімічна характеристика астроглії головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

Астроцити Альцгеймера 2 типу. В корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі і мозочку щурів нелетальної «CLP-A» підгрупи визначалася статистично не достовірна ($p > 0.05$) тенденція до перевищення кількості А2-астроцитів, в порівнянні з цим показником щурів контрольної групи.

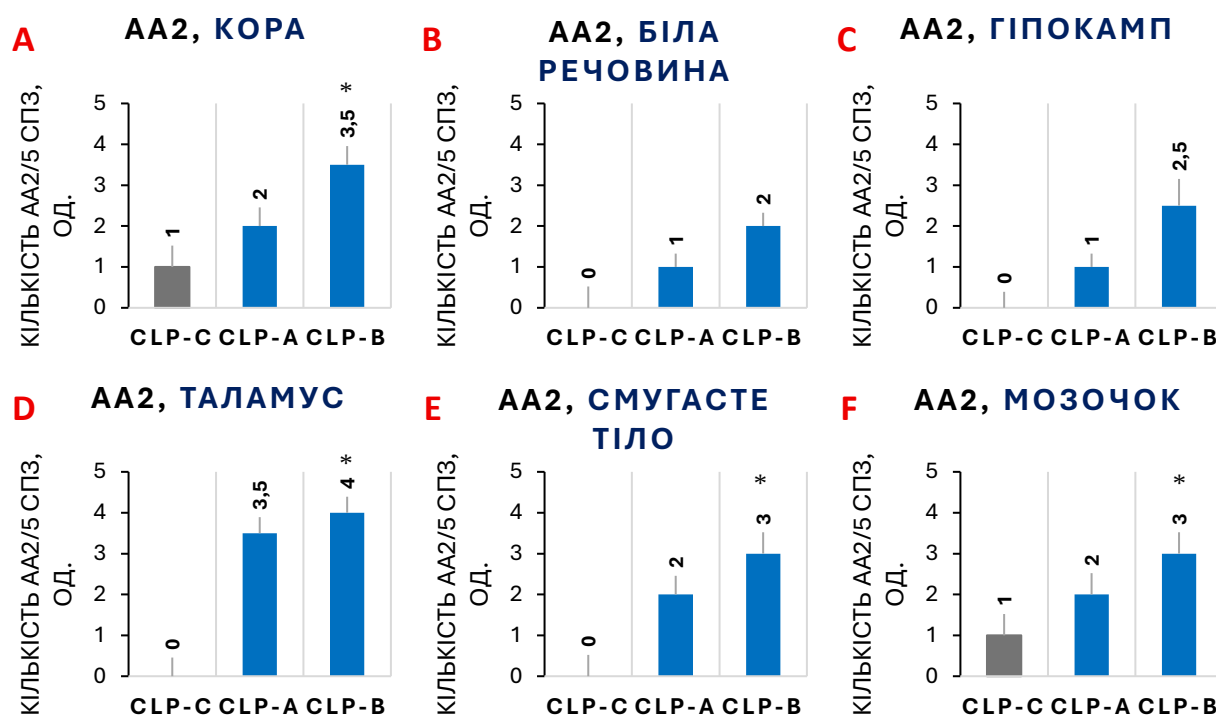
У виведених з експерименту щурів летальної підгрупи «CLP-B» кількість А2-астроцитів достовірно ($p < 0.05$) переважала показники контрольних щурів: в корі ВПГМ – в 3.50 рази; в таламусі – в 4.00 рази; в смугастому тілі – в 3.00 рази; в мозочку – в 3.00 рази і мала тенденцію ($p > 0.05$) до більш високих показників АА2 відносно значень щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» у вищеназваних відділах ГМ (табл. 7.1, рис. 7.7).

Таблиця 7.1 – Показники кількості АА2 в різних відділах ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B», «CLP-C» (од./5 СПЗ); Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	Група «CLP-A»	Група «CLP-B»	Група «CLP-C»
Кора	2.00 (1.00; 3.00)	3.50 (2.00; 4.00) *	1.00 (0.00; 1.00)
Біла речовина	1.00 (0.00; 1.50)	2.00 (0.00; 2.00)	0.00 (0.00; 0.00)
Гіпокамп	1.00 (0.00; 1.00)	2.50 (1.00; 3.00)	0.00 (0.00; 1.00)
Таламус	3.50 (1.00; 4.00)	4.00 (3.00; 5.00) *	0.00 (0.00; 2.00)
Смугасте тіло	2.00 (1.50; 3.00)	3.00 (2.00; 4.00) *	0.00 (0.00; 1.50)
Мозочок	2.00 (1.00; 3.00)	3.00 (2.50; 3.50) *	1.00 (0.00; 1.50)

Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0.05$).

В корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та в мозочку ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» поява А2-астроцитів була відзначена тільки на 30-й годині після перев'язки та пункції сліпої кишки, коли число їх почало динамічно збільшуватися і сягало максимуму на 38 год експерименту (табл. 7.2, рис. 7.8).



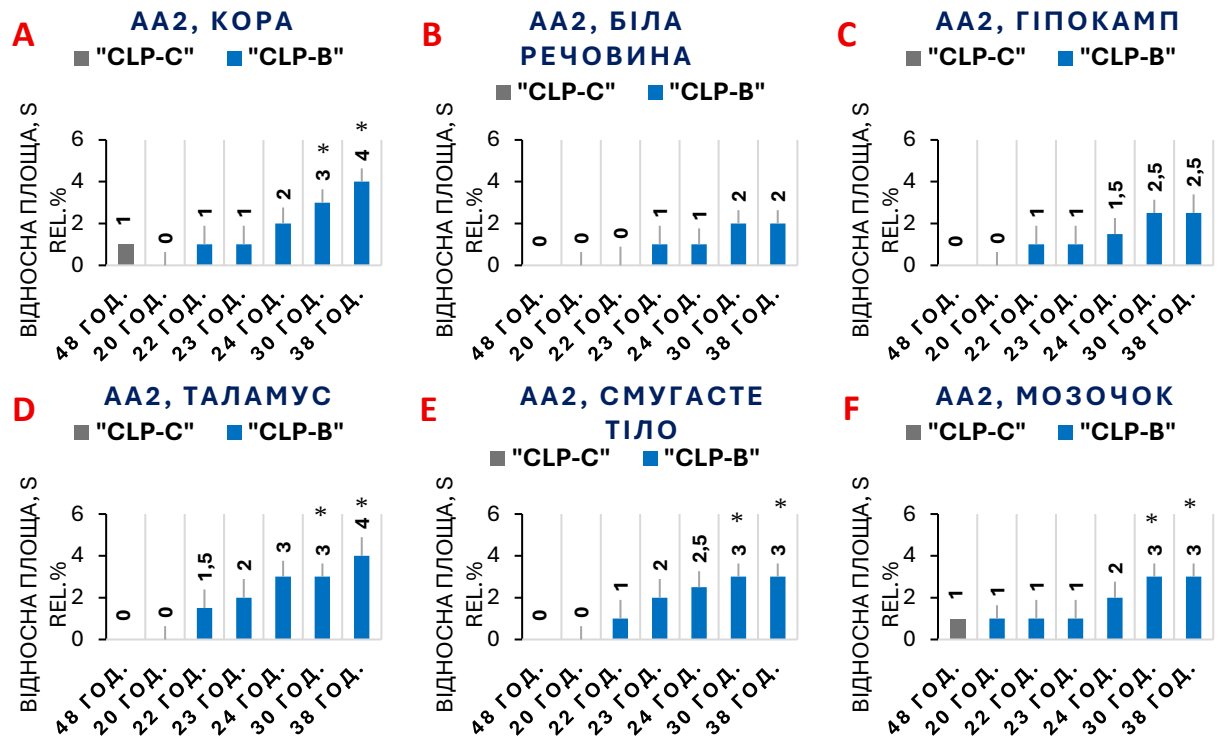
Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0.05$).

Рисунок 7.7 – Середня кількість АА2 в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), 33Г (С), таламусі (Д), смугастому тілі (Е), мозочку (Ф) щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

Таблиця 7.2 – Кількість АА2 у ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» в динаміці постін'єкційного періоду та щурів групи контролю «CLP-C»; Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа CLP-B						CLP-C
	Час після CLP-процедури						48 год.
	20 год.	22 год.	23 год.	24 год.	30 год.	38 год.	
Кора	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (1.00; 2.50)	1.00 (1.00; 2.00)	2.00 (1.00; 3.00)	3.00 (2.00; 3.00) *	4.00 (2.00; 4.00) *	1.00 (0.00; 1.00)
Біла речовина	0.00 (0.00; 1.00)	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (0.00; 1.50)	1.00 (0.00; 2.00)	2.00 (0.00; 2.00)	2.00 (0.00; 3.00)	0.00 (0.00; 0.00)
Гіпокамп	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (1.00; 2.00)	1.00 (0.00; 2.00)	1.50 (1.00; 2.00)	2.50 (1.00; 3.00)	2.50 (2.00; 3.00)	0.00 (0.00; 1.00)
Таламус	0.00 (0.00; 2.00)	1.50 (1.00; 3.00)	2.00 (2.00; 3.00)	3.00 (1.00; 3.00)	3.00 (3.00; 4.00) *	4.00 (3.00; 5.00) *	0.00 (0.00; 2.00)
Смугасте тіло	0.00 (0.00; 1.00)	1.00 (0.00; 1.50)	2.00 (1.00; 2.00)	2.50 (1.00; 3.00)	3.00 (2.00; 3.50) *	3.00 (2.50; 4.00) *	0.00 (0.00; 1.50)
Мозочок	1.00 (0.00; 1.00)	1.00 (1.00; 2.00)	1.00 (1.00; 3.00)	2.00 (1.00; 4.00)	3.00 (3.00; 4.00) *	3.00 (2.50; 3.50) *	1.00 (0.00; 1.50)

Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками групи контролю ($p < 0.05$).

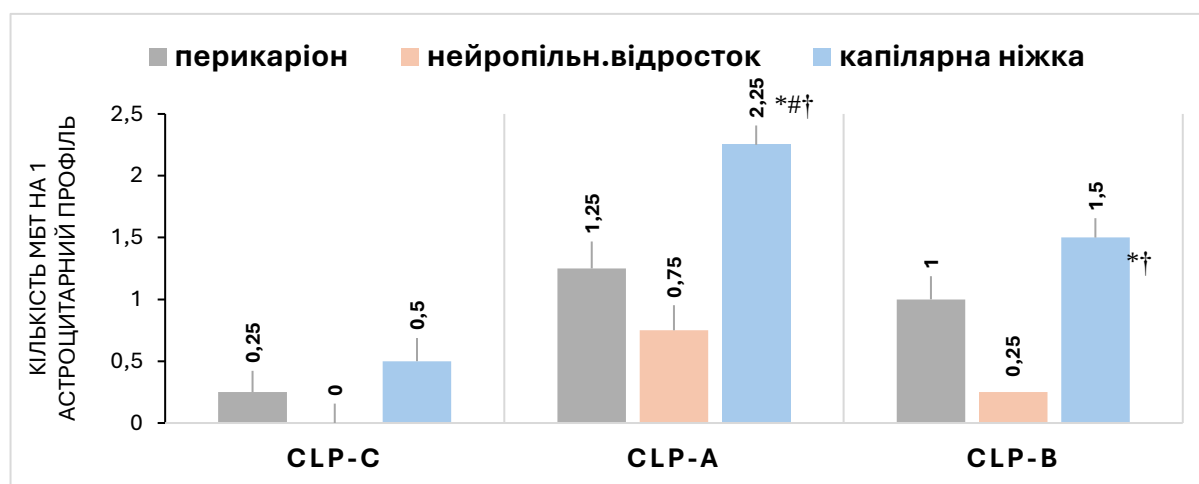
Рисунок 7.8 – Динаміка кількості AA2 в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), зубчастій звивині гіпокамп (С), таламусі (D), смугастому тілі (Е), мозочку (F) щурів летальної підгрупи «CLP-B» та показники групи контролю «CLP-C».

Субмікроскопічні зміни астроцитів кори головного мозку щурів. В кортикальних астроцитах тварин нелетальної підгрупи «CLP-A» спостерігалися ознаки компенсованого внутрішньоклітинного набряку у вигляді помірного набряку гіалоплазми з розширенням цитокавітальної мережі та відносною збереженістю клітинних органел, а також з достовірним ($p < 0.05$) відносно показників щурів контрольної групи (табл. 7.2, рис. 7.9) збільшенням кількості мультивезикулярних тілець, що накопичувалися переважно в астроцитарних капілярних ніжках (рис. 7.9). Таким чином, збільшення кількості MBT та їх перерозподіл у астроцитарні капілярні ніжки було типовою ознакою астрогліальної ультраструктури в групі тварин нелетальної підгрупи.

Таблиця 7.2 – Загальна і медіанна кількість MBT в різних компартментах астроцитів в підгрупах «CLP-A», «CLP-B» і групі контролю «CLP-C»

Підгрупа	Показник	Перикаріон	Нейропільний відросток	Капілярна ніжка
«CLP-A»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	363/330	237/330	709/330
	Кількість MBT / 1 компартмент	1.25 (0.50; 1.50)	0.75 (0.50; 1.00)	2.25 (2.00; 2.50) ^{#†*}
«CLP-B»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	256/270	126/270	459/270
	Кількість MBT / 1 компартмент	1.00 (0.00; 1.25)	0.25 (0.00; 0.75)	1.50 (1.00; 1.75) ^{†*}
«CLP-C»	Кількість MBT (од.) / кількість компартментів (од.) у групі	72/150	60/150	84/150
	Кількість MBT / 1 компартмент	0.25 (0.00; 0.50)	0.00 (0.00; 0.50)	0.50 (0.00; 0.50)

Примітка. * - достовірні відмінності відносно контрольних показників аналогічного компартменту; # - достовірні відмінності відносно показників «перикаріону»; † - достовірні відмінності відносно показників «нейропільного відростку» ($p < 0.05$).



Примітка. * - достовірні відмінності відносно контролю; # - достовірні відмінності відносно показників «перикаріону»; † - достовірні відмінності відносно показників «нейропільного відростку» ($p < 0.05$).

Рисунок 7.9 – Кількість MBT / 1 астроцитарний профіль в підгрупах «CLP-A», «CLP-B» та групі контролю «CLP-C».

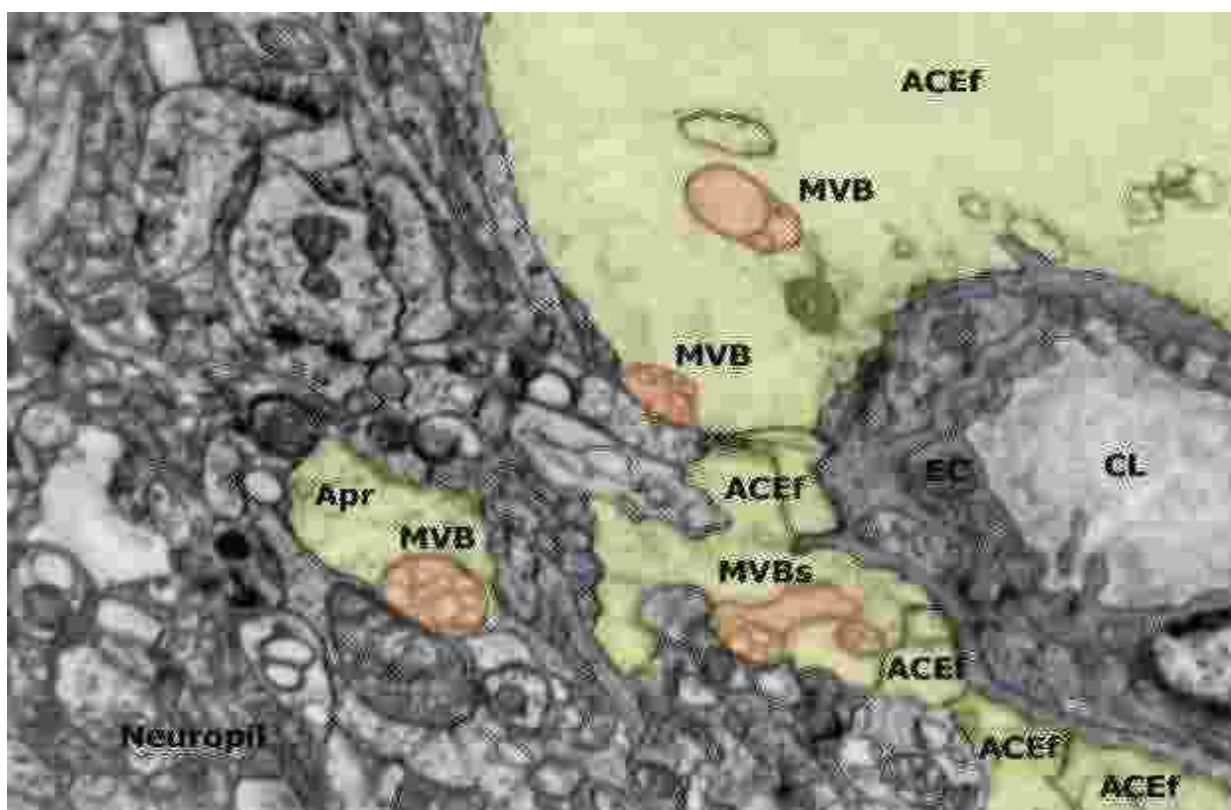


Рисунок 7.10 – Накопичення MBT в астроцитарних капілярних ніжках в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-A», 48 год після операції. TEM, зб. x 10000.

В корі ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» астроцитарні капілярні ніжки (рис. 7.11) та нейропільні відростки астроцитів (рис. 7.12) характеризувалися ознаками більш значної гіпергідратації гіалоплазми, її розширенням та поширеною електронною прозорістю через вогнищевий розпад органел і вакуолізацію. Ці ознаки були більш вираженими у глибоких шарах кори вздовж межі з білою речовиною, де у відростках навколишнього нейропілю одночасно спостерігалися деструктивні зміни органел.

В астроцитах кори ГМ щурів летальної підгрупи також визначалося накопичення MBT з перерозподілом їх до капілярних ніжок, але зростання кількості MBT було менш виразним порівняно з тваринами нелетальної підгрупи «CLP-A» (див. табл. 7.2, див. рис. 7.9). При цьому, астроцити, що містили MBT, характеризувалися відносно більш збереженими органелами і менш вираженим клітинним набряком (рис. 7.13).

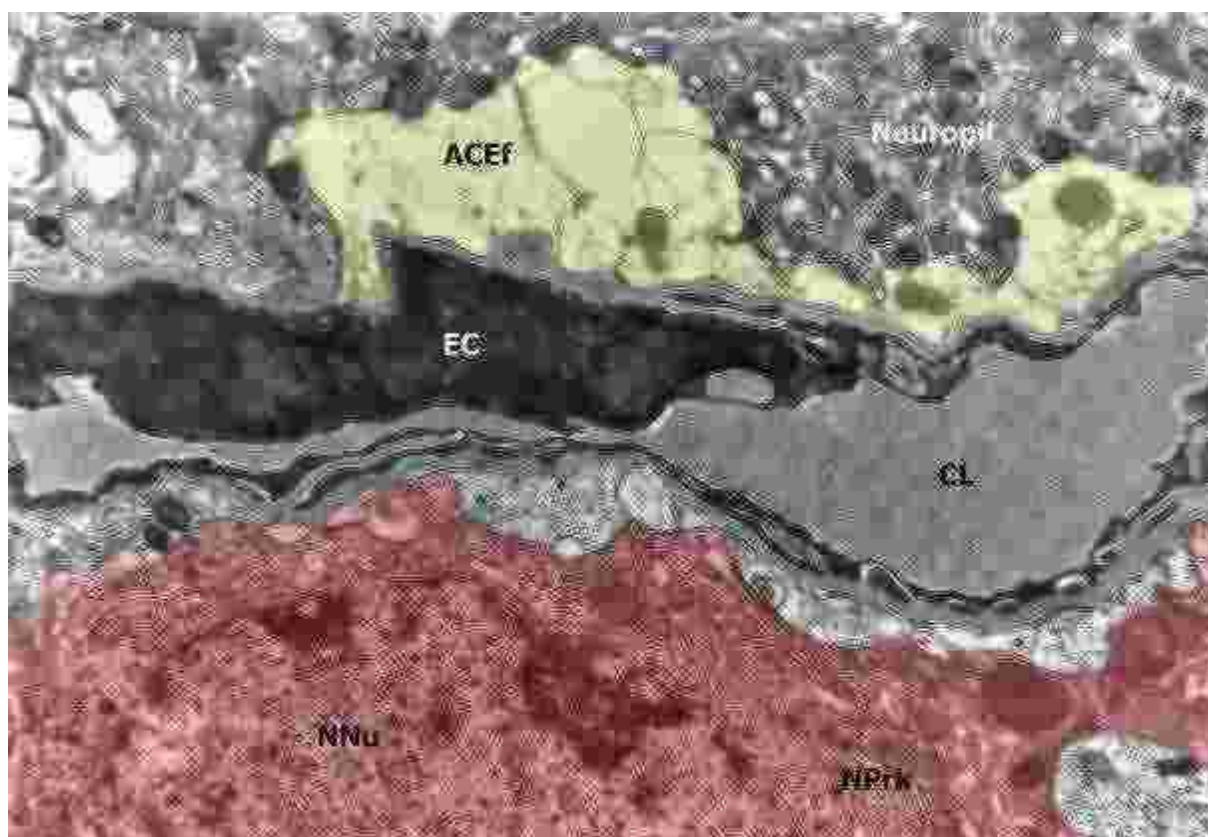


Рисунок 7.11 – Асиметричний виразний набряк астроцитарних капілярних ніжок у корі щура підрупи «CLP-B», 22 год після CLP. TEM, зб. x 7000.

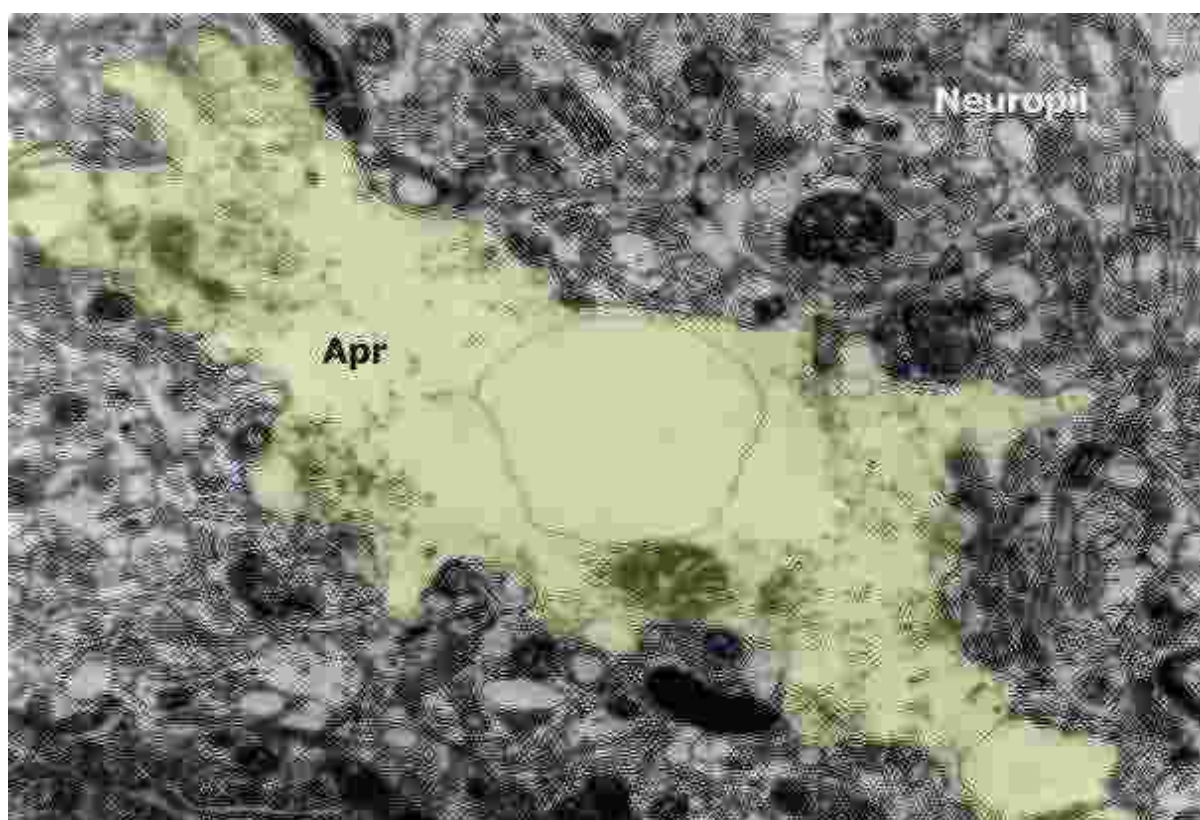


Рисунок 7.12 – Значний набряк з деструкцією органел нейропільного астроцитарного відростку в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-B», 23 год. після операції. TEM, зб. x 9500.

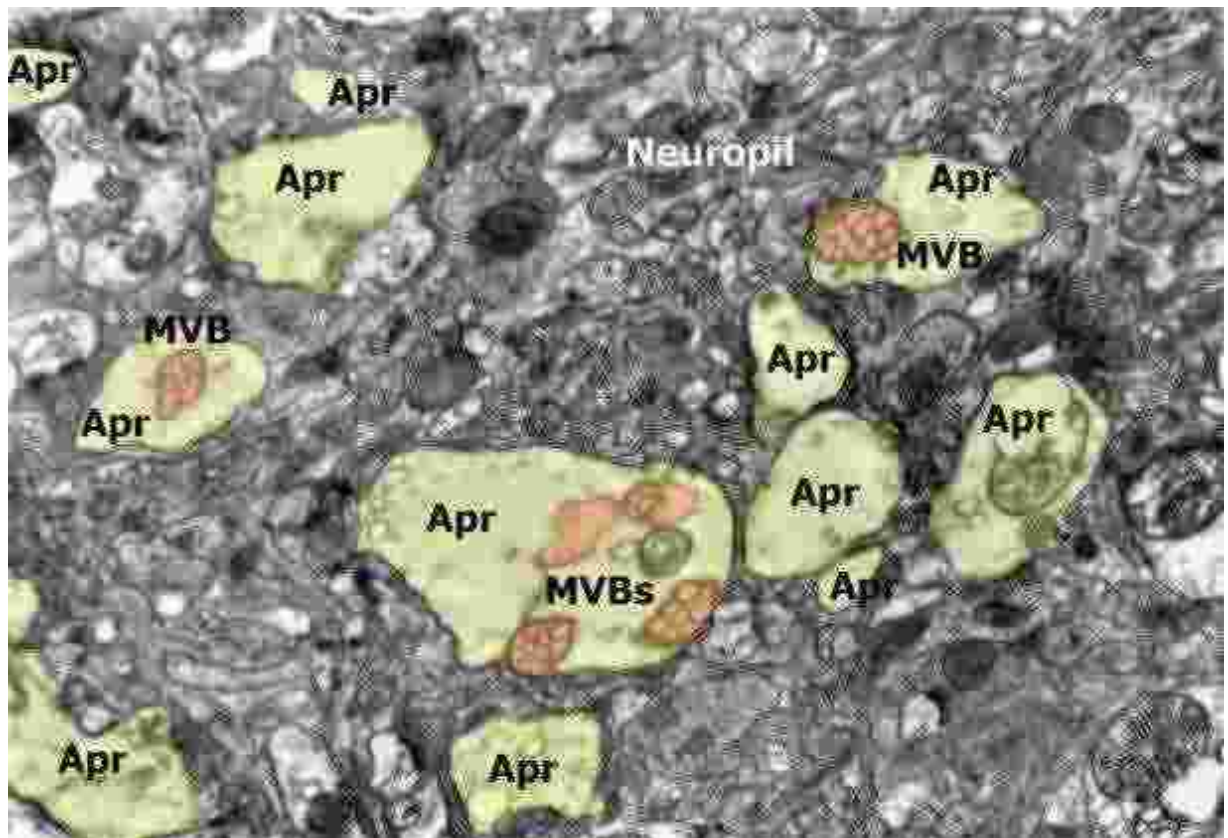


Рисунок 7.13 – Збільшення кількості MBT у астроцитарних відростках в корі ВПГМ щура підгрупи «CLP-B». Навколишній нейропіл відносно нормальної ультраструктури; 20 год після операції. TEM, зб. x 11000.

Морфометричні показники площі перицелюлярних і периваскулярних просторів головного мозку

При мікроскопічному дослідженні різних відділів ГМ щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом вогнищеве розширення периваскулярних і перицелюлярних просторів різного ступеня найбільш виразним було в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі та в мозочку. Підрахунок площі цих просторів (ПВп+ПЦп) в шести досліджених відділах ГМ щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» показав, що в корі і білій речовині ВПГМ та в мозочку показник ПВп+ПЦп достовірно ($p < 0.05$) перевищував на 86.02%, на 84.21% і на 46.49% контрольні значення, тоді як в гіпокампі, таламусі і смугастому тілі ці показники мали лише тенденцію ($p > 0.05$) до їх перевищення відносно показників групи контролю. У щурів летальної підгрупи «CLP-B» показник ПВп+ПЦп достовірно ($p < 0.05$) перевищував

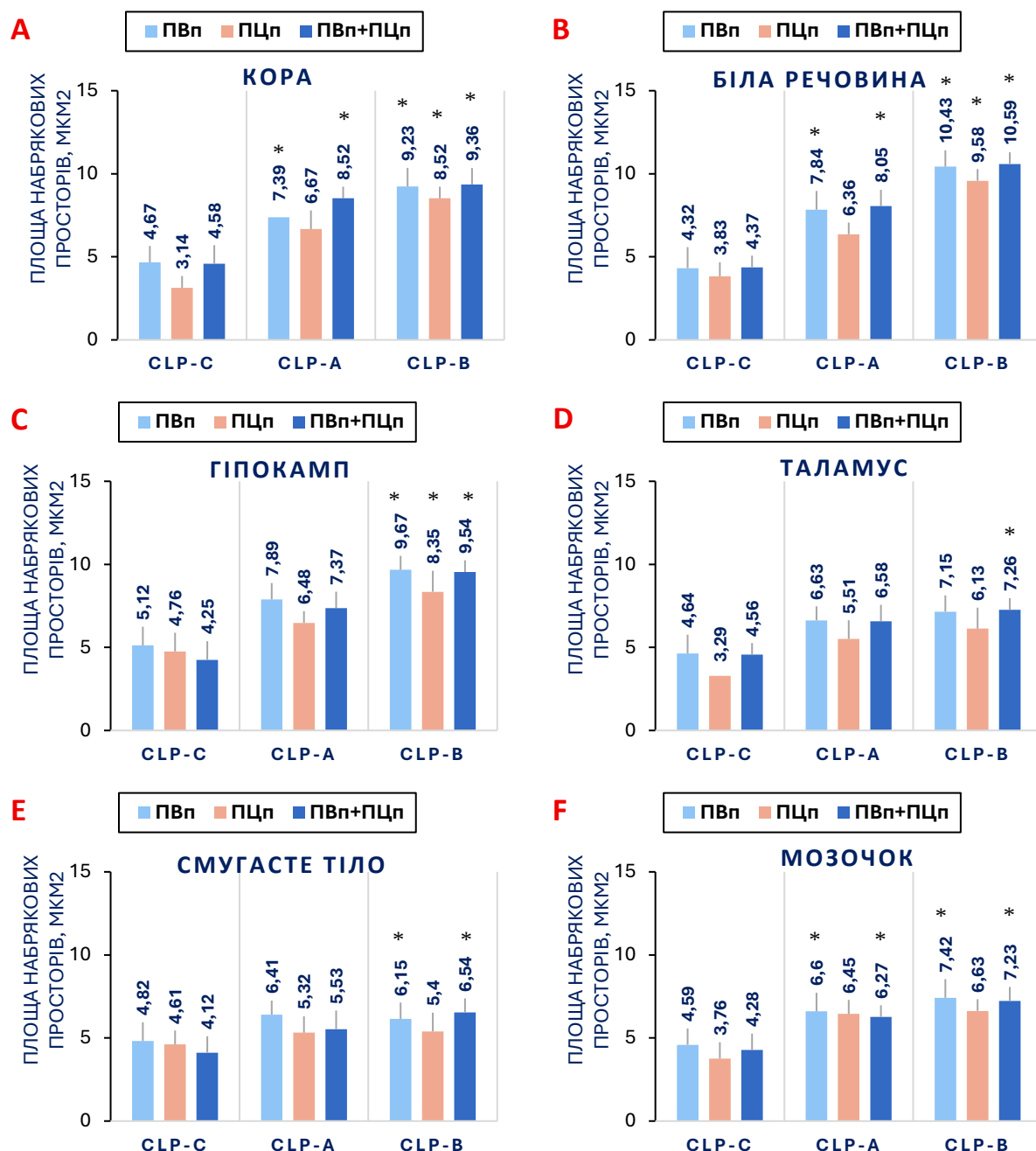
контрольні значення у всіх досліджених відділах ГМ (переважно за рахунок розширених периваскулярних просторів): в корі ВПГМ – на 104.36%; в білій речовині ВПГМ – на 142.33%; в гіпокампі – на 124.47%; в таламусі – на 59.21%; в смугастому тілі – на 58.73%; в мозочку – на 68.92%.

Порівняльний аналіз виявив тенденцію ($p > 0.05$) до більших значень параметру ПВп+ПЦп в усіх досліджених відділах ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B», порівняно щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» (табл. 7.3, рис. 7.14). Мала місце також дрібновогнищева порозність нейропілю переважно в корі ВПГМ та в гіпокампі.

Таблиця 7.3 – Площа (мкм²) перицелюлярних і периваскулярних просторів в ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B» і групи контролю

Показники	Підгрупа «CLP-A»	Підгрупа «CLP-B»	Контроль
Кора ВПГМ			
ПВп+ПЦп, мкм ²	8.52 (5.15; 8.67)*	9.36 (8.85; 10.65)*	4.58 (3.24; 5.63)
ПЦп, мкм ²	6.67 (5.41; 7.52)	8.52 (7.15; 9.07)*	3.14 (2.45; 5.48)
ПВп, мкм ²	7.39 (6.23; 8.37)*	9.23 (8.11; 10.57)*	4.67 (2.36; 5.25)
Біла речовина ВПГМ			
ПВп+ПЦп, мкм ²	8.05 (6.32; 9.45)*	10.59 (10.15; 11.67)*	4.37 (3.46; 5.06)
ПЦп, мкм ²	6.36 (4.62; 9.14)	9.58 (8.26; 10.07)*	3.83 (2.74; 4.95)
ПВп, мкм ²	7.84 (5.97; 9.72)*	10.43 (9.54; 11.32)*	4.32 (2.93; 5.66)
Гіпокамп			
ПВп+ПЦп, мкм ²	7.37 (5.42; 8.12)	9.54 (8.26; 10.08)*	4.25 (3.55; 5.71)
ПЦп, мкм ²	6.48 (5.02; 7.23)	8.35 (7.28; 8.95)*	4.76 (2.27; 5.11)
ПВп, мкм ²	7.89 (4.93; 8.56)	9.67 (8.52; 10.61)*	5.12 (4.23; 5.65)
Таламус			
ПВп+ПЦп, мкм ²	6.58 (5.10; 7.06)	7.26 (6.15; 8.05)*	4.56 (3.37; 5.28)
ПЦп, мкм ²	5.51 (4.29; 6.16)	6.13 (5.42; 7.11)	3.29 (3.14; 5.65)
ПВп, мкм ²	6.63 (5.52; 7.31)	7.15 (5.10; 7.97)	4.64 (3.85; 6.06)
Смугасте тіло			
ПВп+ПЦп, мкм ²	5.53 (4.84; 6.06)	6.54 (6.23; 7.16)*	4.12 (3.45; 5.85)
ПЦп, мкм ²	5.32 (4.62; 6.72)	5.40 (5.16; 6.73)	4.61 (3.56; 5.23)
ПВп, мкм ²	6.41 (5.17; 7.06)	6.15 (5.80; 7.24)*	4.82 (3.80; 5.63)
Мозочок			
ПВп+ПЦп, мкм ²	6.27 (5.45; 6.73)*	7.23 (6.84; 8.35)*	4.28 (3.84; 5.15)
ПЦп, мкм ²	6.45 (4.65; 6.70)	6.63 (5.45; 7.72)	3.76 (3.42; 5.81)
ПВп, мкм ²	6.60 (6.44; 7.25)*	7.42 (7.34; 8.56)*	4.59 (4.22; 6.27)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками групи контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 7.14 – Медіанні значення площі набрякових тканинних просторів (в μm^2) в корі ВПГМ (А), білій речовині ВПГМ (В), зубчастій звивині гіпокампу (С), таламусі (Д), смугастому тілі (Е), корі та білій речовині мозочку (F) експериментальних щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

Імуногістохімічна характеристика астроглії головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

Дослідження експресії GFAP. Порівнюючи експресію GFAP в різних відділах ГМ щурів контрольної групи «CLP-C» через 48 год після хибної операції, виявлено значну гетерогенність імунореактивності з найбільшим рівнем експресії в білій речовині ВПГМ і найменшим – в корі ВПГМ. Кортикальні GFAP⁺-астроцити були представлені типовими протоплазматичними формами з невеликим тілом і тонкими середньої довжини відростками з помірним гілкуванням і добре вираженими васкулярними кінцевими ніжками. GFAP⁺-астроцити білої речовини були представлені фіброзним типом з дещо меншим клітинним тілом, але добре розвинутими товстішими відростками, які, так само як астроцити кори ВПГМ, не перекривали домени сусідніх клітин. GFAP⁺-астроцити гіпокампу, таламусу, смугастого тіла та мозочку представлені обидвома формами з відносним переважанням фіброзного типу. У більшості досліджених відділів ГМ щурів контрольної групи GFAP⁺-астроцити переважно знаходилися в тісному взаємозв'язку з судинними стінками, встановлюючи з ними множинні контакти через кінцеві ніжки (рис. 7.15-7.18).

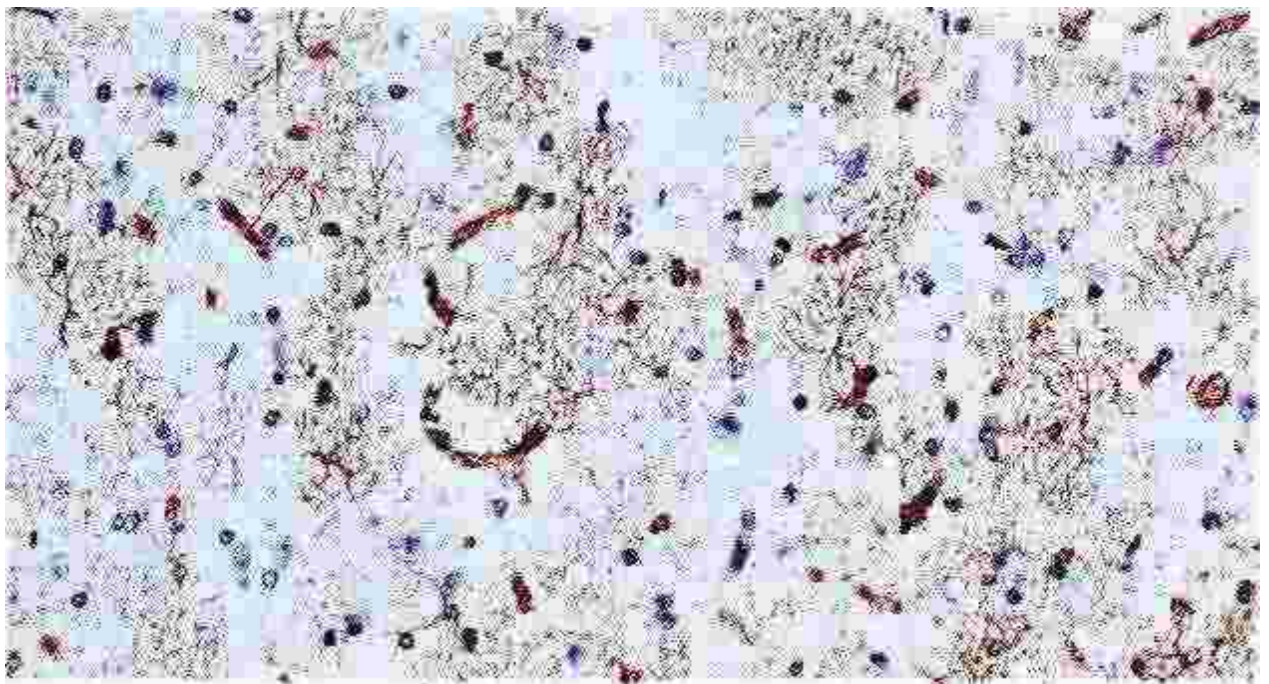


Рисунок 7.15 – Експресія GFAP в корі ГМ щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

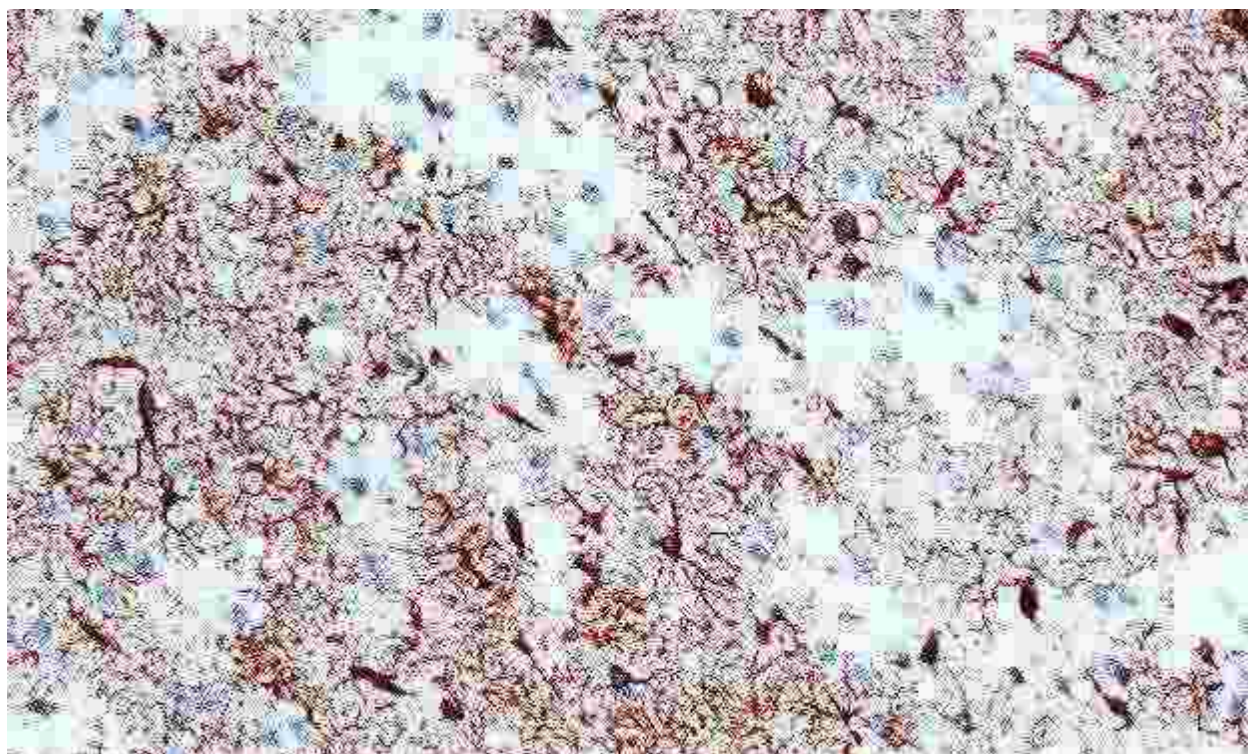


Рисунок 7.16 – Експресія GFAP в білій речовині ГМ щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

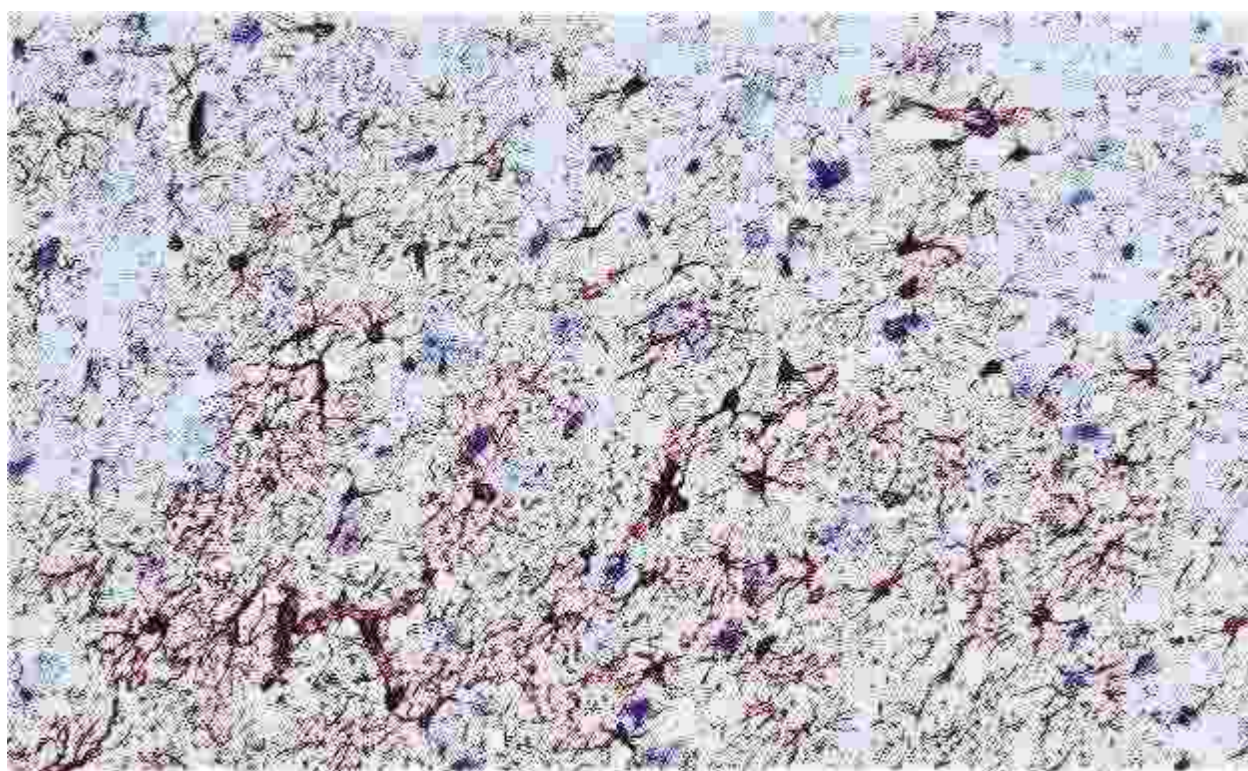


Рисунок 7.17 – Експресія GFAP в гіпокампі щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

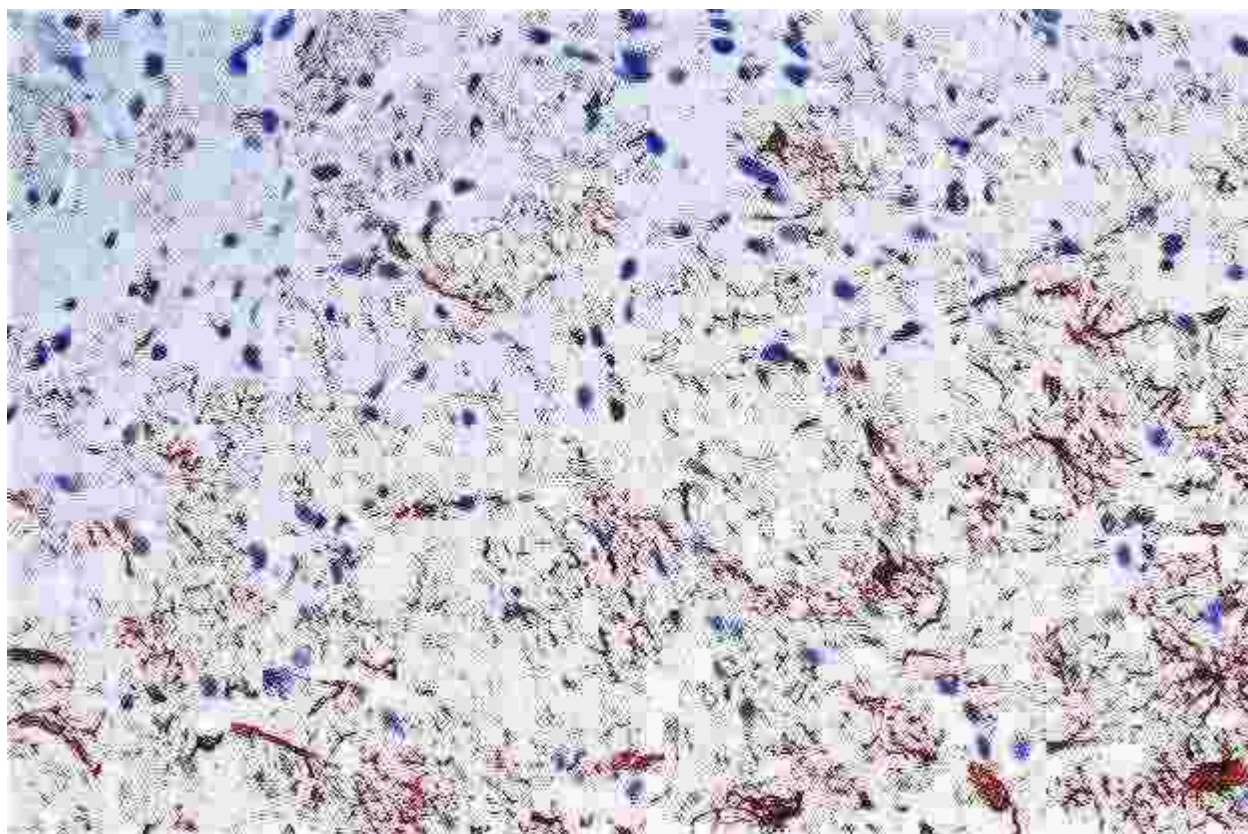


Рисунок 7.18 – Експресія GFAP в смугастому тілі ГМ щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

ІГХ дослідження ГМ щурів підгруп «CLP-A» і «CLP-B» виявило значне підвищення площі експресії GFAP через збільшення кількості, розмірів GFAP⁺ клітин та їх відростків, та через розвиток вогнищового анізоморфного астрогліозу (рис. 7.19-7.22). У вогнищах астрогліозу GFAP⁺ астроцити перекривали територіальні домени сусідніх гліоцитів, їх клітинні тіла були наближеними одне до одного, а численні потовщені відростки перетиналися між собою, утворюючи осередки грубої фіброзної мережі. Капілярні кінцеві ніжки астроцитів набували потовщення, чітко окреслюючи судинні стінки на значному протязі. Вогнища таких змін найчастіше визначалися в білій речовині ВПГМ і в гіпокампі (рис. 7.20, 7.21, табл. 7.4, рис. 7.23).



Рисунок 7.19 – Гіперекспресія GFAP в осередку анізоморфного астрогліозу кори ГМ щура нелетальної підгрупи «CLP-A», 48 год. після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

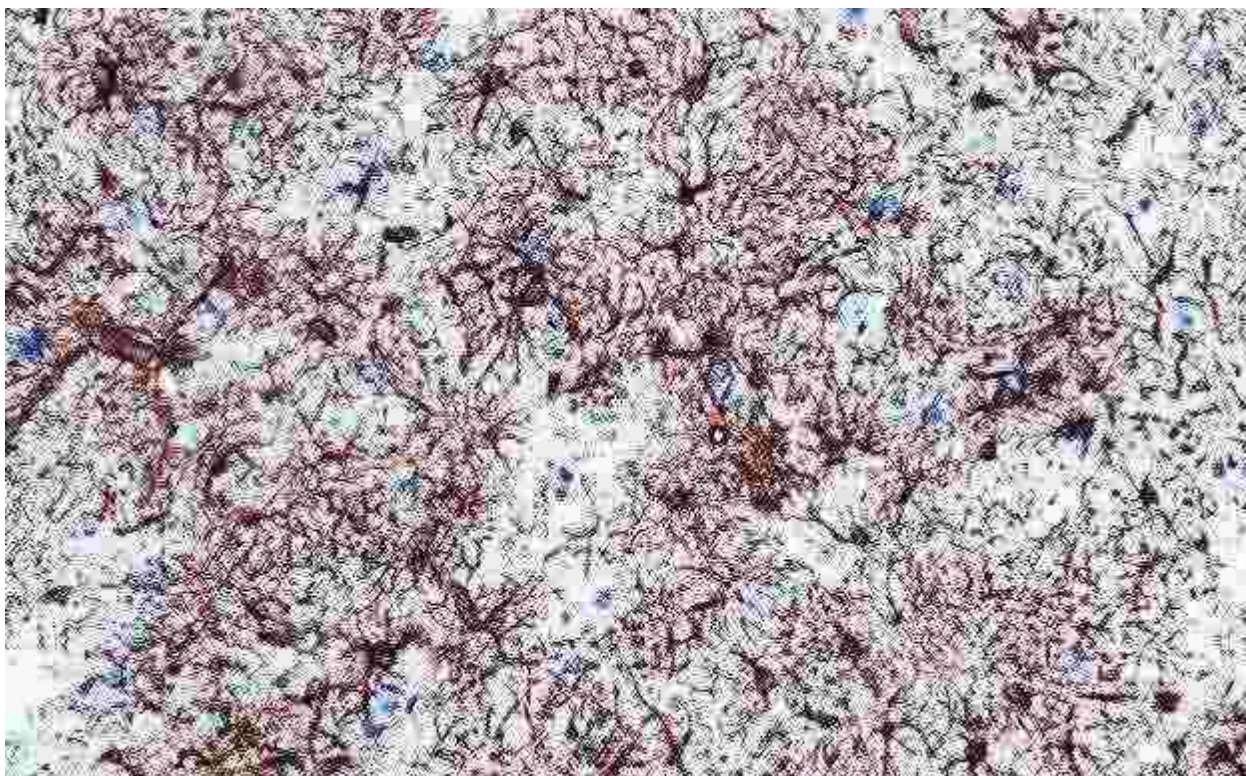


Рисунок 7.20 – Гіперекспресія GFAP в осередку анізоморфного астрогліозу білої речовини ГМ щура нелетальної групи «CLP-A», 48 год. після операції. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

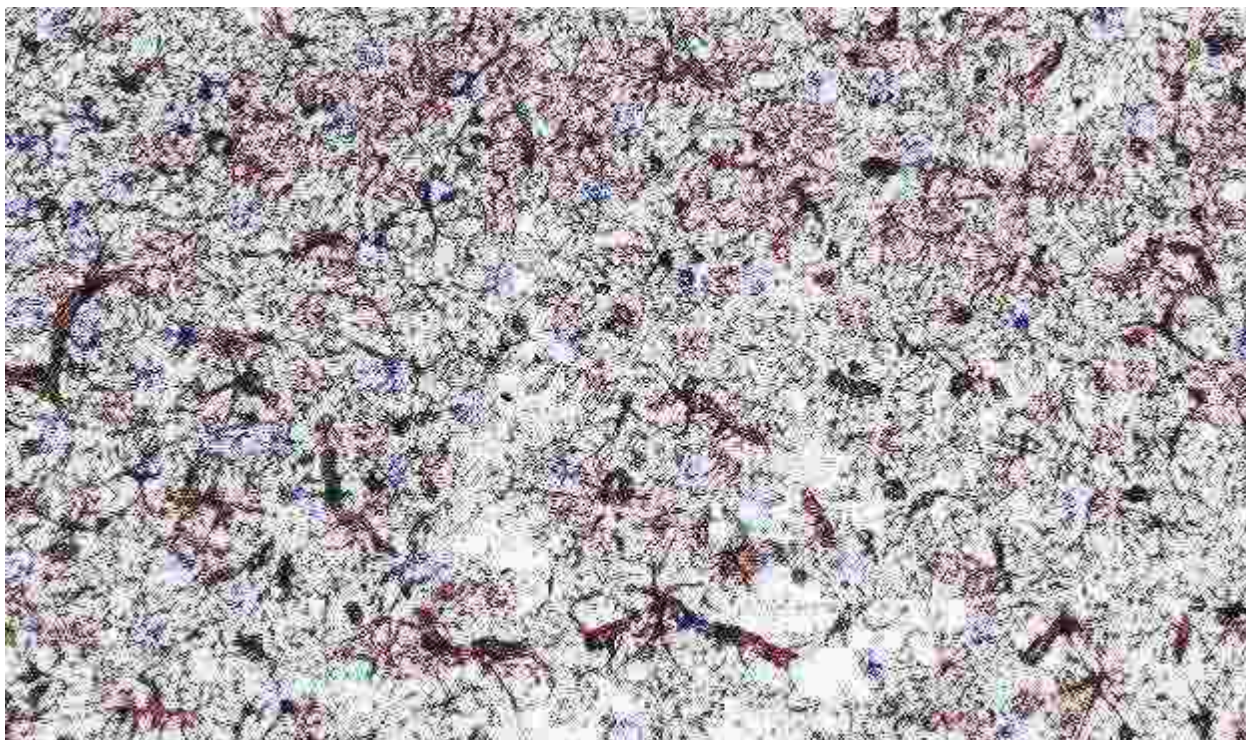


Рисунок 7.21 – Гіперекспресія GFAP в осередку анізоморфного астрогліозу в гіпокампі щура нелетальної групи «CLP-A», 48 год післяопераційного періоду. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

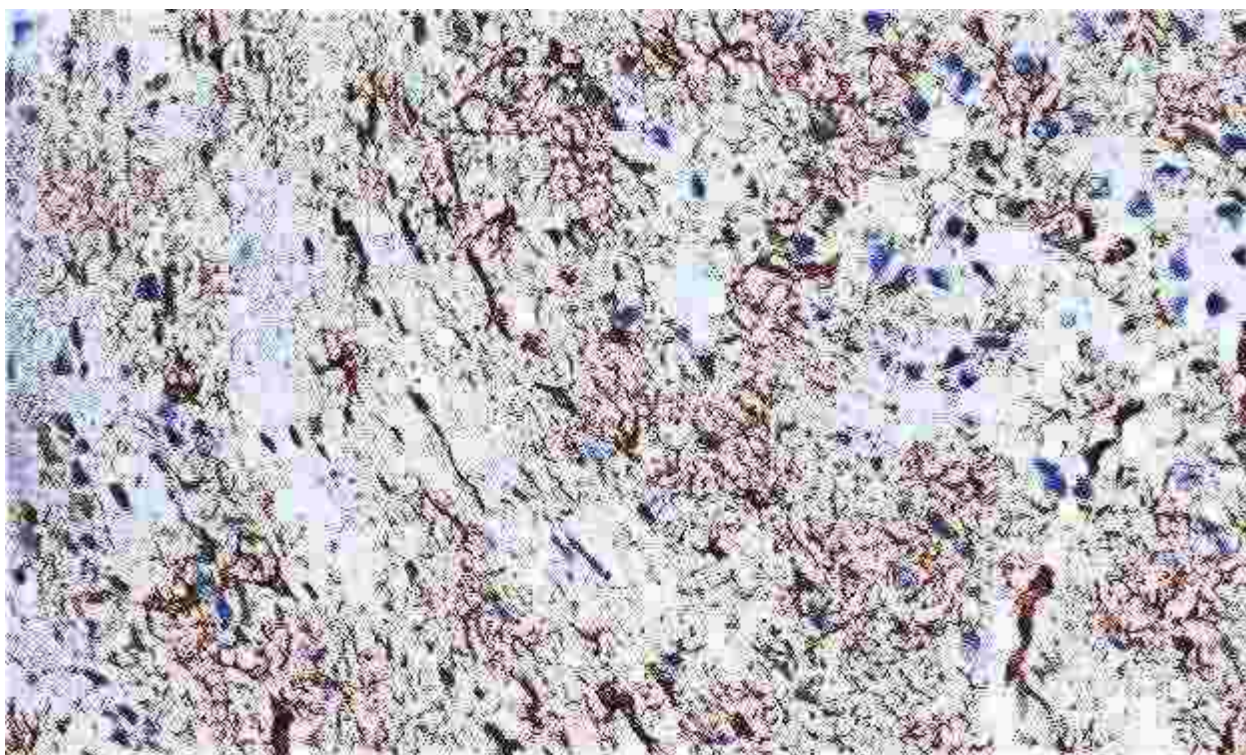
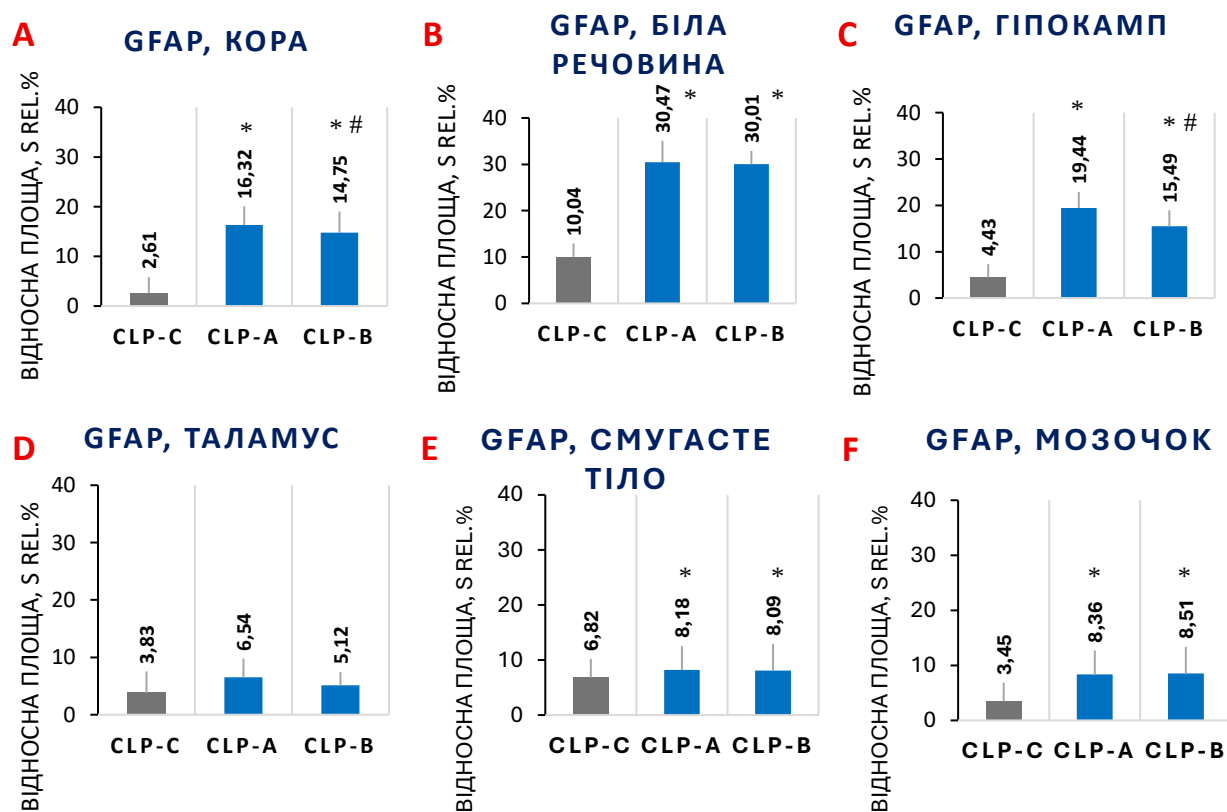


Рисунок 7.22 – Гіперекспресія GFAP в осередку анізоморфного астрогліозу в смугастому тілі щура нелетальної групи «CLP-A», 48 год післяопераційного періоду. Мо monoclonal GFAP Ab (*clone ASTRO6*), зб. x200.

Таблиця 7.4 – Показники експресії GFAP (S rel%) у різних відділах ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B», і групи контролю «CLP-C»; Ме (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа «CLP-A»	Підгрупа «CLP-B»	Група «CLP-C»
Кора	16.32 (16.06; 17.51) *	14.75 (12.97; 15.36) *#	2.61 (2.58; 3.20)
Біла речовина	30.47 (26.90; 32.92) *	30.01 (25.32; 30.60) *	10.04 (6.98; 11.27)
Гіпокамп	19.44 (18.78; 20,60) *	15.49 (14.94; 18.21) *#	4.43 (2.92; 5.04)
Таламус	6.54 (3.78; 7.72)	5.12 (3.31; 6.50)	3.83 (3.20; 4.42)
Смугасте тіло	8.18 (7.56; 11.17) *	8.09 (6.27; 11.26) *	6.82 (5.66; 7.48)
Мозочок	8.36 (7.92; 10.51) *	8.51 (6.30; 9.72) *	3.45 (3.12; 4.57)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно контрольної групи; (#) – достовірні відмінності відносно підгрупи «CLP-A» ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «CLP-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 7.23 – Медіанні значення площі експресії GFAP в ГМ щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

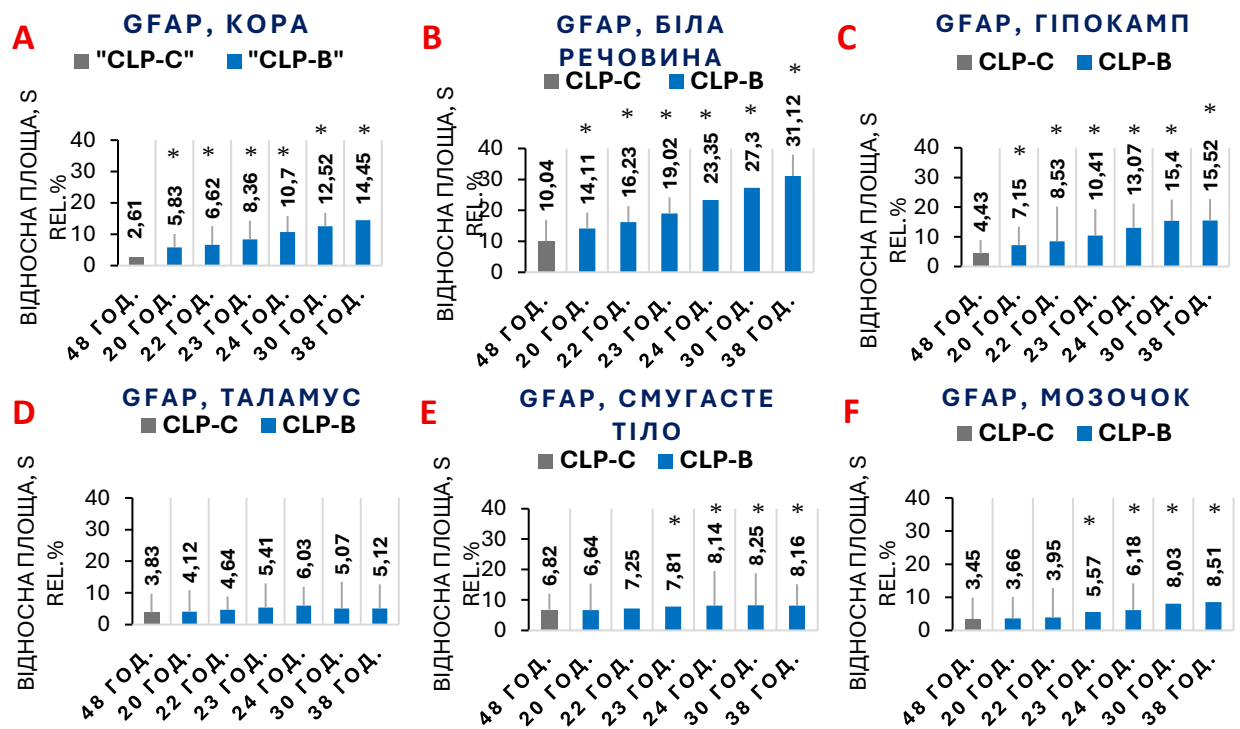
Площа експресії GFAP в ГМ щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп CLP-щурів статистично достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники контрольної групи в п'яти з шести досліджених відділах ГМ: в корі ВПГМ – в 6.25 рази і в 5.65 рази; в білій речовині ВПГМ – в 3.03 рази і в 2.98 рази; в гіпокампі – в 4.38 рази і в 3.49 рази; в смугастому тілі – в 1.19 рази і в 1.18 рази; в мозочку – в 2.42 рази і в 2.46 рази відповідно. В таламусі щурів обох «CLP»-підгруп експресія GFAP мала лише статистично не достовірну тенденцію ($p > 0.05$) до підвищення відносно показників контрольної групи. Із наведених даних видно, що у щурів обох «CLP»-підгруп відносно більш виразне підвищення експресії GFAP спостерігалось в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі та в мозочку ГМ. Порівнюючи між собою площу експресії GFAP в двох «CLP»-підгрупах відзначено тенденцію ($p > 0.05$) до більш високих показників у щурів нелетальної підгрупи «CLP-A», а в корі ВПГМ та в гіпокампі таке перевищення мало статистично підтверджену достовірність ($p < 0.05$) (див. табл. 7.4, див. рис. 7.23).

В динаміці післяопераційного періоду у щурів летальної підгрупи «CLP-B» достовірне підвищення експресії GFAP відносно показників контролю було відзначено вже на 20 год в корі, білій речовині і гіпокампі; на 23 год – у смугастому тілі та мозочку щурів, а максимальні значення площі експресії GFAP в усіх досліджених відділах ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» спостерігалися на 38 год експерименту (табл. 7.5, рис. 7.24).

Таблиця 7.5 – Показники експресії GFAP (S rel%) у різних відділах ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» в динаміці післяопераційного періоду та в групі контролю «CLP-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа CLP-B						CLP-C
	Час після CLP-процедури						48 год.
	20 год.	22 год.	23 год.	24 год.	30 год.	38 год.	
Кора	5.83 (4.64; 6.01)*	6.62 (5.86; 7.50)*	8.36 (7.05; 9.27)*	10.70 (9.84; 11.42)*	12.52 (11.32; 15.26)*	14.45 (12.22; 15.14)*	2.61 (2.58; 3.20)
Біла речовина	14.11 (12.75; 14.52)*	16.23 (15.41; 17.95)*	19.02 (18.45; 22.12)*	23.35 (22.07; 24.14)*	27.30 (25.24; 30.52)*	31.12 (27.63; 32.10)*	10.04 (6.98; 11.27)
Гіпокамп	7.15 (6.24; 8.18)*	8.53 (7.26; 9.57)*	10.41 (9.15; 11.73)*	13.07 (11.63; 14.10)*	15.40 (14.21; 17.15)*	15.52 (14.90; 18.23)*	4.43 (2.92; 5.04)
Таламус	4.12 (3.32; 4.73)	4.64 (3.28; 5.16)	5.41 (3.65; 5.72)	6.03 (3.80; 7.11)	5.07 (4.10; 6.45)	5.12 (3.31; 6.50)	3.83 (3.20; 4.42)
Смугасте тіло	6.64 (5.11; 7.72)	7.25 (6.33; 8.81)	7.81 (7.60; 9.10)*	8.14 (6.15; 10.43)*	8.25 (7.52; 11.36)*	8.16 (6.71; 11.30)*	6.82 (5.66; 7.48)
Мозочок	3.66 (3.10; 4.62)	3.95 (3.47; 4.85)	5.57 (5.08; 6.24)*	6.18 (7.34; 8.56)*	8.03 (6.45; 9.28)*	8.51 (6.30; 9.72)*	3.45 (3.12; 4.57)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками групи контролю ($p < 0.05$).

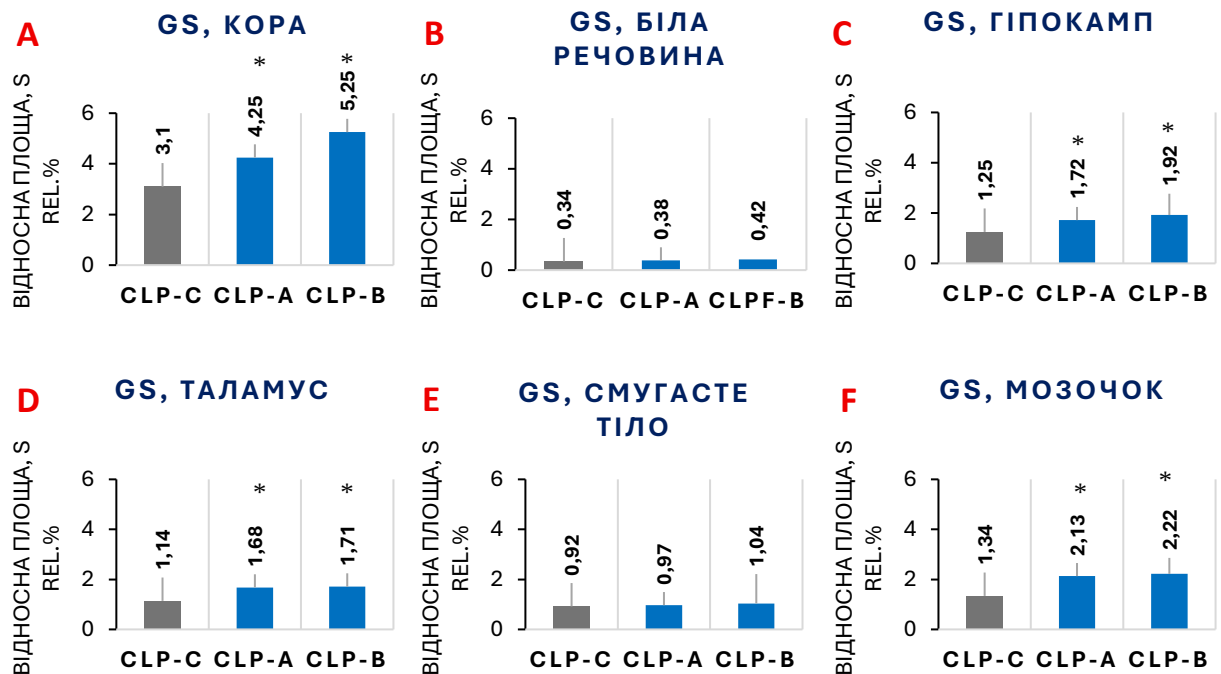
Рисунок 7.24 – Динаміка експресії GFAP в ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» в післяопераційному періоді відносно групи контролю «CLP-C».

Імуногістохімічне дослідження експресії GS. В ГМ щурів контрольної підгрупи «CLP-C» через 48 год експерименту найвищий рівень площі експресії GS виявлено у сенсомоторній корі ВПГМ і найнижчий – в підкірковій білій речовині ВПГМ (табл. 7.5, рис. 7.25). У всіх шести досліджених відділах ГМ експресія GS була пов'язана з судинними астрогліальними кінцевими ніжками і дуже рідко – з нейропільними астроцитарними відростками (рис. 7.26).

Таблиця 7.5 – Показники експресії GS в ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B» і групи «CLP-C» (Srel.%); Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа «CLP-A»	Підгрупа «CLP-B»	Група «CLP-C»
Кора	4.25 (4.12; 5.25)*	5.25 (4.23; 5.72)*	3.10 (2.56; 3.85)
Біла речовина	0.38 (0.29; 1.20)	0.42 (0.32; 1.39)	0.34 (0.27; 0.41)
Гіпокамп	1.72 (1.63; 2.03)*	1.92 (1.74; 2.11)*	1.25 (0.72; 1.52)
Таламус	1.68 (1.53; 2.11)*	1.71 (1.65; 2.25)*	1.14 (0.38; 1.34)
Смугасте тіло	0.97 (0.48; 1.67)	1.04 (0.52; 1.76)	0.92 (0.47; 1.52)
Мозочок	2.13 (2.08; 2.25)*	2.22 (2.10; 2.54)*	1.34 (0.86; 1.92)

Примітка. (*) достовірні відмінності порівняно з контрольною групою ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0.05$).

Рисунок 7.25 – Медіанні значення експресії GS в ГМ щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

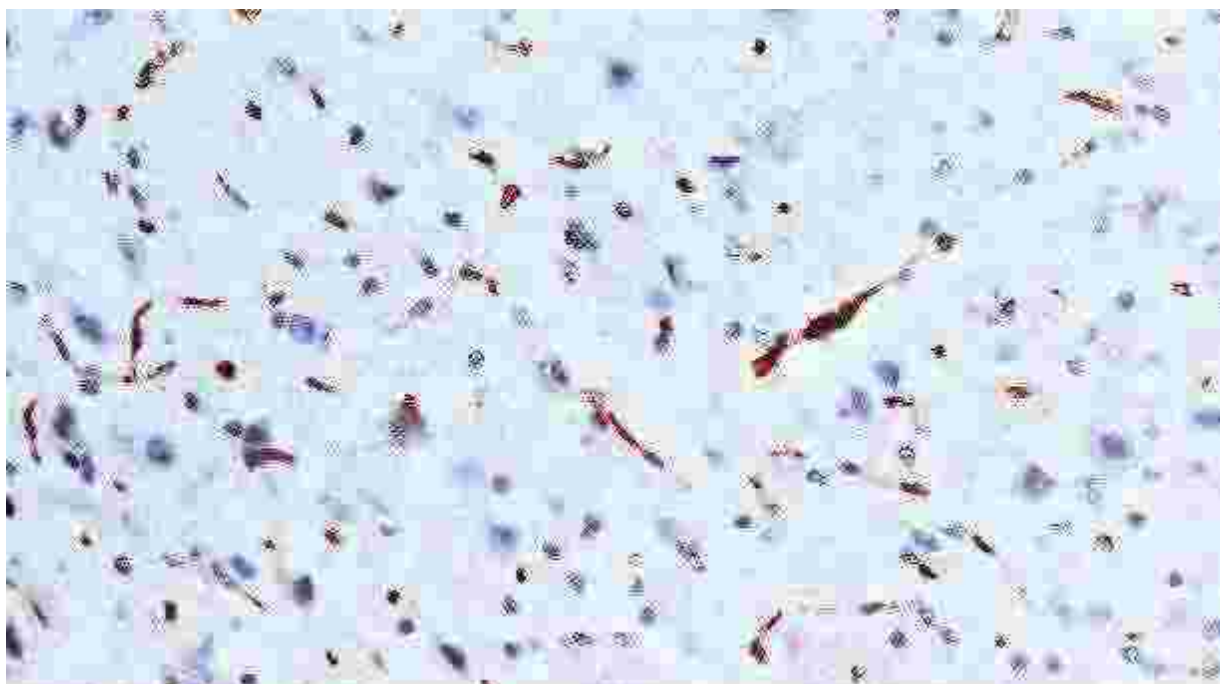


Рисунок 7.26 – Експресія GS в корі ГМ щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після фіктивної процедури (Rb polyclonal anti-GS Ab). 36. x200.

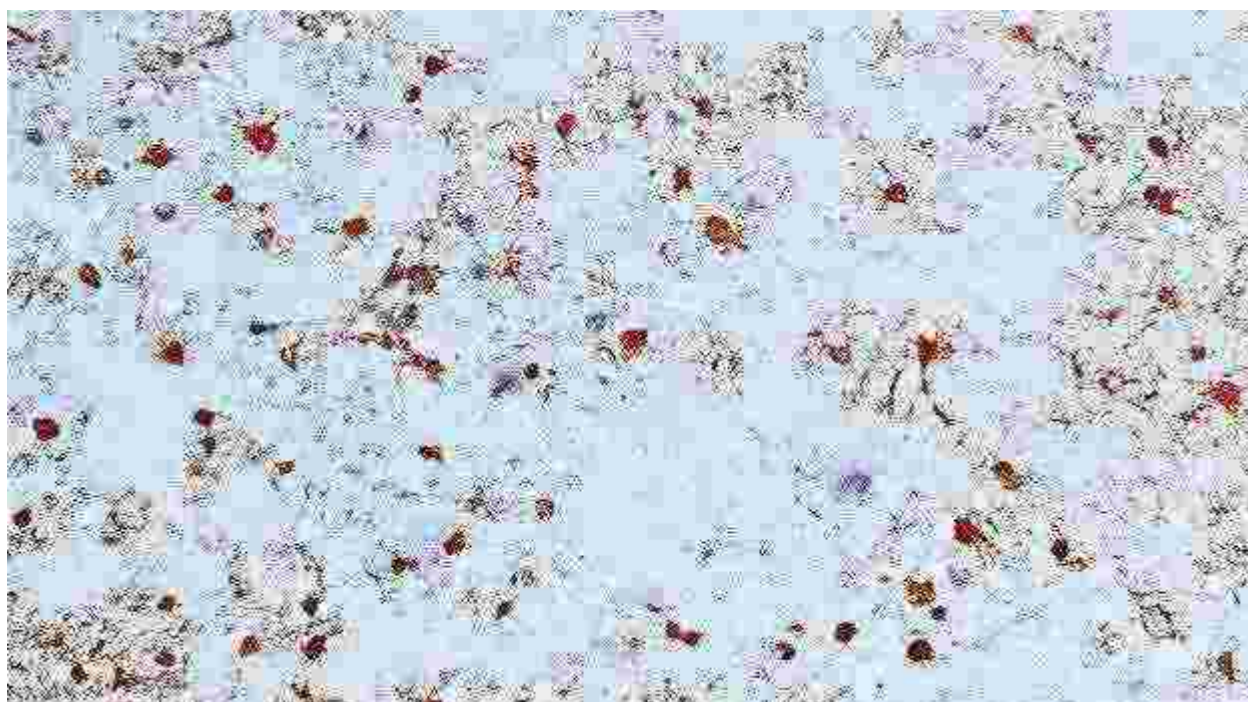


Рисунок 7.27 – Експресія GS в корі ГМ щура летальної підгрупи «CLP-B», 38 год післяопераційного періоду (Rb polyclonal anti-GS Ab). 36. x200.

ІГХ дослідження ГМ щурів після CLP-операції виявило помірне збільшення площі GS-імунопозитивного матеріалу. У сенсомоторній корі ВПГМ GS⁺-імуномічення визначалося переважно в перикаріонах гіпертрофічно змінених тіл астроцитів двох перших поверхневих шарів кори

ГМ, а також рівномірно розподілялося в їх різних астроцитарних відростках. Такий розподіл експресії призводив до дифузно-вогнищевого GS⁺-забарвлення нейропілю (див.рис. 7.27).

У експериментальних шурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп достовірно підвищення площі експресії GS, відносно шурів контрольної підгрупи, визначалося в чотирьох з шести досліджених відділах ГМ з тенденцією ($p>0.05$) до більш значущого підвищення експресії в ГМ шурів летальної підгрупи «CLP-B», порівняно з нелетальною «CLP-A» (див. табл. 7.5, див. рис. 7.25).

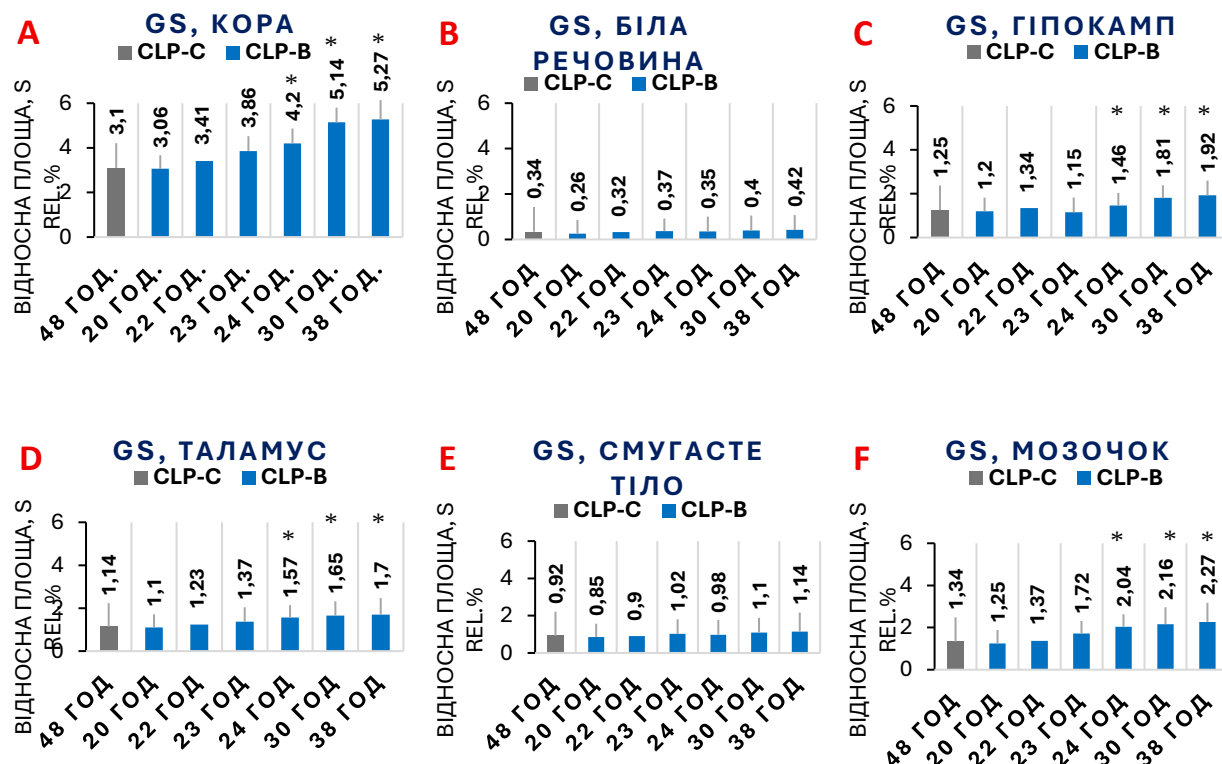
ІГХ експресія GS в ГМ шурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп достовірно ($p<0.05$) перевищувала показники контролю: в корі ВПГМ – на 37.09% і на 69.35%; в гіпокампі – на 37.60% і на 53.60%; в таламусі – на 47.36% і на 50.00%; в мозочку – на 58.95% і на 65.67%, відповідно. Із наведених даних видно, що в чотирьох відділах ГМ шурів обох «CLP»-підгруп спостерігалось майже однакове підвищення експресії GS відносно показників контрольної групи. В білій речовині ВПГМ і смугастому тілі показники площі експресії GS статистично не відрізнялися від контрольних показників (див. табл. 7.5, див. рис. 7.25).

У ГМ тварин летальної підгрупи «CLP-B» протягом післяопераційного періоду відбувалося поступове збільшення площі експресії GS: перше достовірне ($p<0.05$) підвищення показників площі експресії GS в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі та мозочку зареєстроване лише на 24 год, а максимальні показники площі експресії GS мали місце на 38 год експерименту (табл. 7.6, рис. 7.28).

Таблиця 7.6 – Динаміка змін площі експресії GS в ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» після CLP та в групі контролю «CLP-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа CLP-B						CLP-C
	Час після CLP-процедури						48 год.
	20 год.	22 год.	23 год.	24 год.	30 год.	38 год.	
Кора	3.06 (2.83; 3.72)	3.41 (2.90; 3.83)	3.86 (3.12; 4.05)	4.20 (4.11; 4.34)*	5.14 (4.26; 5.28)*	5.27 (4.32; 5.70)*	3.10 (2.56; 3.85)
Біла речовина	0.26 (0.22; 0.40)	0.32 (0.18; 0.44)	0.37 (0.25; 0.61)	0.35 (0.20; 0.73)	0.40 (0.34; 1.12)	0.42 (0.32; 1.39)	0.34 (0.27; 0.41)
Гіпокамп	1.20 (0.51 1.46)	1.34 (0.92; 1.57)	1.15 (0.86; 1.73)	1.46 (1.23; 2.01)*	1.81 (1.54; 2.24)*	1.92 (1.74; 2.11)*	1.25 (0.72; 1.52)
Таламус	1.10 (0.42; 1.26)	1.23 (0.36; 1.54)	1.37 (0.81; 1.98)	1.57 (1.41; 1.98)*	1.65 (1.50; 2.16)*	1.70 (1.62; 2.27)*	1.14 (0.38; 1.34)
Смугасте тіло	0.85 (0.36; 1.32)	0.90 (0.52; 1.41)	1.02 (0.85; 1.56)	0.98 (0.83; 1.64)	1.10 (0.88; 1.72)	1.14 (0.60; 1.81)	0.92 (0.47; 1.52)
Мозочок	1.25 (0.56; 1.84)	1.37 (0.77; 1.90)	1.72 (1.63; 2.06)	2.04 (1.56; 2.35)*	2.16 (2.05; 2.46)*	2.27 (2.11; 2.62)*	1.34 (0.86; 1.92)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 7.28 – Динаміка площі експресії GS в ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» після CLP відносно групи контролю «CLP-C».

Імуногістохімічне дослідження експресії AQP4. У щурів контрольної підгрупи «CLP-C» через 48 год експерименту найвищі показники експресії AQP4 виявлено в сенсомоторній корі, а найнижчі – у підкірковій білій речовині ВПГМ. При цьому AQP4-імунопозитивний матеріал в усіх досліджених відділах ГМ був асоційований переважно з астрогліальними судинними кінцевими ніжками і в меншій мірі – з нейропільними відростками (рис. 7.29).

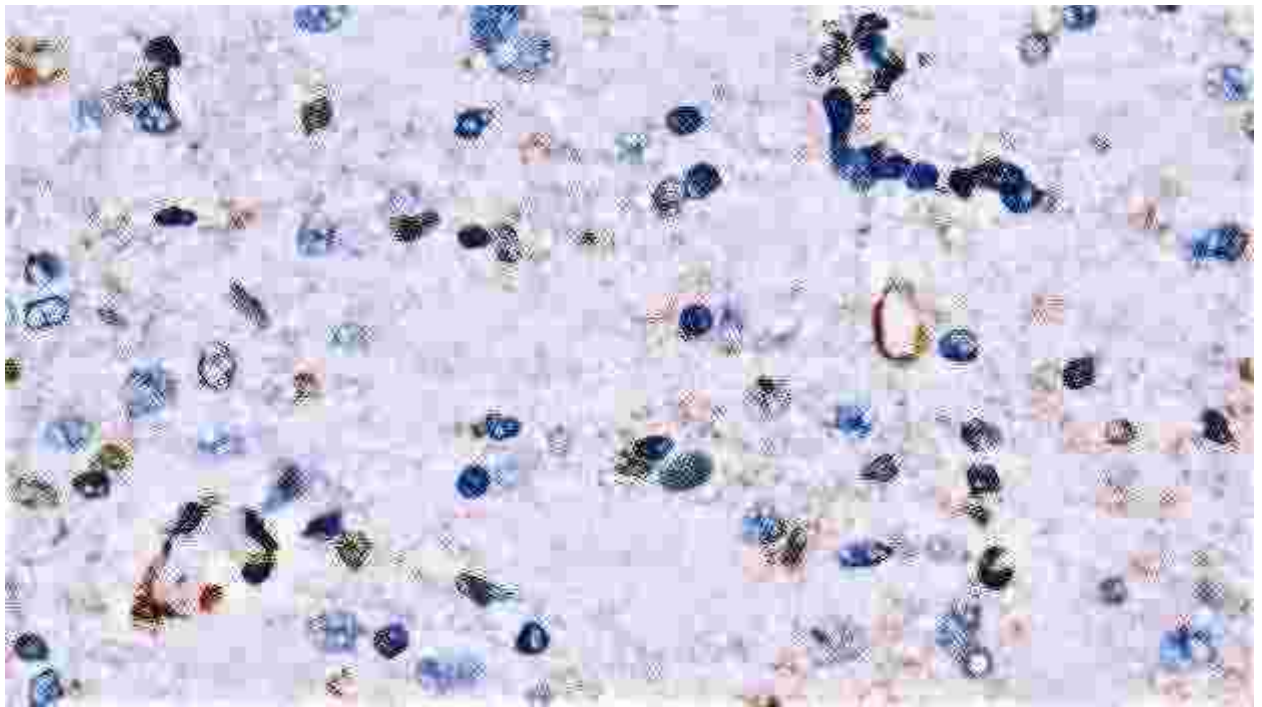


Рисунок 7.29 – Експресія AQP4 в корі ГМ щура контрольної групи «CLP-C», 48 год після фіктивної операції (Rb polyclonal anti-AQP4 Ab). Зб. x400.

ІГХ дослідження виявило, що і в летальній, і в нелетальній підгрупах щурів після CLP-операції відбулося значне збільшення площі експресії AQP4 в ГМ, яка була пов'язана з астрогліальними судинними кінцевими ніжками і з нейропільними відростками астроцитів, та з відростками *glia limitans* в корі ВПГМ, через що нейропіль усіх відділів ГМ набув дрібногранулярну AQP4-імунопозитивність від слабкого до помірного ступеню (рис. 7.30).

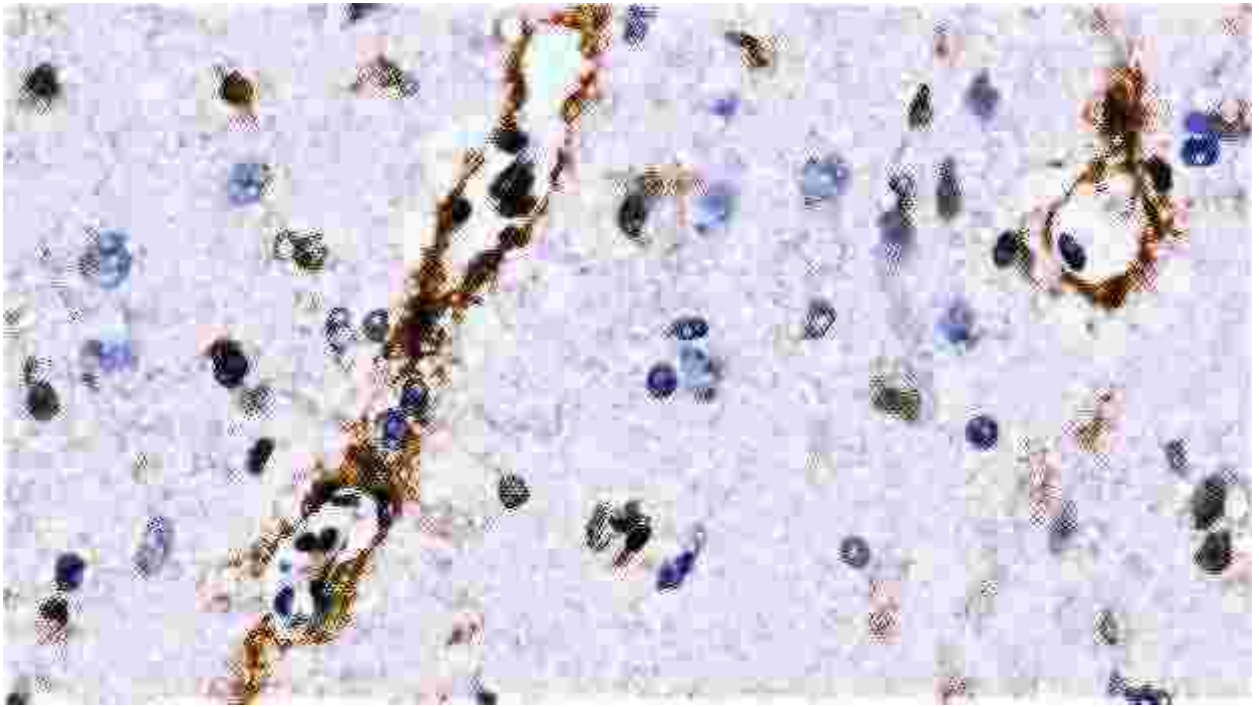


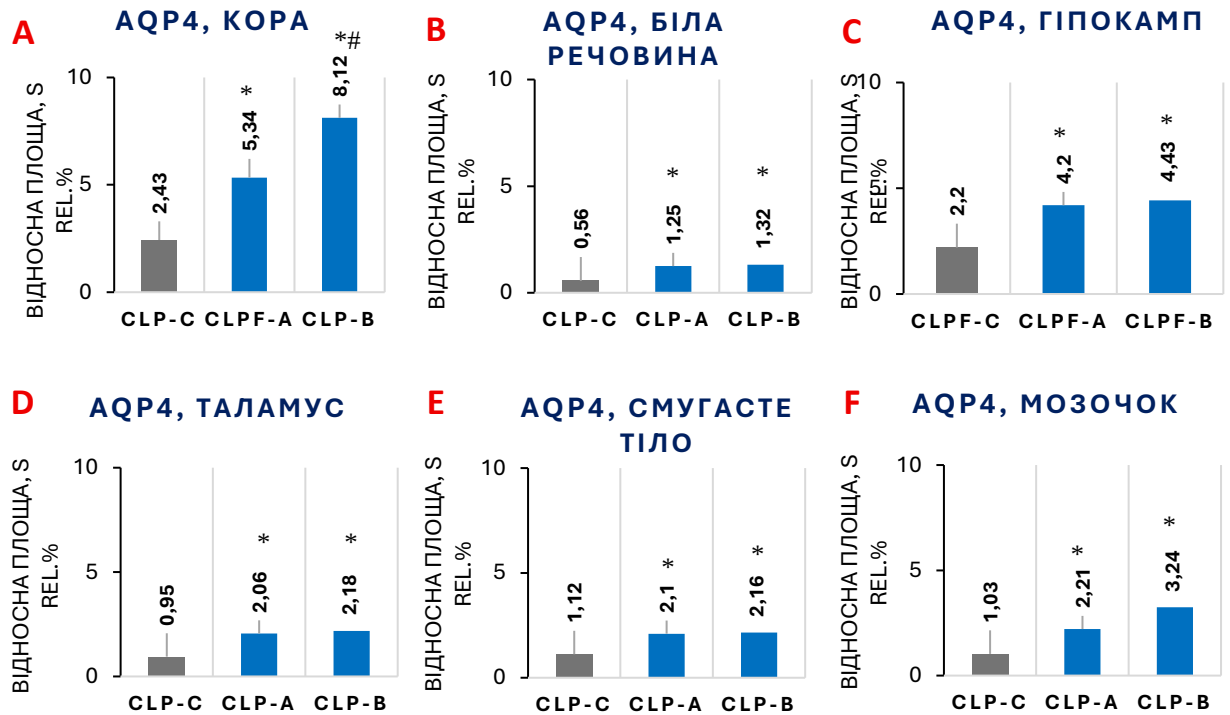
Рисунок 7.30 – Експресія AQP4 в корі ГМ щура летальної підгрупи «CLP-B», 38 год після CLP-операції (Rb polyclonal anti-AQP4 Ab). Зб. x400.

Достовірне зростання площі експресії AQP4 відносно контролю відзначалося в усіх досліджених відділах ГМ (табл. 7.7, рис. 7.31), при цьому, в ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» визначено тенденцію ($p>0.05$) до більш виразного збільшення експресії AQP4 порівняно з показниками ГМ щурів нелетальної підгрупи «CLP-A», а в корі ВПГМ це переважання було статистично достовірним ($p<0.05$). У щурів обох «CLP»-підгруп більш виразне підвищення експресії AQP4 відносно контролю спостерігалось в корі ВПГМ, білій речовині та в мозочку ГМ (табл. 7.7, рис. 7.31).

Таблиця 7.7 – Експресія AQP4 в ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B» і групи контролю «CLP-C» (Srel.%); Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	«CLP-A»	«CLP-B»	«CLP-C»
Кора	5.34 (4.36; 6.25) *	8.12 (6.74; 8.32) *#	2.43 (2.10; 3.67)
Біла речовина	1.25 (1.20; 1.89) *	1.32 (1.25; 2.15) *	0.56 (0.35; 1.12)
Гіпокамп	4.20 (3.15; 4.89) *	4.43 (3.27; 5.15) *	2.20 (2.10; 3.06)
Таламус	2.06 (1.94; 2.54) *	2.18 (2.05; 2.84) *	0.95 (0.63; 1.76)
Смугасте тіло	2.10 (1.90; 2.72) *	2.16 (1.95; 2.93) *	1.12 (0.43; 1.82)
Мозочок	2.21 (1.68; 3.12) *	3.24 (2.35; 3.51) *	1.03 (0.61; 1.43)

Примітка. (*) достовірні відмінності порівняно з контрольною групою; (#) достовірні відмінності з групою «CLP-A» ($p<0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) достовірні відмінності з групою «CLP-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 7.31 – Медіанні значення експресії AQP4 в ГМ щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

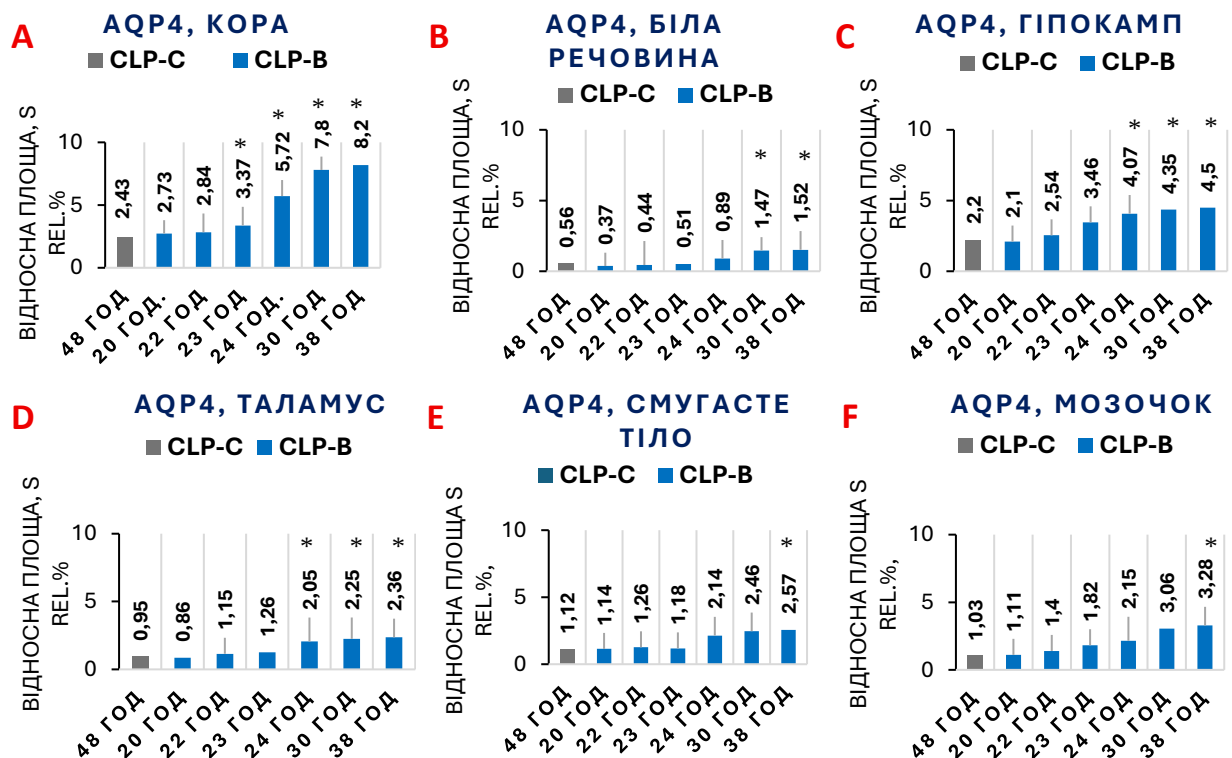
ІГХ експресія AQP4 в ГМ щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп достовірно ($p < 0.05$) перевищувала показники контролю: в корі ВПГМ – на 119.75% і на 234.15%; в білій речовині ВПГМ – на 123.21% і на 135.71%; в гіпокампі – на 90.90% і на 101.36%; в таламусі – на 116.84% і на 129.47%; в смугастому тілі – на 87.50% і на 92.85%; в мозочку – на 114.56% і на 214.56% відповідно (див. табл. 7.7, рис. 7.31).

У щурів летальної підгрупи «CLP-B» протягом післяопераційного періоду в різних відділах ГМ спостерігалася динамічне підвищення експресії AQP4 з максимальними показниками на 38 год експерименту. Найбільш раннє достовірне ($p < 0.05$) підвищення експресії AQP4 відносно контролю зафіксоване в корі ВПГМ щурів (на 23 год), в гіпокампі та в таламусі – на 24 год, в білій речовині ВПГМ – на 30 год, в смугастому тілі та мозочку – на 38 год після операції (табл. 7.8, рис. 7.32).

Таблиця 7.8 – Показники експресії AQP4 (S rel%) в різних відділах ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» в динаміці післяопераційного періоду та в групі контролю «CLP-C»; Me (Q1; Q3)

Відділ мозку	Підгрупа CLP-B						CLP-C
	Час після CLP-процедури						48 год.
	20 год.	22 год.	23 год.	24 год.	30 год.	38 год.	
Кора	2.73 (2.36; 3.85)	2.84 (2.61; 4.11)	3.37 (3.16; 4.05)*	5.72 (4.65; 6.58)*	7.80 (6.55; 8.31)*	8.20 (7.24; 8.45)*	2.43 (2.10; 3.67)
Біла речовина	0.37 (0.20; 0.56)	0.44 (0.36; 0.81)	0.51 (0.47; 0.73)	0.89 (0.62; 0.45)	1.47 (1.22; 2.06)*	1.52 (1.34; 2.24)*	0.56 (0.35; 1.12)
Гіпокамп	2.10 (2.06 3.25)	2.54 (2.15; 3.48)	3.46 (2.55; 3.83)	4.07 (3.27; 4.48)*	4.35 (3.46; 5.11)*	4.50 (3.25; 5.24)*	2.20 (2.10; 3.06)
Таламус	0.86 (0.72; 1.15)	1.15 (0.65; 1.32)	1.26 (0.71; 1.66)	2.05 (1.82; 2.18)*	2.25 (1.93; 2.52)*	2.36 (2.08; 2.83)*	0.95 (0.63; 1.76)
Смугасте тіло	1.14 (0.55; 1.23)	1.26 (0.72; 1.34)	1.18 (0.50; 1.83)	2.14 (1.25; 2.38)	2.46 (1.59; 2.65)	2.57 (2.07; 3.10)*	1.12 (0.43; 1.82)
Мозочок	1.11 (0.34; 1.58)	1.40 (0.65; 1.72)	1.82 (1.38; 2.03)	2.15 (1.24; 2.20)	3.06 (1.30; 3.46)	3.28 (2.30; 3.65)*	1.03 (0.61; 1.43)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 7.32 – Динаміка експресії AQP4 в ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» в післяопераційному періоді відносно групи контролю «CLP-C».

7.2.3 Ультраструктурна і імуногістохімічна характеристика мікроглії головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

Ультраструктурні особливості мікроглії. Електронномікроскопічне дослідження мікроглії кори ГМ щурів контрольної підгрупи «CLP-C» показало, що більша її частина (88.00%) була представлена наглядним (патрульним) морфотипом, і решта 12% – реактивними амебоїдними мікрогліоцитами.

В корі ГМ щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп також переважали наглядні мікрогліоцити, але їх відсоток був нижчим через збільшення відсотку реактивних амебоїдних, появу реактивних гіпертрофічно-подібних мікрогліоцитів та градчастих мікрогліоцитів (табл 7.9; рис. 7.33). Так, в корі ГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B» на 20 год після CLP-операції визначалися амебоїдні мікрогліоцити, кількість яких прогресивно зростала і через 48 год після операції склала 33.33% від усіх мікрогліоцитів підгрупи «CLP-B», порівняно з 38.18% у тварин нелетальної підгрупи «CLP-A» (48 год після операції) і 12% у контрольних щурів (табл. 7.9, рис. 7.33).

Таблиця 7.9 – Абсолютна кількість і відсоток кожного з морфотипів мікроглії в корі ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B» і групи контролю «CLP-C»

Підгрупи	Морфотипи мікроглії				Загальна кількість мікрогліоцитів
	Наглядова	Амебоїдна	Гіпертрофічно-подібна	Градчаста	
CLP-A	32 (58.19%)	21 (38.18%)	2 (3.64%)	0 (0.00%)	55 (100.00%)
CLP-B	23 (51.11%)	15 (33.33%)	5 (11.11%)	2 (4.44%)	45 (100.00%)
CLP-C	22 (88.00%)	3 (12.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	25 (100.00%)
Загальна кількість оцінених мікрогліоцитів в моделі CLP					125 од.

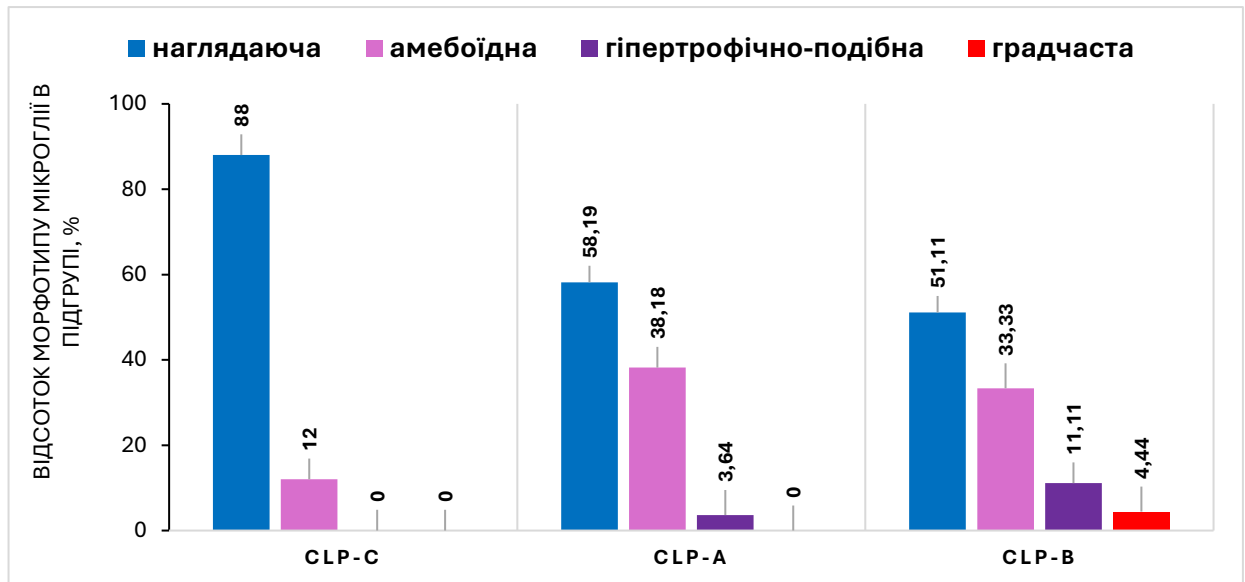


Рисунок 7.33 – Відсоткове співвідношення різних морфотипів мікроглії в корі ГМ щурів підгруп «CLP-A», «CLP-B» і групи «CLP-C».

У щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» (через 48 год), так і щурів летальної підгрупи «CLP-B» (на 23 год) амебоїдні мікрогліоцити часто виявлялися як перинейрональні сателіти в безпосередній близькості до ущільнених нейронів та мали з ними тісні контакти (пунктирні з'єднання з плазмолемою нейрона) (рис. 7.34А, В). Мікрогліальні філоподії були оточені розширеними кишнями навколишньоклітинного простору з дезорганізованими компонентами нейропілю.

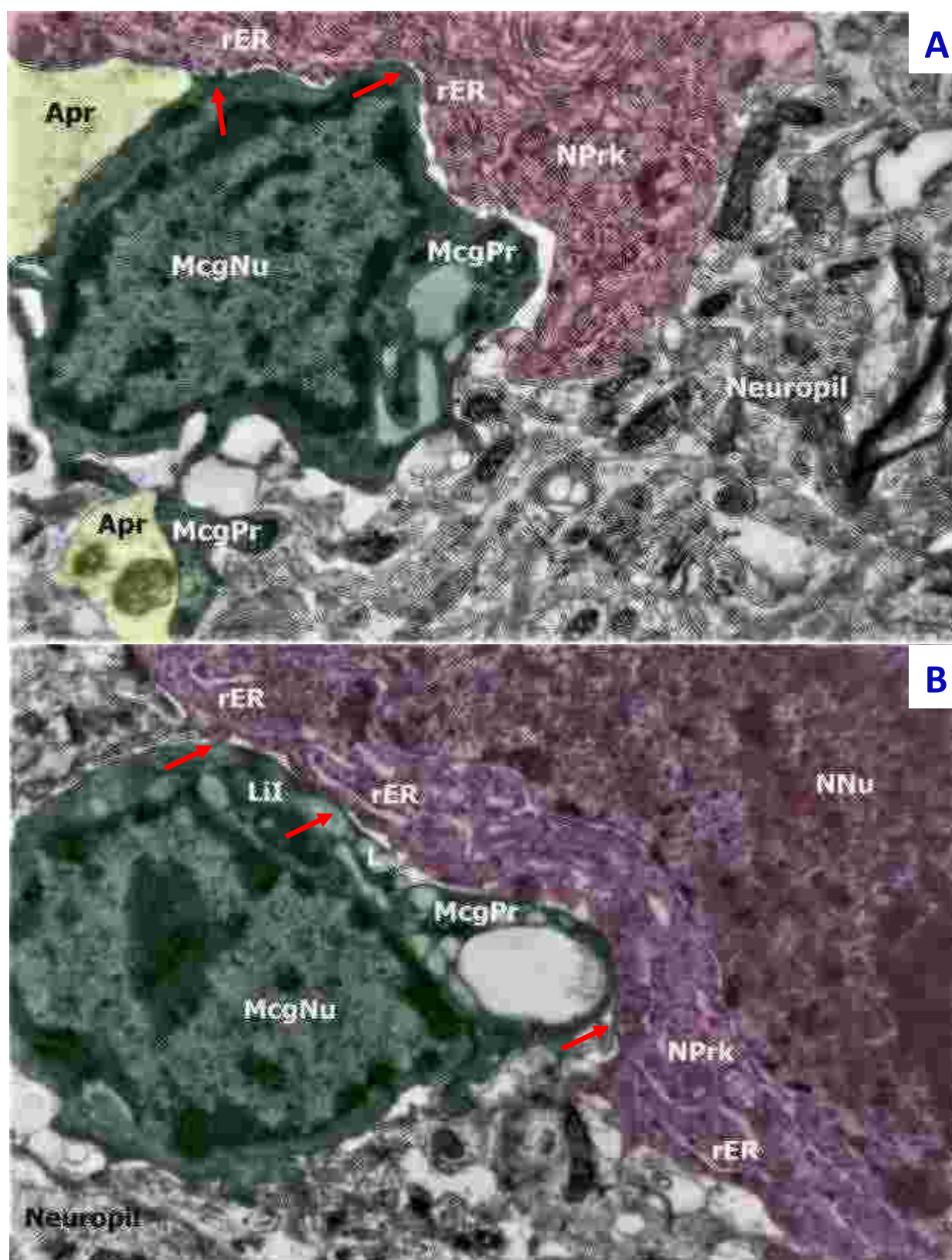


Рисунок 7.34 – Фагоцитуючі амебоїдні мікрогліоцити в контакті з ущільненими нейронами (червоні стрілки) та астроцитарними відростками. Кора ВПГМ щурів підгруп «CLP-A», 48 год після CLP (A); підгрупи «CLP-B», 30 год після CLP (B), ЕМ зб. х 15000.

Як правило, ці прямі контакти встановлювалися між плазмалемами філоподій мікроглії та тіла нейрону. В перикаріоні останнього, в безпосередній близькості до мікрогліально-нейрональних контактів постійно виявлялися контакти гранулярної ЕПР з плазмолемою, поодинокі невеликі електронно-щільні включення та мембрани апарату Гольджі (див. рис. 7.34А, В). Ущільнені нейрони, які контактували з амебоїдною мікроглією, відрізнялися відносно більшою збереженістю органел порівняно з ущільненими нейронами без мікрогліальних супутників. В перикаріоні мікрогліоцитів біля контактів з нейронами мало місце накопичення різноманітних ендосомоподібних структур, а тонкі відростки мікрогліоциту огортали перинейрональні ділянки нейропілю, утворюючи фагосоми (див. рис. 7.34А, В). Однозначна ідентифікація взаємодії окремо локалізованих мікрогліальних відростків з різними структурами нейропілю (включаючи синаптичні комплекси) поза мікрогліальними тілами була ускладнена через відсутність специфічних ультраструктурних ознак мікрогліальних відростків під час оглядової ЕМ. Хоча, тіла мікрогліоцитів, а також їх відростки першого порядку були часто локалізовані поблизу синаптичних апаратів, зробити достовірні висновки про їх активну взаємодію було неможливо, оскільки прямих мембранних контактів мікроглії з синапсами не виявлено.

Через 30-38 год після операції серед реактивної мікроглії кори ВПГМ щурів летальної підгрупи «CLP-B», а також через 48 год у щурів нелетальної підгрупи «CLP-A» ідентифікувалися гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити, які склали 11.11% і 3.64%, відповідно (див. табл. 7.9, див. рис. 7.33). У тварин нелетальної підгрупи «CLP-A», на відміну від щурів летальної підгрупи «CLP-B», гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити мали тісні контакти з базальними мембранами стінок венул і капілярів, позбавленими астроцитарного покриття, а також з астроцитарними периваскулярними ніжками. В таких локаціях в мікрогліоцитах ідентифікувалися субмікроскопічні ознаки фагоцитозу: їх відростки огортали розширені кишені позаклітинного простору з конгломератами тканинного детриту, а їх перикаріони були заповнені

лізосомальними вакуолями та електронно-щільними включеннями. Ядра окремих юкставаскулярних гіпертрофічно-подібних мікрогліоцитів характеризувалися частковим розпадом і гомогенізацією гетерохроматину, вказуючи на дегенеративні процеси в цих клітинах (рис. 7.35).

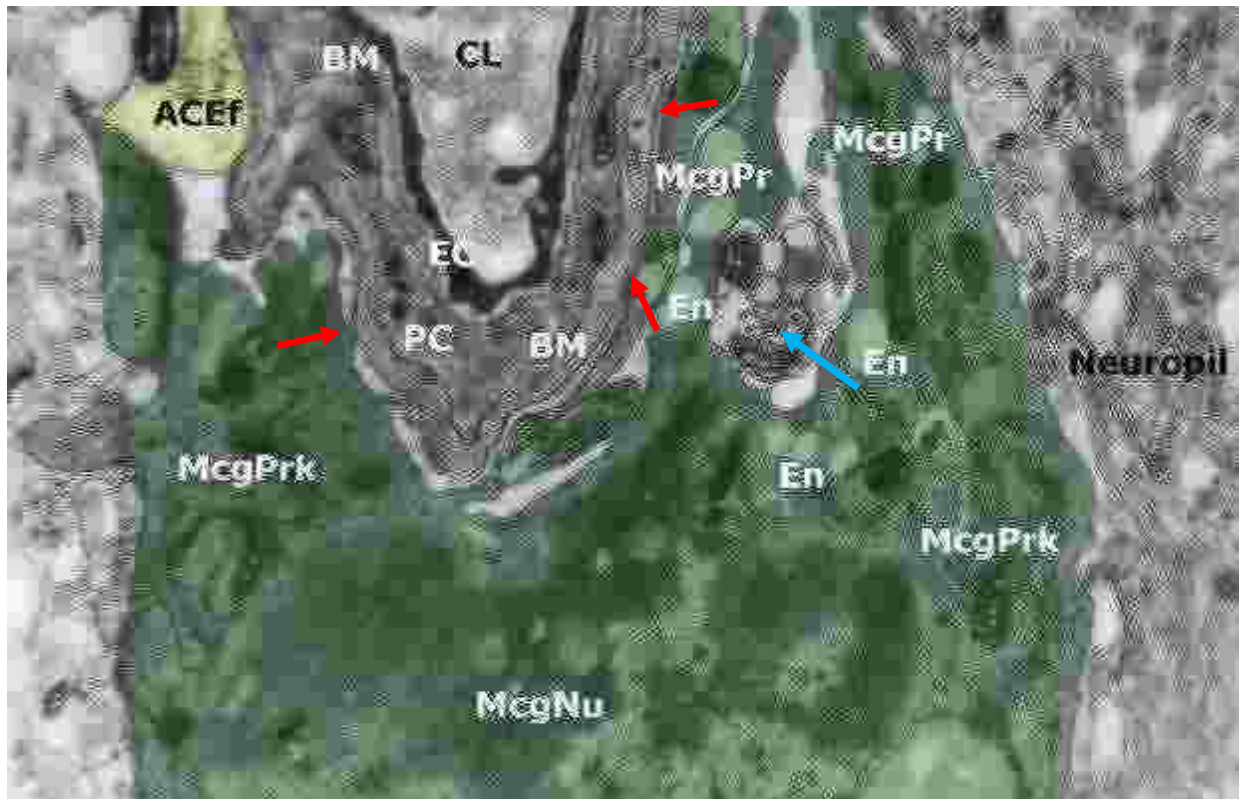


Рисунок 7.35 – Пунктирне прикріплення (червоні стрілки) до судинної базальної мембрани, позбавленої перичитів і астроцитарних ніжок, фагоцитарного гіпертрофічно-подібного мікрогліоциту з накопиченими в перикаріоні ендосомами. Розширені кишені позаклітинного простору містять конгломерат тканинного детриту (блакитна стрілка). Коагуляційні зміни капілярного ендотеліоциту. Кора ВПГМ щура підгрупи «CLP-A», 48 год після операції. ЕМ зб. x 10000.

Подібно до амебоїдних мікрогліоцитів, гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити своїми ламелліподіями часто встановлювали прямі контакти з цитоплазматичними випинаннями нейронів з невиразними набряковими змінами і збереженими органелами. В перикаріоні нейрону поблизу нейронально-мікрогліальних контактів завжди визначалося скупчення мітохондрій, цистерн гранулярного ЕПР і невеликі включення електронно-щільного матеріалу. В свою чергу, перикаріон гіпертрофічно-подібних

мікрогліальних сателітів іноді містив розширені цистерни гранулярної ЕПР і мітохондрії з конденсацією матриксу (рис. 7.36).

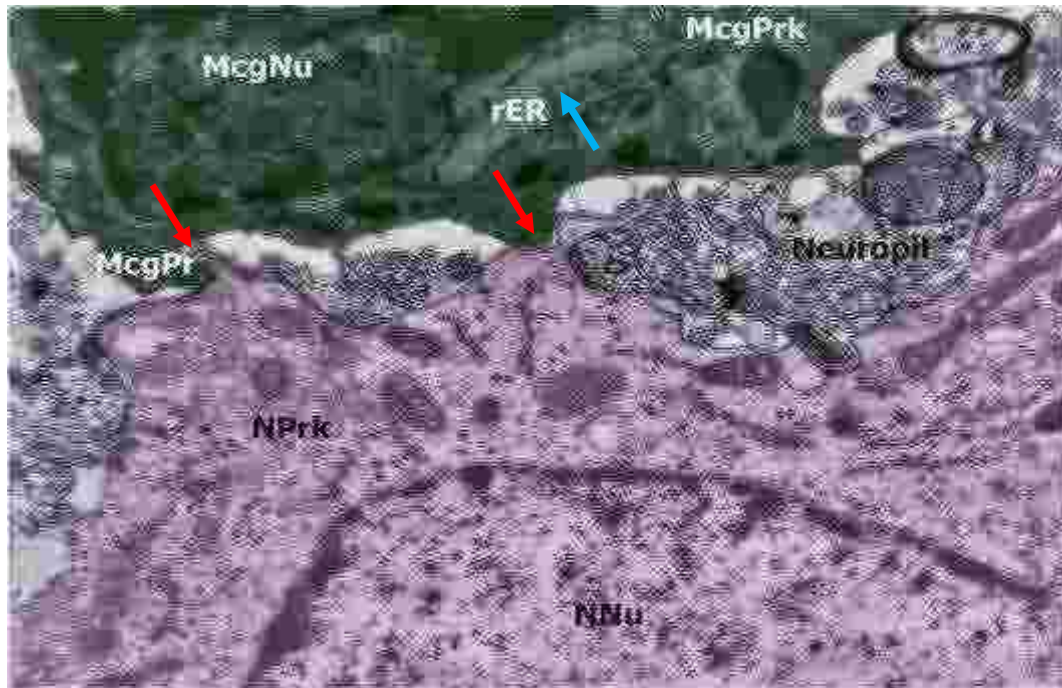


Рисунок 7.36 – Контакт (червоні стрілки) фагоцитарного гіпертрофічно-подібного мікрогліоциту з нейроном, в якому поряд з контактом визначаються скупчення мітохондрій, гранулярного ЕПР, вільних рибосом. У мікрогліоциті – розширення гранулярного ЕПР (блакитна стрілка); наявні розширені кишені позаклітинного простору. Кора ГМ щура підгрупи «CLP-A», 48 год після CLP. ЕМ зб. х 9000.

Плазмалема амебоїдних і гіпертрофічно-подібних мікрогліоцитів не мала контактів з прилеглими структурами нейропілю, навпаки, між ними визначалися локально розширені кишені позаклітинного матриксу, які свідчили про рухливість та міграційну активність мікроглії (див. рис. 7.34А, В; 7.35; 7.36). Виключно у щурів летальної підгрупи «CLP-B» через 38 год після операції на кордоні між корою та білою речовиною ГМ визначалися окремі мікрогліоцити, трансформовані у так звані градчасті клітини («gitter cell», «gitterzellen»), які склали 4.44% від усіх мікрогліоцитів в цій підгрупі (див. табл. 7.9). Градчасті мікрогліоцити були виявлені в набряклому розрідженому нейропілі поблизу частково зруйнованих мієлінізованих аксонів. Ці клітини мали суттєво збільшене клітинне тіло неправильної овоїдної форми і ексцентричне овальне ядро розміром 11-16 x 6-7 мкм. Їх цитоплазма була щільно заповнена лізосомами, фагосомами з фагоцитованим

тканинним детритом, ліpidними краплями, пластинчастими включеннями та залишковими тільцями, містила гранули ліпофусцину (рис. 7.37).

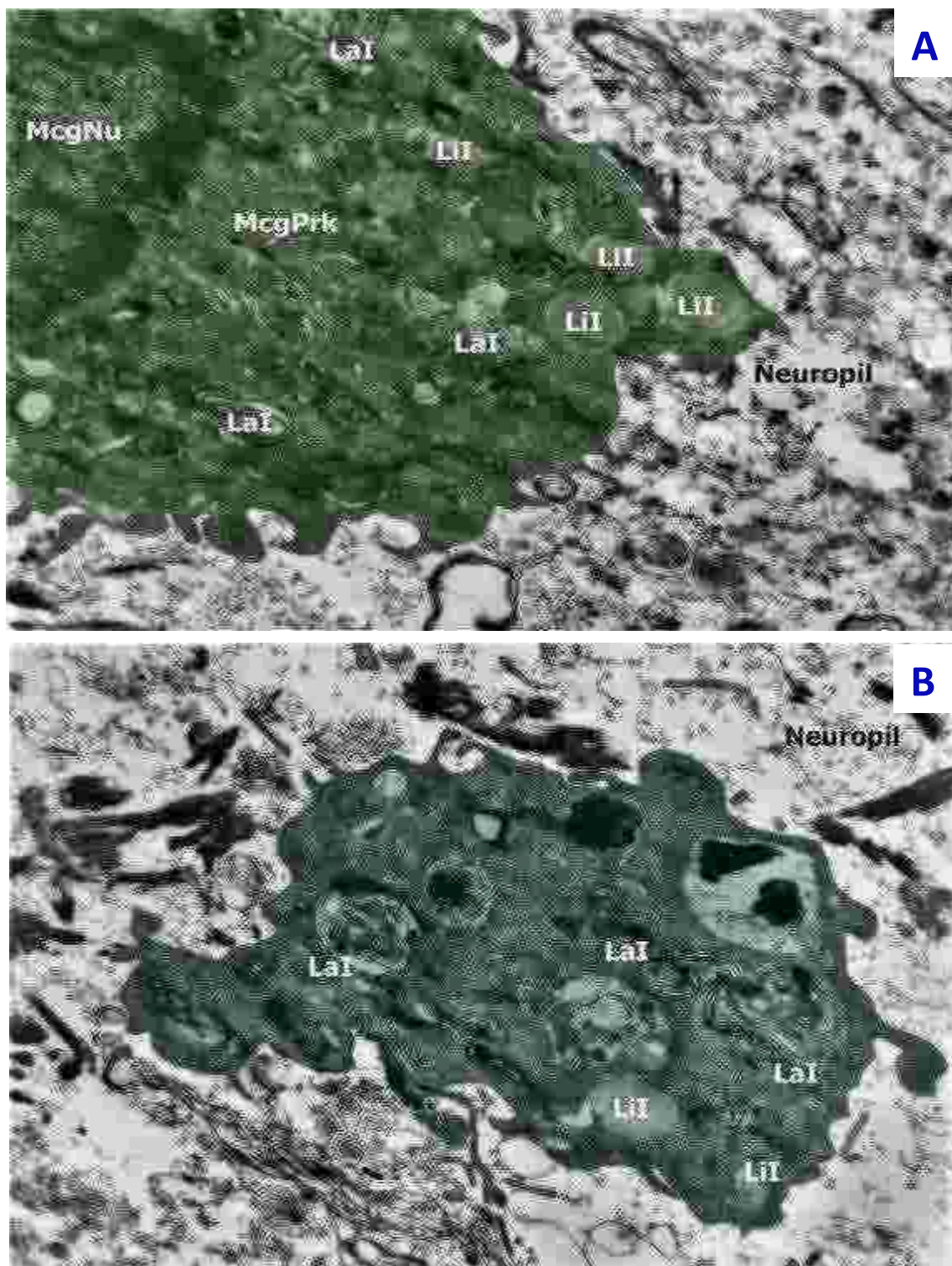


Рисунок 7.37 – **А, В:** Градчасті фагоцитарні мікрогліоцити з накопиченням ліпофусциноподібних ліpidних і складних пластинчастих включень, а також залишкових тілець у цитоплазмі. Численні ламеліподії і філоподії клітин спрямовані до набряклого дезорганізованого нейропілю. Прикордонна зона кори та білої речовини ВПГМ щура підгрупи «CLP-B». 38 год після CLP. ЕМ зб. х 11000.

Градчасті мікрогліюцити представляли найбільший за своїми розмірами реактивний морфотип мікроглії і були співставні тільки з гіпертрофічно-подібними мікрогліюцитами, описаними нами в CLP- і AILF- моделях (рис.7.38).

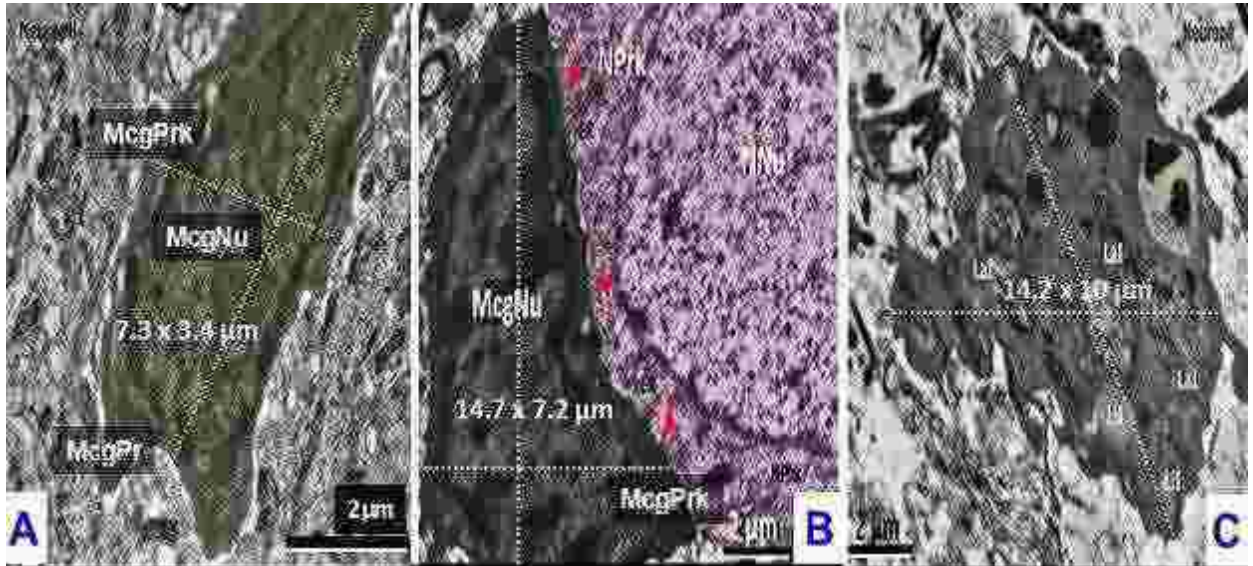


Рисунок 7.38 – Порівняння розмірів неактивного наглядного (А), гіпертрофічно-подібного (В) та градчастого (С) мікрогліюцитів. ЕМ.

Імуногістохімічне дослідження експресії CD68 мікроглією головного мозку щурів з експериментальним абдомінальним сепсисом

У щурів контрольної підгрупи «CLP-C» через 48 год після хибної CLP-операції виявлено низькі показники площі експресії CD68 в різних відділах ГМ з відносно більш високими значеннями в підкірковій білій речовині ВПГМ. ІГХ дослідження ГМ щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп виявило тенденцію до збільшення площі експресії CD68, а також кількості CD68⁺-амебоїдних клітин в усіх досліджуваних відділах ГМ, що було обумовлено збільшенням кількості CD68⁺-мікрогліюцитів і їх імунопозитивних відростків (рис. 7.39, 7.40).

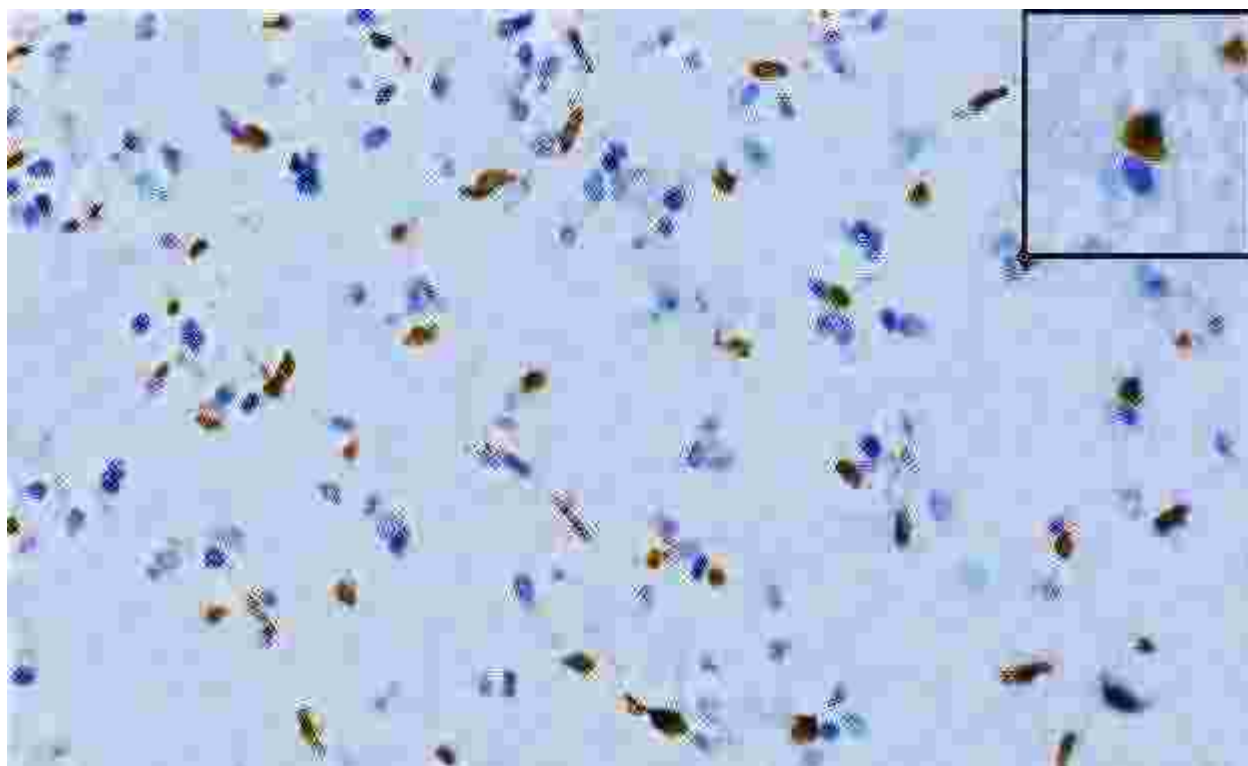


Рисунок 7.39 – Експресія CD68 у корі ГМ померлого щура (група «CLP-B»), 38 год після операції. У вставці – амебоїдна форма. (anti-CD68, Dako, Данія). x200.

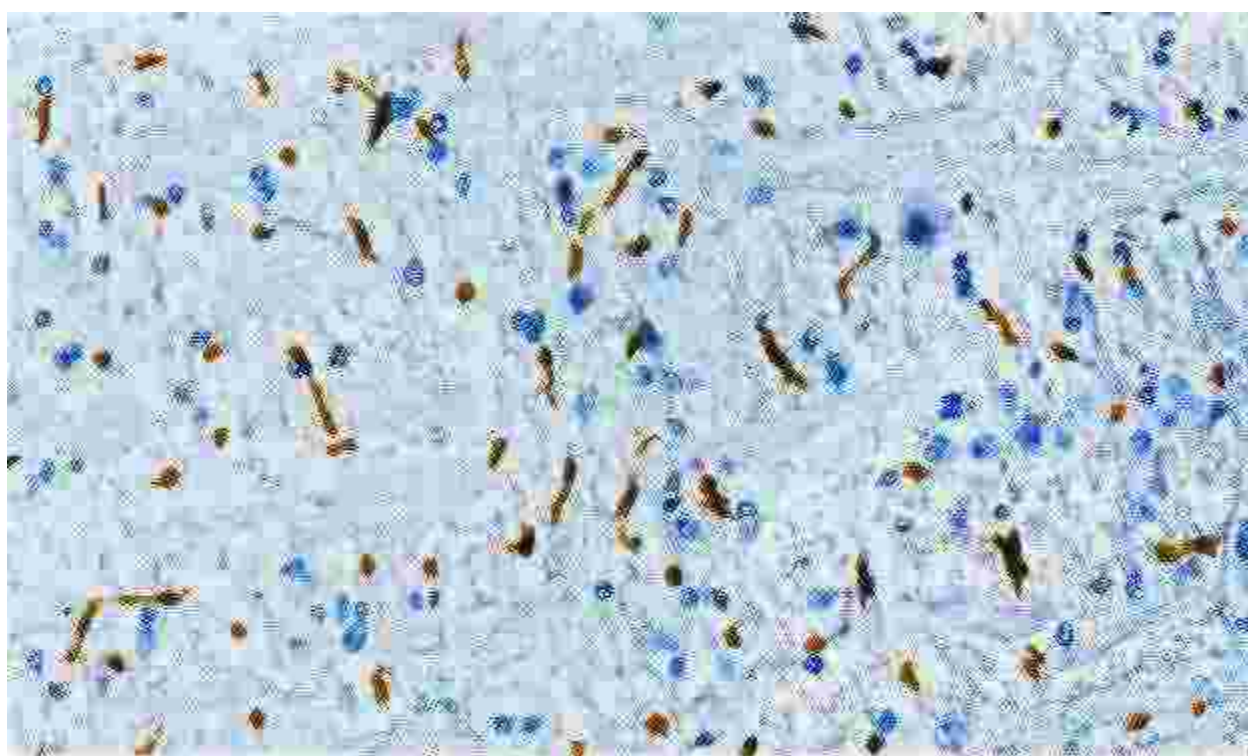


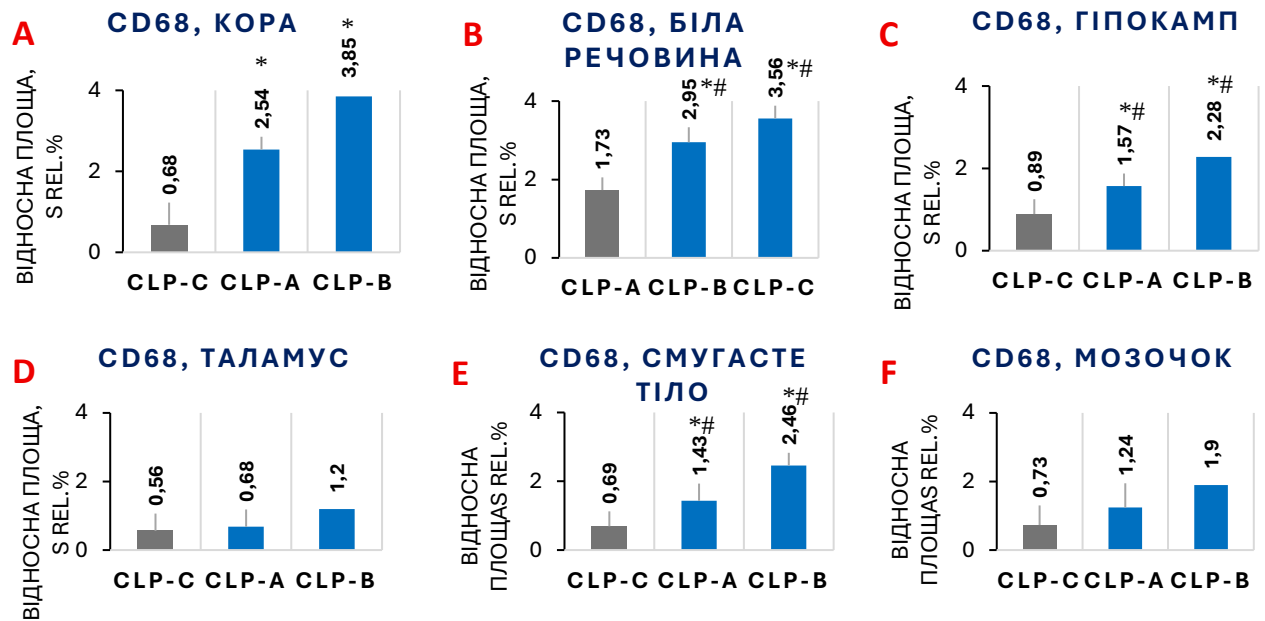
Рисунок 7.40 – Експресія CD68 у смугастому тілі ГМ померлого щура (група «CLP-B»), 38 год після операції (anti-CD68, Dako, Данія). x200.

В ГМ шурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп відзначено збільшення площі експресії CD68, що достовірно ($p < 0.05$) перевищувала контрольні значення: в корі ВПГМ – в 3.73 рази і в 5.66 рази; в білій речовині ВПГМ в 1.7 рази і в 2.05 рази; в гіпокампі – в 1.76 рази і в 2.56 рази; в смугастому тілі – в 2.07 рази і в 3.56 рази, відповідно. Одночасно з цим, в зазначених відділах ГМ шурів підгруп «CLP-A» і «CLP-B» зафіксовано статистично достовірне ($p < 0.05$) підвищення відсотку CD68⁺ амебоїдної мікроглії: в корі ВПГМ – в 1.18 рази і в 1.85 рази; в білій речовині ВПГМ – в 1.25 рази і в 1.77 рази; в гіпокампі – в 1.11 рази і в 1.51 рази; в смугастому тілі – в 1.29 рази і в 1.72 рази, відповідно. У білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ шурів летальної підгрупи «CLP-B» площа експресії CD68 і відсоток амебоїдної мікроглії достовірно ($p < 0.05$) перевищували показники шурів нелетальної підгрупи «CLP-A». В таламусі і мозочку шурів обидвох підгруп відзначалася лише тенденція до збільшення площі експресії CD68 і відсотку CD68⁺ амебоїдної мікроглії (табл. 7.10, рис. 7.41, 7.42).

Таблиця 7.10 – Площа експресії CD68⁺-мікроглії і відсоток CD68⁺-амебоїдної мікроглії в ГМ шурів підгруп «CLP-A», «CLP-B», «CLP-C»; Me (Q1; Q3)

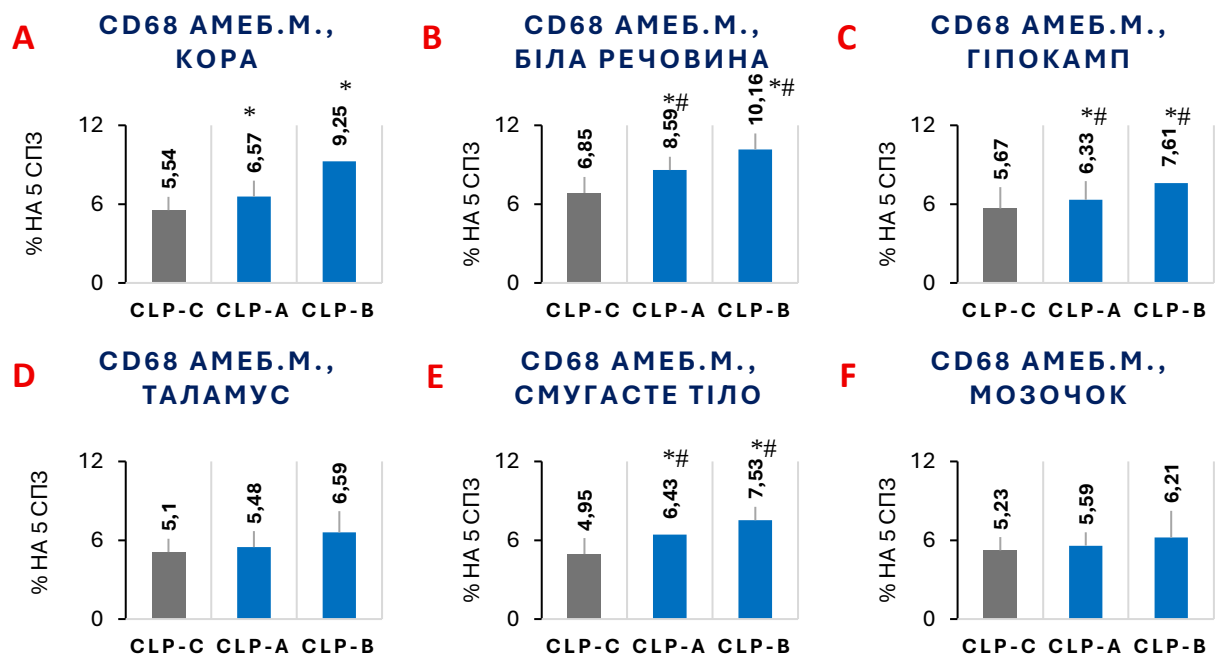
	«CLP-A»		«CLP-B»		«CLP-C»	
	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ	Площа експресії CD68, Srel. %	% амеб. мікроглії / СПЗ
Кора	2.54 (2.14; 3.95)*	6.57 (5.71; 7.30)*	3.85 (2.44; 4.19)*	10.25 (8.53; 10.72)*	0.68 (0.55; 1.74)	5.54 (4.86; 5.62)
Біла речовина	2.95 (2.20; 3.12)*	8.59 (8.12; 9.23)*	3.56 (3.43; 4.08)*#	12.16 (10.30; 12.55)*#	1.73 (1.24; 2.07)	6.85 (5.23; 7.11)
Гіпокамп	1.57 (1.35; 1.82)*	6.33 (6.18; 7.20)*	2.28 (2.10; 3.86)*#	8.61 (7.45; 9.68)*#	0.89 (0.56; 1.25)	5.67 (5.10; 5.99)
Таламус	0.68 (0.50; 1.12)	5.48 (4.27; 5.63)	1.20 (0.72; 2.25)	6.59 (6.05; 6.71)	0.56 (0.41; 1.16)	5.10 (4.06; 5.14)
Смугасте тіло	1.43 (1.19; 2.27)*	6.43 (6.16; 6.71)*	2.46 (2.38; 2.84)*#	8.53 (7.10; 8.90)*#	0.69 (0.58; 0.80)	4.95 (4.67; 5.52)
Мозочок	1.24 (0.82; 1.39)	5.59 (4.56; 5.70)	1.90 (1.18; 2.25)	6.21 (4.30; 7.72)	0.73 (0.62; 1.26)	5.23 (4.48; 5.45)

Примітка. (*) - достовірна різниця порівняно з контролем; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «CLP-A» ($p < 0.05$)



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «CLP-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 7.41 – Медіанні значення площі експресії CD68 в ГМ щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з показниками контрольної групи; (#) - достовірна різниця порівняно з підгрупою «CLP-A» ($p < 0.05$).

Рисунок 7.42 – Медіанні значення відсотку CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ щурів групи контролю «CLP-C» та підгруп «CLP-A» і «CLP-B».

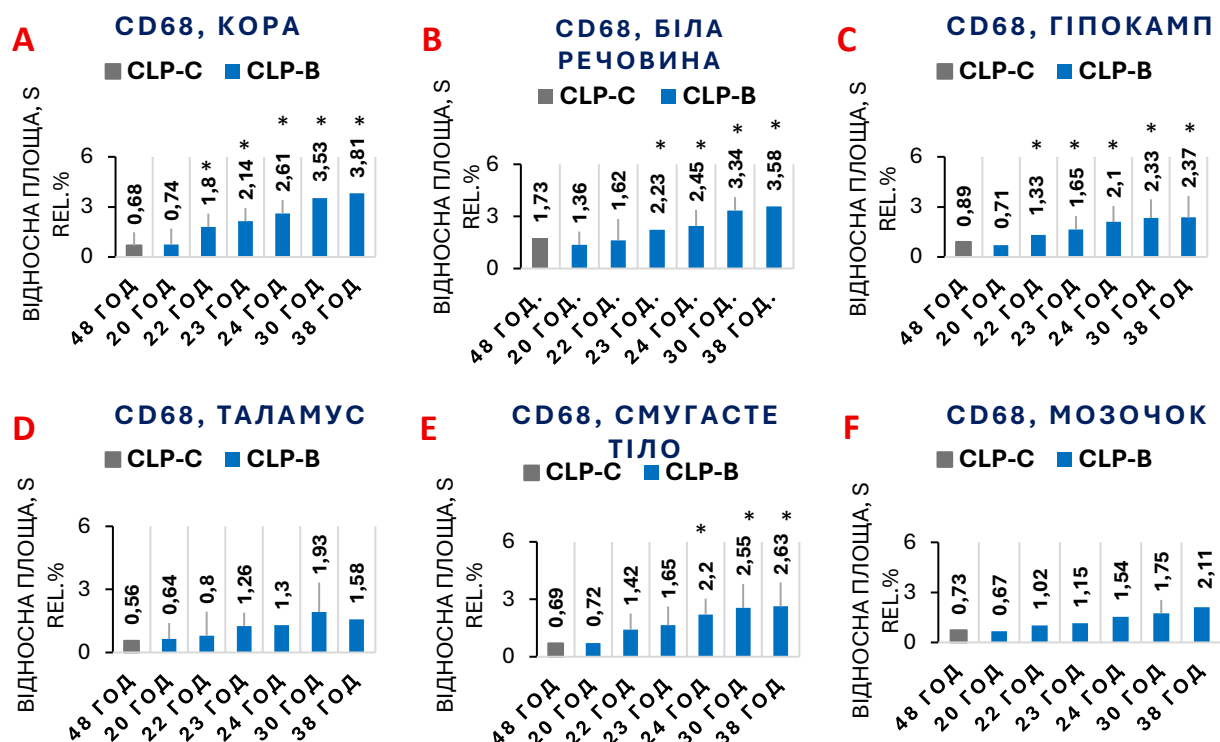
В динаміці післяопераційного періоду у щурів летальної підгрупи площа експресії CD68 і частка амебоїдних форм зросли: в корі ВПГМ і гіпокампі (амебоїдні форми - на 20 год, площа експресії - на 22 год); обидва показника

зросли: в білій речовині ВПГМ (з 23 год), в смугастому тілі (з 24 год) і досягли максимуму на 38 год; $p < 0.05$ (табл. 7.11, рис. 7.43, 7.44).

Таблиця 7.11 – Динаміка площі експресії CD68 і відсотку CD68⁺-амебоїдної мікроглії в ГМ щурів підгрупи «CLP-B» та групі контролю «CLP-C»

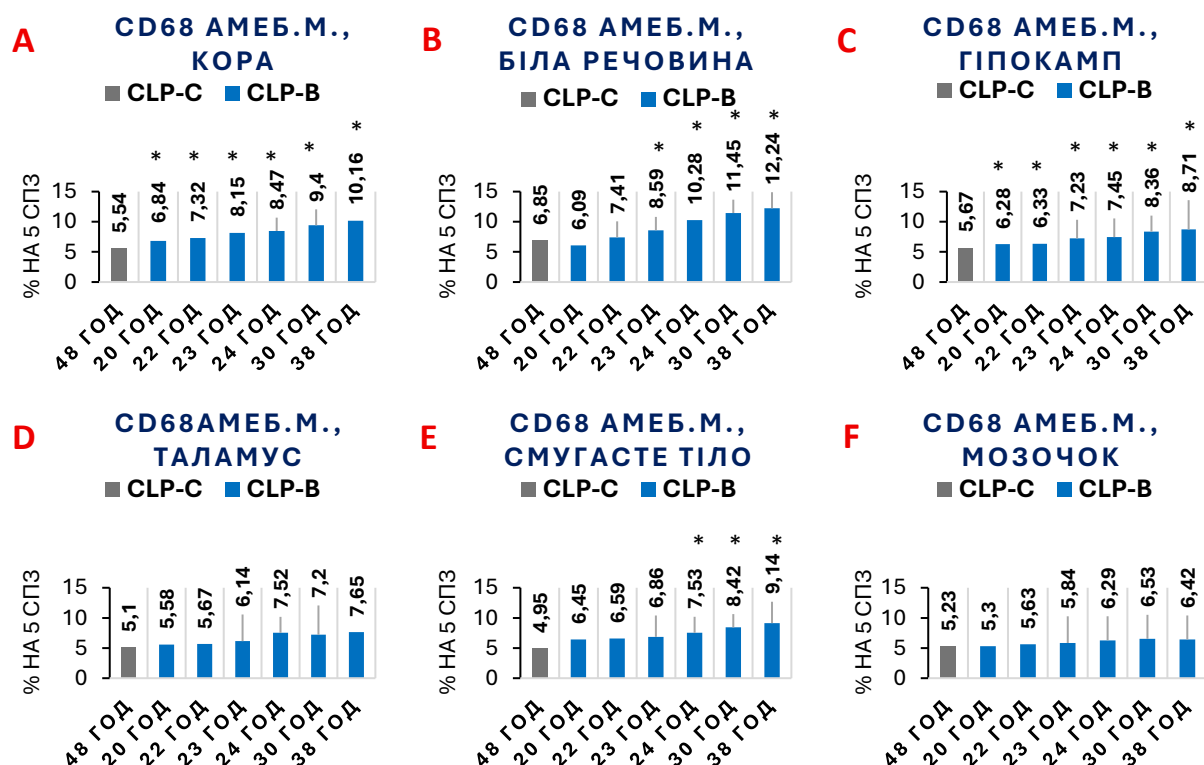
CLP-B							CLP-C
Час після CLP-операції							
	20 год.	22 год.	23 год.	24 год.	30 год.	38 год.	48 год.
Кора							
Srel. %	0.74 (0.40; 1.42)	1.80 (1.76; 2.01)*	2.14 (1.84; 2.58)*	2.61 (2.23; 3.42)*	3.53 (2.57; 4.25)*	3.81 (2.37; 4.26) *	0.68 (0.55; 1.74)
% амеб	6.84 (6.56; 7.25)*	7.32 (6.86; 7.57)*	8.15 (7.34; 9.43)*	8.47 (8.06; 10.62)*	9.40 (8.12; 10.56)*	10.16 (9.11; 10.63) *	5.54 (4.86; 5.62)
Біла речовина							
Srel. %	1.36 (1.05; 1.51)	1.62 (1.10; 1.72)	2.23 (2.17; 2.41)*	2.45 (2.12; 3.51)*	3.34 (3.11; 4.15)*	3.58 (3.24; 4.26) *	1.73 (1.24; 2.07)
% амеб	6.09 (4.23; 7.12)	7.41 (4.30; 7.83)	8.59 (7.31; 10.37)*	10.28 (9.11; 11.25)*	11.45 (10.46; 12.70)*	12.24 (10.52; 12.63) *	6.85 (5.23; 7.11)
Гіпокамп							
Srel. %	0.71 (0.45; 1.23)	1.33 (1.28; 1.45)*	1.65 (1.34; 1.63)*	2.10 (1.45; 2.82)*	2.33 (2.20; 3.65)*	2.37 (2.18; 3.92) *	0.89 (0.56; 1.25)
% амеб	6.28 (6.10; 7.34)*	6.33 (6.00; 8.27)*	7.23 (7.11; 8.63)*	7.45 (6.38; 9.16)*	8.36 (7.25; 9.45)*	8.71 (7.54; 10.34) *	5.67 (5.10; 5.99)
Таламус							
Srel. %	0.64 (0.57; 1.12)	0.80 (0.55; 1.34)	1.26 (0.73; 1.57)	1.30 (0.84; 1.76)	1.93 (1.10; 2.16)	1.58 (1.05; 2.32)	0.56 (0.41; 1.16)
% амеб	5.58 (4.04; 5.92)	5.67 (4.10; 6.03)	6.14 (4.86; 7.23)	7.52 (5.05; 8.12)	7.20 (5.09; 8.31)	7.65 (5.11; 8.50)	5.10 (4.06; 5.14)
Смугасте тіло							
Srel. %	0.72 (0.60; 1.23)	1.42 (0.71; 1.18)	1.65 (0.68; 2.51)	2.20 (1.56; 2.81)*	2.55 (2.17; 2.64)*	2.63 (2.45; 2.80)*	0.69 (0.58; 0.80)
% амеб	6.45 (5.51; 6.89)	6.59 (5.11; 7.25)	6.86 (5.14; 7.61)	7.53 (6.72; 8.10)*	8.42 (7.23; 8.84)*	9.14 (8.65; 9.77) *	4.95 (4.67; 5.52)
Мозочок							
Srel. %	0.67 (0.50; 1.27)	1.02 (0.58; 1.43)	1.15 (0.37; 1.71)	1.54 (0.86; 1.92)	1.75 (1.20; 2.45)	2.11 (1.15; 2.36)	0.73 (0.62; 1.26)
% амеб	5.30 (4.66; 5.95)	5.63 (5.12; 6.06)	5.84 (5.07; 6.51)	6.29 (5.15; 7.44)	6.53 (5.27; 7.36)	6.42 (5.30; 8.14)	5.23 (4.48; 5.45)

Примітка. (*) - достовірні відмінності відносно групи контролю ($p < 0.05$).



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 7.43 – Динаміка площі експресії CD68 в ГМ щурів летальної підгрупи в післяопераційному періоді відносно групи контролю.



Примітка. (*) - достовірні відмінності порівняно з групою контролю ($p < 0.05$).

Рисунок 7.44 – Динаміка відсотку CD68-амебоїдних мікрогліоцитів в ГМ щурів летальної підгрупи в післяопераційному періоді відносно групи контролю.

Резюме

За результатами ПГ досліджень у щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп при експериментальному абдомінальному сепсисі в печінці спостерігається вогнищевий лізис цитоплазми гепатоцитів, некроз окремих гепатоцитів та дрібновогнищева слабка інфільтрація лейкоцитами печінкових часточок. Каловий перитоніт мікроскопічно проявляється вогнищевою лейкоцитарною інфільтрацією очеревини біля залишків калових мас, переважно в складках кишки.

В ГМ щурів протягом перших 48 год після операції відсутні вогнища гнійного запалення. ЕМ і ІГХ дослідження довели розвиток реактивних змін і ремоделювання астроглії та мікроглії з помірними деструктивними змінами в нейронах і перинейрональним гліальним сателітозом.

В МЦР кори ГМ - ознаки оборотної зупинки кровотоку: конденсація плазми, складжування еритроцитів, сегментарна паретична дилатація капілярних просвітів. Ультраструктурно відзначається ущільнення та апоптоз окремих ендотеліоцитів і перицитів, розширення базальних мембран капілярів, при ЕМ навколо мікросудин виявляються розширені через набряк астроцитарні кінцеві ніжки. Площа ПВп і ПЦп в усіх 6 досліджених відділах ГМ щурів летальної підгрупи значно перевищує показники контролю переважно за рахунок площі периваскулярних астроцитарних відростків. У щурів нелетальної підгрупи достовірне розширення ПВп і ПЦп виявляється лише в корі, білій речовині та мозочку - відділах, що є одними з найбільш чутливих до токсичних факторів системного запалення.

Ультраструктурно в корі ВПГМ визначається суттєва частка нейронів з електронно-щільною цитоплазмою, помірним каріопікнозом, з набряклими або ущільненими мітохондріями, з розширенням цистерн ЕПР та помірним перинейрональним нейрогліальним сателітозом. Також визначаються групи нейронів з незначним набряком цитоплазми і помірним набуханням просвітлених ядер та поодинокі гіперхромні нейрони з нормальними ядрами. У щурів летальної підгрупи патологічно змінені нейрони більш

розповсюджені, а у окремих тварин на кордоні нижніх шарів кори ВПГМ і білої речовини визначаються нечисленні дрібні вогнища енцефалолілізу.

Ультраструктурні зміни астроцитів ГМ щурів летальної підгрупи починаються вже на 20 год після операції з набрякового розширення астроцитарних периваскулярних ніжок і меншій мірі – перинейрональних відростків. В ГМ щурів летальної підгрупи спостерігаються більш виразні ознаки гіпергідратації і вакуолізації гіалоплазми, вогнищевого розпаду астроцитарних органел в глибоких шарах кори ВПГМ. В кортикальних астроцитах тварин нелетальної підгрупи відбувається помірний набряк гіалоплазми з розширенням цитокавітальної мережі та відносною збереженістю клітинних органел, а також з збільшенням до 4.5 разів кількості MBT з перерозподілом їх в астроцитарні капілярні ніжки, що є типовою ознакою астроглії тварин нелетальної підгрупи. В астроцитах кори ГМ щурів летальної підгрупи визначається менш виразне накопичення MBT.

На 30 год після операції в корі ВПГМ, таламусі, таламусі, смугастому тілі та мозочку щурів летальної підгрупи відзначається підвищення кількості A2-астроцитів, кількість яких досягає максимуму на 38 год експерименту.

У корі, гіпокампі, таламусі та мозочку щурів обидвох CLP-підгруп збільшується експресія GS в цитоплазмі і відростках астроцитів (з 24 год в летальній підгрупі) та в усіх досліджених відділах ГМ – експресія AQP4 в астрогліальних судинних ніжках, нейропільних відростках і відростках термінальної астроглії (з 23 год в летальній підгрупі). Експресія AQP4 та GS має тенденцію ($p > 0.05$) до більших значень у щурів летальної підгрупи порівняно з нелетальною. Гіперекспресія GS може вказувати на зростання конвертації аміаку у відділах ГМ, найбільш вразливих перед гіперамоніємією, яка може мати місце при септичних станах. Гіперекспресія AQP4 вказує на активну участь аквапоринового механізму у патогенезі сепсис-асоційованого набряку ГМ. Між тим, в усіх досліджених відділах (окрім таламусу) ГМ щурів обох CLP-підгруп значно підвищується експресія GFAP (з 20 год в летальній підгрупі). Збільшення кількості та розмірів GFAP⁺ астроцитів, а також їх

нейропільних відростків з перекриттям сусідніх астроцитарних доменів вказує на реактивний анізоморфний астрогліоз, особливо виразний навколо вогнищ енцефалолізису. Тенденцію ($p > 0.05$) до перевищення, а в корі і гіпокампі – достовірно більш виразну гіперекспресію GFAP в нелетальній підгрупі, порівняно з летальною, можна пояснити можливістю наявної гіперамоніємії у щурів летальної підгрупи, в яких сепсис-асоційовані морфологічні зміни в печінці були більш виразними. Достовірно більш виразний астрогліоз в корі і гіпокампі щурів характеризує ці відділи ГМ як більш вразливі щодо впливу факторів системного запалення.

Значне реактивне ремоделювання мікроглії характеризується поступовим підвищенням експресії CD68 в корі, білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ щурів обидвох підгруп (з 22 год та з більш високими показниками в летальній підгрупі). ЕМ дослідження кори ВПГМ виявило 3 реактивних морфотипи CLP-мікроглії з ознаками фагоцитарної активності: амебоїдний (більш розповсюджений), гіпертрофічно-подібний та градчастий. ІГХ дослідження підтвердило зростання відсотку CD68⁺ амебоїдних форм в корі та гіпокампі щурів летальної підгрупи вже з 20 год після операції. Найбільш частим видом міжклітинної взаємодії є тісні контакти амебоїдної мікроглії з ущільненими нейронами, що відрізняються більшою збереженістю органел порівняно з ущільненими нейронами без мікрогліальних супутників. Гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити, навантажені фагоцитованим матеріалом, помічені в тісному контакті з ГЕБ та профілями нейронів. Градчасті мікрогліоцити спостерігаються в набряклому нейропілі поблизу частково зруйнованих мієлінізованих аксонів; їх цитоплазма заповнена лізосомами, фагосомами з фагоцитованим тканинним детритом, ліпідними краплями, пластинчастими включеннями та залишковими тільцями, містить гранули ліпофусцину, що вказує на їх активну фагоцитарну активність поблизу дрібних фокусів енцефалолізису.

Результати даного розділу було опубліковано в наступних роботах [144, 149, 150, 151, 157, 162, 163, 164, 170-181].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати проведених клініко-експериментальних досліджень довели, що тривале підвищення рівня сироваткового аміаку при цирозі печінки, а також токсинемія і поліорганна недостатність при абдомінальному сепсисі призводять до суттєвих пристосувально-адаптивних і деструктивних змін компонентів гліонейроваскулярного комплексу, що клінічно маніфестують у вигляді печінкової енцефалопатії і сепсис-асоційованої енцефалопатії.

Великою кількістю експериментальних і клінічних досліджень доведено, що головним тригером розвитку печінкової енцефалопатії виступає аміак – ключовий нейротоксин при печінковій недостатності. У фізіологічних умовах в крові циркулює газоподібний NH_3 аміак і іонізований NH_4^+ амоній у співвідношенні 1:100, тобто циркулює в 100 раз більше гідрофільного амонію, ніж газоподібного аміаку. Через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) в головний мозок шляхом пасивної дифузії проникає незначний потік газоподібного NH_3 та трансцелюлярним шляхом (через калієві канали, транспортери Na/K -АТФаза, Na/H -антипорти, Na-K-Cl -котранспортери) проникає мінімальна кількість іонізованого NH_4^+ [169]. При печінковій недостатності, коли печінка втрачає здатність утилізувати аміак в циклі сечовини, в крові збільшується доля газоподібного NH_3 аміаку і розвивається гіперамоніємія: через ГЕБ посилюється дифузія газоподібного NH_3 аміаку та трансцелюлярний транспорт NH_4^+ через калієві транспортери, що сумарно призводить до підвищення концентрації аміаку та накопиченню глютаміну в мозковій тканині [25].

Нами вперше на секційному матеріалі гістохімічною методикою V. Gutiérrez-de-Juan et al. [118]) з реактивом Несслера морфологічно продемонстровано, що вже при ПЕ G0 на стадії компенсованого цирозу в таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі ВПГМ померлих хворих відбувається зростання рівня тканинного аміаку до слабкої експресії (відносно

показників померлих осіб групи контролю; за підвищенням оптичної щільності амонійних преципітатів). Макроанатомічно головний мозок померлих хворих з ПЕ G0 не мав специфічних змін. Між тим, гістологічні та ІГХ дослідження дозволили встановити, що навіть незначне підвищення рівня тканинного аміаку було асоційоване з початковими ознаками ремоделювання та змінами морфо-функціонального стану клітин ГНБК у досліджених відділах ГМ, що могло створювати морфологічний субстрат для прихованої ПЕ і закладати фундамент для прогресування ПЕ у більш важкі, «явні форми».

При прогресуванні ПЕ у померлих хворих на цироз печінки визначався макроскопічно помірний набряк ГМ, при якому найсуттєвіших змін зазнали астроцити - найбільш численна популяція гліальних клітин в ГМ, що відіграє центральну роль у забезпеченні мозкового гомеостазу [170]. Результати імуногістохімічних досліджень виявили розвиток значної аміак-обумовленої дисфункції астроцитів, яка проявлялася гіперекспресією GS, AQP4 та гіпоекспресією GFAP в астроцитах

Астроцити є ключовими клітинами ГМ, відповідальними за детоксикацію аміаку, адже вони представляють головне джерело глютамінсинтетази – ензиму, що каталізує конвертацію надлишків глютамату із синаптичних щілин і аміаку в глютамін, чим попереджають аміачне та ексайтотоксичне пошкодження нейронів і одночасно постачають їм субстрат глютамін для відновлення нейронального глютамату – так званий глютаMAT-глютамініний човник [171].

Вже при ПЕ G0 на стадії компенсованого ЦП в корі та білій речовині ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі та мозочку померлих хворих нами визначено достовірне збільшення площі експресії GS: найменш виразне – в білій речовині ВПГМ, максимальне – в корі ВПГМ, що вказувало як на регіон-залежну гетерогенність розповсюдження цього ферменту в астроцитарних популяціях ГМ, так і на різний ступінь зростання потреби в синтезі GS для конвертації аміаку і/або глютамату в різних відділах ГМ. Останнє, в свою чергу, може бути пов'язане з відмінними особливостями бар'єрних функцій

ГЕБ, лікворо-гематичного, лікворо-енцефалічного бар'єрів щодо надходження аміаку в різних відділах ГМ, а також з гетерогенною реактивністю місцевих астрогліальних популяцій. Прогресування ПЕ до легкої G1-2 і важкої G3-4 форм на тлі субкомпенсації і декомпенсації ЦП супроводжувалося динамічним збільшенням кількості GS⁺ в астроцитах і їх відростках з достовірним зростанням площі експресії GS відносно попередніх стадій захворювання, досягаючи максимальних значень при ПЕ G3-4 в корі ВПГМ і таламусі та менш виразних - в смугастому тілі, гіпокампі та мозочку померлих хворих.

В нашому дослідженні показано, що в ГМ померлих осіб групи контролю, а також контрольних щурів експресія GS в основному реєструвалася в периваскулярних астроцитарних кінцевих ніжках термінальної астроглії і рідше – в нейропільних відростках та тілах астроцитів протоплазматичного типу. Астроцитарні периваскулярні кінцеві ніжки представляють перший і найбільш протяжний бар'єр із компонентів клітин власне мозкової тканини на шляху усіх токсичних агентів системного походження, в тому числі аміаку.

Ще в 80-ті роки минулого століття Norenberg M.D. запропонував розглядати астроцитарну дисфункцію ініціувальним фактором патобіохімії ПЕ, а такий стан астроглії він відніс до поняття «первинної астрогліопатії», підкреслюючи первинність ураження астроглії у патогенезі енцефалопатії. Функціонально недієздатні астроцити викликають критичні порушення багатьох фундаментальних процесів, включаючи синаптичну передачу та синаптопластичність, нейромедіаторний і водний гомеостаз, мікроциркуляцію, проникність ГЕБ тощо [170].

В AILF-моделі гострої печінкової недостатності нами було показано підвищення експресії астроцитарної GS з 16 год у щурів летальної підгрупи і максимальними показниками на 24 год після ін'єкції парацетамолу з тенденцію до більших значень у щурів летальної підгрупи порівняно з нелетальною і достовірним перевищенням в корі ГМ «летальних» щурів, що може вказувати на істотно більш активне залучення механізмів детоксикації

аміаку або регулювання глутаматної нейротрансмісії в корі ВПГМ при важкому перебігу захворювання.

Вважається, що саме первинна астроцитарна дисфункція і цитотоксичний набряк астроцитів при ПЕ на тлі ГПечН є головною причиною генералізованого набряку ГМ і неконтрольованої ВЧГ. Доведено, що у тварин і хворих з ГПечН і ХпечН в ГМ визначаються порушення експресії ключових гомеостатичних астроцитарних білків: AQP4, GFAP, GS, глутамінового транспортеру SNAT5, транспортерів глутамату (GLT-1 [SLC1A2 – solute carrier family 1 member 2; EAAT2 – excitatory amino acid transporter-2]), гліцину (GLYT-1), глюкози (GLUT-1), бензодіазепінових рецепторів периферичного типу [54, 55, 15].

Відомо, що аміак-обумовлена дисфункція астроцитарних глутамінових транспортерів Slc38a3 (SN1, SNAT3), Slc38a5 (Solute carrier family 38 member 5, SNAT5) і Slc7a6 (Solute carrier family 7 member 6, y + LAT2) призводить до швидкого насичення астроцитарного внутрішньоклітинного глутаміну, перевантаження яким веде до розвитку клітинної гіперосмолярності, осмотичного стресу і швидкого набряку, який обумовлює генералізований набряк ГМ при важкій ПЕ, що підтверджується зменшенням цих проявів при введенні інгібітору GS [172]. Інші дослідники також підтвердили, що у тварин і хворих з ГПечН та ХпечН концентрація глутаміну в СМР та тканині ГМ незмінно підвищена і прямо корелює з виразністю ПЕ [59, 173]. В моделі порто-кавального анастомозу у щурів з введенням ацетату амонію було показано активну участь глутаміну в розвитку окислювального та нітрозативного стресів (ОНС), що має величезне значення в патобіохімічному каскаді в умовах гіперамоніємії. З іншого боку, було показано, що при використанні інгібітору GS метіонін-сульфоксими́ну препарат не повністю прибирав набрякові зміни ГМ, вказуючи на те, що осмотичність глутаміну лише частково обумовлює набряк астроцитів за цих умов [172].

У 2006 р. Albrecht J. та Norenberg, M. D. [174] запропонували модель участі глутаміну в аміачній нейротоксичності, назвавши її «Троянським

конем». Згідно цієї концепції глутамін, накопичуючись в астроцитах, за допомогою гістидин-чутливих глутамінових переносників надходить у мітохондрії, де на внутрішній мітохондріальній мембрані гідролізується фосфат-активованою глутаміназою, знову вивільняючи аміак та глутамат. Таким чином, глутамін, як «Троянський кінь», є прихованим носієм аміаку. Досягаючи високих концентрацій, мітохондріальний аміак веде до зміни мітохондріального мембранного потенціалу, ушкоджує дихальний ланцюг, веде до формування активних форм кисню та оксидативного стресу [175]. Досі не відомо, як саме аміак-індуковані вільні радикали призводять до розвитку астроцитарного набряку. Передбачається, що вони прямим чином ушкоджують білково-ліпідні компоненти мітохондріальних мембран та плазмолемі клітин, призводячи до змін їхньої мембранної проникності шляхом порушення іонного транспорту. Порушення енергопродукції та зниження контролю потоків іонів веде до порушення регуляції клітинного обсягу [174]. Описані мітохондріальні зміни відбуваються в так званих «порах, що змінюють проникність мітохондріальної мембрани» (mitochondrial permeability transition pore, рМРТ) - великих Ca^{2+} -залежних неселективних порах на внутрішній мембрані мітохондрій, - що веде до підвищення її проникності для протонів, іонів, інших малих молекул та розвитку мітохондріальної дисфункції [174], набуханню мітохондріального матриксу і частковим або тотальним кристолізом, що було підтверджено результатами нашого ультраструктурного дослідження астроцитів кори ВПГМ щурів в моделі AILF. Дослідження інших авторів в моделях ГпечН і ХпечН показали, що надмірна аміак-індукована активація астроцитарних іонних імпорттерів NKCC1 (Na-K-2Cl cotransporter 1) і $\text{NC}_{\text{Ca-ATP}}$ супроводжується набряком астроцитів і симптоматикою ПЕ у гризунів [48].

За результатами проведеного нами ІГХ дослідження, дрібноглибчаستا експресія основного білка водних каналів ГМ AQP4 у померлих осіб групи контролю та контрольних щурів визначалася переважно в мембранах периваскулярних, і рідше – нейропільних відростків окремих астроцитів з

відносно більшою площею AQP4-імунопозитивного матеріалу в зубчастій звивині гіпокампальної формації, корі ВПГМ та мозочку і найменшим – в білій речовині ВПГМ. В фізіологічних умовах AQP4 забезпечує потік води вздовж осмотичного градієнту [170], тому при глутамін-обумовленому гіперосмотичному стані васкулярних кінцевих астроцитарних ніжок гіперекспресія AQP4 призводить до значного наводнення цих клітин [176]. Для забезпечення необхідного розподілу AQP4 у плазматичній мембрані астроцитарних ніжок існують допоміжні інтрацелюлярні та екстрацелюлярні якірні білки. Так, внутрішньоклітинний α -синтрофін пов'язує AQP4 з дистрофін-асоційованим білковим комплексом, що служить сполучною ланкою між трансмембранними протеїнами та цитоскелетом. Трансмембранна білкова пара α - β -дистроглікан (α - β -dystroglycan) пов'язує AQP4 з білками судинної базальної мембрани аргіном та ламініном, що необхідно для периваскулярного зосередження водних астроцитарних каналів [170].

При пошкодженні мозкової тканини зміна експресії якірних білків веде до переміщення AQP4 з астроцитарних судинних ніжок у бік решти плазмолем і ширше їх розповсюдження в області тіла клітин – поняття, назване «AQP4-дисрегуляцією» [55, 177].

Нашими ІГХ дослідженнями феномен «AQP4-дисрегуляції» різної виразності був показаний як при прогресуванні ПЕ від G0 до G3-4, так і при САЕ на тлі абдомінального сепсису, а також в моделях AILF та CLP у щурів. Так, вже при ПЕ G0 на тлі компенсованого ЦП достовірно зростання площі експресії AQP4 відносно показників померлих групи контролю відбувалось за рахунок збільшення кількості AQP4 в плазматичних мембранах астроцитарних тіл і нейропільних відростків. Прогресування ПЕ супроводжувалося достовірним динамічним зростанням площі експресії у всіх досліджених відділах ГМ та характеризувалося збереженням гетерогенної регіон-специфічної манери з максимальними показниками в смугастому тілі, корі ВПГМ та таламусі при важкій ПЕ G3-4, що корелювало з найбільшими рівнями тканинного аміаку в цих відділах ГМ.

В AILF-моделі гострої печінкової недостатності нами також було засвідчено появу феномена «AQP4-дисрегуляції» у підвищенні площі експресії AQP4 за рахунок появи AQP4-імунореактивності плазматичних мембран тіл і нейропільних відростків астроцитів з 12 год у щурів летальної підгрупи і максимальними показниками на 24 год. У щурів летальної підгрупи відзначено тенденцію до більших значень порівняно з нелетальною і достовірно більш високими показниками в корі ГМ «летальних» щурів. Останнє може вказувати на більш виразні AQP4-залежні механізми набряку ГМ саме в корі ВПГМ при декомпенсованих формах ПЕ на тлі ГПечН у щурів порівняно з компенсованими.

Аналогічно нашим результатам, різні групи дослідників в моделях ПЕ на фоні ГпечН і ХпечН також виявили значне підвищення експресії AQP4 в ГМ гризунів [62, 178]. Команда Rama Rao K. et al. у 2003 році виявили виражену гіперекспресію AQP4 через 10 год після додавання до середовища 5 мМоль NH_4Cl та подальше зростання експресії до 48 год, що передувало розвитку цитотоксичного астроцитарного набряку [171]. Thumburu K. K. et al. при дослідженні кори ГМ 8 померлих хворих з ГпечН показали підвищення рівня мРНК AQP4 та експресії AQP4 в області астроцитарних периваскулярних ніжок, а також виражене зниження рівня мРНК та експресії білка проміжних філаментів GFAP на тлі картини цитотоксичного набряку нервової тканини [48]. У нещодавньому дослідженні на BDL (bile duct ligation)-моделі ХпечН і ПЕ у щурів було виявлено регіон-залежне зниження судинного покриття AQP4 [179], що вказує на можливість появи «AQP4-дисрегуляції» при ПЕ.

Разом з цим, деякі дослідження в астроцитарних культурах мали і суперечливі результати. Так, Bodega G. et al. в схожому дослідженні спостерігали зниження астроцитарної експресії AQP4, що асоціювалося з утворенням нерозчинних білкових агрегатів у плазматичній мембрані під впливом аміаку [48]. Також, у 2010 році Wright G. et al. в експериментальній моделі ГпечН, ХпечН і сепсису у щурів відзначили підвищення експресії

AQP4, проте не виявили залежності між рівнями експресії AQP4 та рівнем гіперамоніємії, наявності сепсису або розвитку набряку ГМ [48].

З іншого боку, AQP4-дисрегуляцію можна розцінювати і як пристосувальну реакцію астроцитів, які при пошкодженні нервової тканини переміщують свої водні канали подалі від судинних стінок для попередження входження надлишку вазогенної води, а також процесами нейрозапальної реактивації астроглії, що також включають гіпертрофію, міграцію, секрецію цитокінів та інші події [170]. Точна роль AQP4 у розвитку набряку ГМ при ПЕ все ще залишається предметом дискусій, тому що аквапорини є активними учасниками не тільки розвитку цитотоксичного набряку, але і процесів резорбції надлишку інтерстиціальної рідини при вазогенному набряку [63].

Нами було показано, що навіть слабке підвищення тканинного аміаку в ГМ померлих хворих з ПЕ G0 на тлі компенсованого ЦП було асоційоване з достовірним зниженням площі експресії GFAP в усіх 6 досліджених відділах ГМ з максимальним – в таламусі. Астроцит-специфічний і ключовий цитоскелетний білок GFAP (гліальний фібрилярний кислий протеїн) є критично важливим для структурної стабільності, цілісності, а також рухливої активності та підтримки гомеостатичних функцій астроцитами [180].

В нашому дослідженні, у померлих осіб контрольної групи GFAP⁺ астроглія кори ВПГМ мала типову морфологію протоплазматичних астроцитів, термінальної глії, інтерламінарних і варикозно-проекційних астроцитів, в той час як в білій речовині ВПГМ, зубчастій звивині гіпокампу, таламусі, смугастому тілі і мозочку спостерігалася різнотипова GFAP⁺ астрогліальна популяція з переважанням фібрилоутворюючих астроцитів і найбільшою площею експресії GFAP саме в білій речовині ВПГМ. Відомо, що у відповідь на будь-які тригерні фактори астроглія швидко зазнає фенотипового ремоделювання та стає реактивною, підвищуючи експресію GFAP [170].

Тим не менш, за нашими даними прогресування ПЕ до легкого G1-2 і важкого G3-4 ступеню призводило до подальшого достовірного і динамічного

зниження експресії GFAP за рахунок зменшення кількості GFAP+ астроцитів та їх відростків переважно в корі ВПГМ, таламусі та смугастому тілі відносно інших досліджених відділів ГМ. Така ж сама динаміка змін експресії GFAP спостерігалася у AILF-щурів, коли її зниження відзначено вже на 16 год після введення парацетамолу і стало максимально низьким на 24 год з тенденцією до більш значущого зниження в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку щурів летальної підгрупи порівняно з нелетальною. Регіон-специфічне зниження експресії GFAP може вказувати на більш виразне пригнічення синтезу цитоскелетних білків у регіонах мозку, відмічених найбільшими рівнями тканинного аміаку. Низкою інших дослідників з 80-х років минулого століття було також показано, що астрогліальна експресія GFAP знижується під час гіперамоніємії [176 15 181].

Таким чином, аміак-обумовлена гіперекспресія GS, AQP4 та гіпоекспресія GFAP в астроцитах призводить до їх глутамінового перевантаження, осмотичного набряку, мітохондріальної недостатності, розвитку окисно-нітрозувального стресу, гіпоксії, стрімкому розширенню цитокавітальної системи, втрати форми клітини і перетворенню окремих, найбільш метаболічно навантажених клітин астрогліальної популяції в так звані астроцити Альцгеймера 2 типу.

Нами встановлено, при слабкому підвищенні рівня тканинного аміаку в ГМ померлих хворих з ПЕ G0 при компенсованому ЦП о визначався достовірно слабкий A2-астроцитоз в таламусі, смугастому тілі та мозочку. Прогресування ПЕ до G1-2 супроводжувалося підсиленням A2-астроцитозу до помірного в корі ВПГМ, таламусі, в мозочку та появи слабого A2-астроцитозу у смугастому тілі. У померлих хворих з ПЕ G3-4 при декомпенсації ЦП визначався максимальний III ступінь A2-астроцитозу: в таламусі, мозочку, смугастому тілі та корі ВПГМ; помірний II ступінь – у білій речовині ВПГМ і слабкий I ступінь – в гіпокампі. Таким чином, аміак-асоційований дисметаболічний астроцитоз починається ще на клінічно-негативних стадіях ПЕ спочатку у найбільш аміак-чутливих відділах ГМ, а при важкій ПЕ

на тлі декоменсації ЦП в різному ступені виразності спостерігається вже в усіх досліджених відділах ГМ. В ГМ померлих осіб групи контролю спостерігалися одиничні AA2/ 20 СПЗ (або нульовий «0» ступінь A2-астроцитозу).

Саме A2-астроцити вже багато десятиліть вважаються майже єдиним нейропатоморфологічним критерієм печінкової енцефалопатії. Вперше Вестфаль-Штрumpfель фон Госслін і Алоїз Альцгеймер у випадку псевдосклерозу описали дві форми дистрофічних астроцитів [182], які у 1920 році були названі Шпільмейєром, як глія типу Альцгеймера I (AA1) та глія типу Альцгеймера II (AA2) [183]. За даними Agarwal A.N. et al. [17] AA2 у кількості більше 5 одиниць /20 СПЗ x 400 в постмортальній тканині базальних гангліїв є патогномонічним критерієм печінкової енцефалопатії з чутливістю 85.7% і специфічністю 68.6%.

В кінці минулого століття Sobel R. A. et al. (1981), Kimura T. et al. (1986), Ma et al. (1988) і Bertrand E. et al. (2001) довели, що при таких гіперамонемічних станах як ПЕ та гепато-лентикулярна дегенерація при хворобі Вільсона-Коновалова з'являються астроцити Альцгеймера 2 типу, які розташовуються дифузно у всьому ГМ, з переважним розповсюдженням в корі ВПГМ, підкірковій білій речовині, смугастому тілі і характеризуються відсутністю імунореактивності до GFAP і збереженою експресією S100b [48]. В той час це було розцінено деякими авторами як доказ того, що AA2 являють собою дисметаболічну дегенерацію саме протоплазматичних астроцитів. Але пізніше це припущення поставлено під сумнів і спростовано сучасною концепцією того, що в ході пристосувально-адаптаційних процесів нейрогліальні популяції, в тому числі астроглія, можуть фенотипово змінюватися, частково набуваючи якостей інших клітинних морфотипів. Існує гіпотеза, що AA2 є наслідком дисметаболічної дистрофії або інтактних, або реактивних астроцитів, які поступово починають втрачати імунореактивність до GFAP. Передбачається, що до певного (субкомпенсаторного) періоду свого існування (до стадії слабкої GFAP-імунопозитивності) вони можуть оборотно трансформуватися в конститутивні форми, в інші дегенеративні форми

(астроцити Альцгеймера 1 типу) і, коли є пошкодження тканини – в реактивні астроцити. Цей прояв динамічної пластичності астроцитів отримав назву компенсаторний “феномен рикошету” астрогліопатії Альцгеймера [42]. «Феномен рикошету» був показаний в ГМ щурів в моделях з портокавальним анастомозом, а також у померлих з ПЕ коли, відповідно, травматичне пошкодження ГМ і розвиток мікроінфаркту індукували появу серед GFAP-негативних Альцгеймер2-астроцитів клітин зі слабкою GFAP-імунопозитивністю, а також схожих на звичайні GFAP⁺ реактивних астроцитів та GFAP⁺ реактивних гемістоцитів. Вважається, що з певних стадій свого розвитку AA2-морфотип стає необоротним і клітина піддається некрозу і розпаду.

В ГМ AILF-щурів поява AA2-астроцитозу нами відзначена з 18 год після введення парацетамолу з максимальними цифрами AA2 на 24 год експерименту у всіх досліджених відділах ГМ і найбільшою розповсюдженістю в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку щурів обидвох підгруп з тенденцією до більш виразного AA2-астроцитозу у щурів «летальної» підгрупи. Ступінь AA2-астроцитозу в різних відділах ГМ щурів при гострій печінковій недостатності була майже аналогічною тій, що спостерігалася у померлих хворих на ПЕ при цирозі печінки.

За результатами ЕМ-дослідження AA2 мали округле, збільшене ядро з дрібними глибками хроматину в каріоплазмі, які концентрувалися біля каріолеми, утворюючи своєрідний вузький електроннощільний обідок біля внутрішньої ядерної мембрани, а також цитоплазму з вогнищевим набуханням цитозоллю, яка містила притаманні астроцитам органели

За даними електронної мікроскопії, виконаної Gutierrez J., Norenberg M. в 1977 та Horita N. et al. в 1981 рр. встановлено, що на перших етапах формування AA2 в них збільшується обсяг цитоплазми, відзначається гіперплазія мітохондрій, гранулярної і гладкої ЕПС, з'являються ліпофусцинові гранули, в цитоплазмі і в ядрі. В подальшому відбувається помітне розрідження ядерного хроматину з формуванням глибоких скупчень

під нуклеолою, і в умовах виснаження метаболічного потенціалу клітин в А2-астроцитах з'являються виражені явища гідропічної дегенерації ядра, мітохондрій, вакуолізація цитоплазми і клазматодендроз клітин [176 17].

Астроцити Альцгеймера 1 типу (АА1) являють собою більш рідкісну патологію. АА1 описані переважно при хворобі Вільсона, в одиничних повідомленнях – при аноксичній енцефалопатії, хворобі Марчіафави-Біньямі, печінковій енцефалопатії і розглядаються як транзиторні форми дисметаболічної астрогліопатії, які можуть ненадовго з'являтися і існувати поблизу місць деструкції мозкової тканини (вогнища інфаркту, травматичного пошкодження) на тлі перелічених патологій ГМ. Морфологічно вони представлені гігантськими суттєво GFAP-імунопозитивними астроцитами з хаотично розташованими, аберантними, скороченими або гіперспіралізованими хромосомами, периферично розташованим часточковим ядром або центрально розташованими численними мікроядрами і являють собою результат атипового колхіциноподібного мітозу. За результатами дослідження Ма К.С. (2001), передбачається, що патологія розходження хромосом в АА1 може бути обумовлена порушеннями мікротубулярної функції веретеноподібного апарату через аміак- і глютамін-обумовлену гіпергідратацію астроцитів [42]. Враховуючи зупинку мітотичного циклу в АА1, ця форма астроцитопатії вважається необоротною, такі клітини не можуть зворотньо трансформуватися в звичайні реактивні астроцити або в АА2 формотип і поступово піддаються некротизації. Гіпотетичний морфогенез АА2, АА1, звичайних реактивних астроцитів за Ма К.С. (2001) показаний на рисунку 8.1.

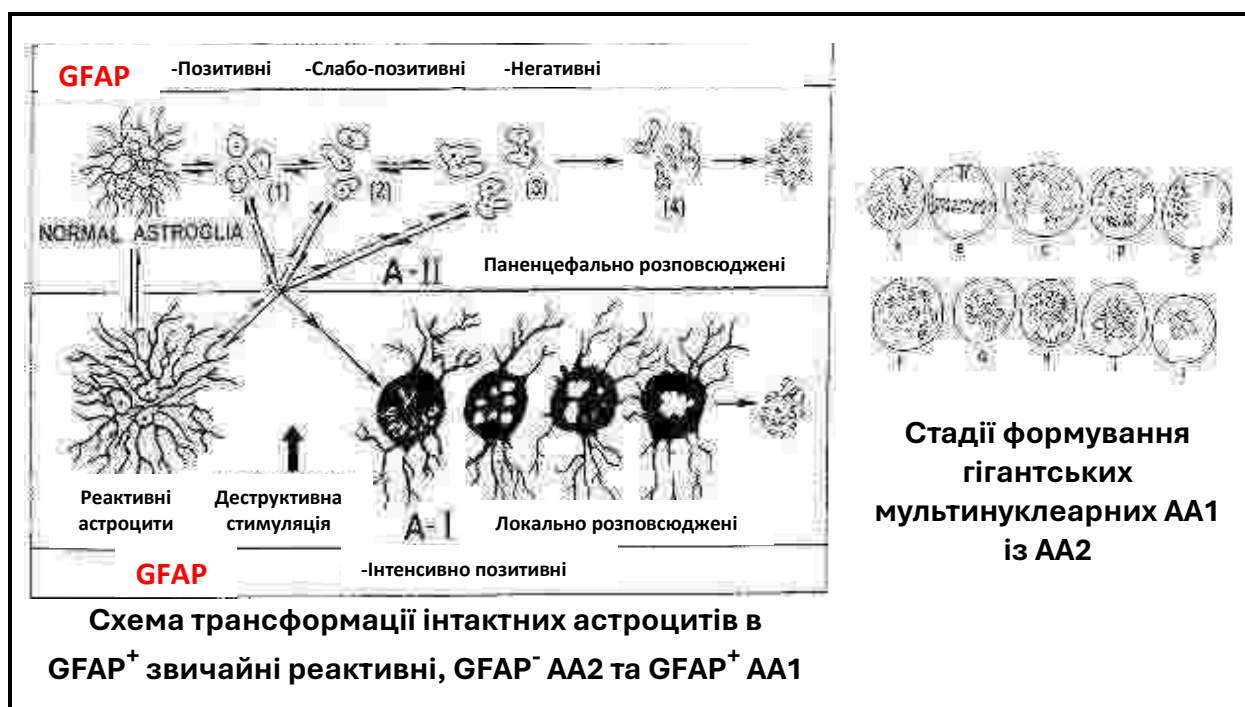


Рисунок 8.1 – Гіпотетичний морфогенез AA2, AA1, реактивних астроцитів із інтактних астроцитів в умовах гіперамоніємії за Ма К.С. [42].

Описані іншими авторами класичні мультинуклеарні гігантські AA1 не спостерігалися в нашому дослідженні.

Підсумовуючи описані морфофункціональні зміни астроглії при прогресуванні ПЕ на тлі цирозу печінки, а також черговість поступових змін експресії ними GS, AQP4 та GFAP при гострих формах ПЕ у щурів, а також враховуючи суттєву гетерогенність популяцій астроцитів, можна припустити, що в умовах підвищення рівня тканинного аміаку велика частина астроцитів піддається активному метаболічному ремоделюванню, що супроводжується підвищенням синтезу глютамінсинтетази та аквапорину-4, але з часом, внаслідок аміаку-асоційованого осмотичного стресу та набряку в частині найбільш метаболічно активних астроцитів втрачається спроможність синтезу гліофібрилярного білку цитоскелету, вони втрачають свою форму, піддаються вакуолізації і перетворюються на астроцити Альцгеймера 2 типу (рис. 8.2).

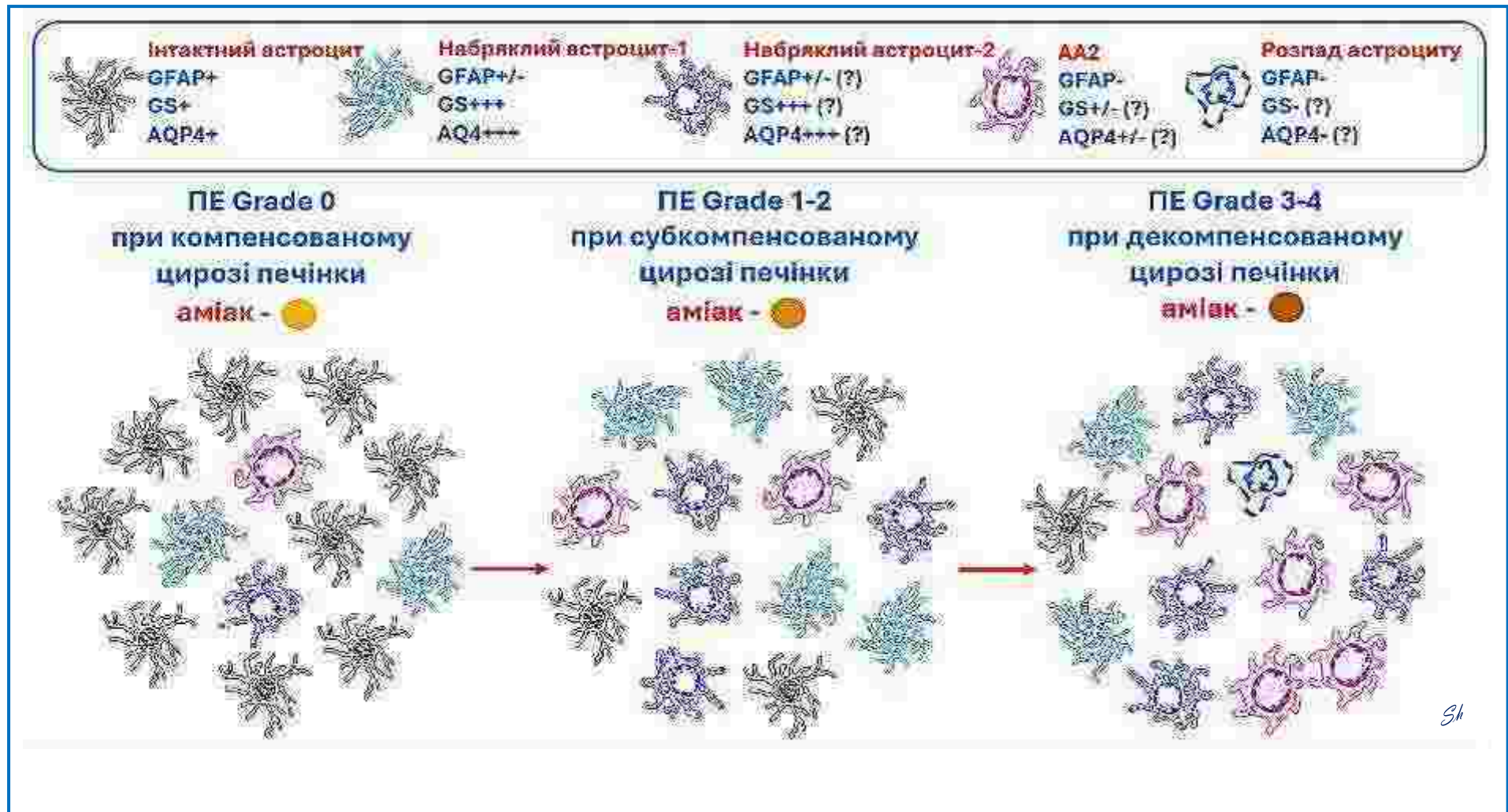


Рисунок 8.2 – Схема передбачуваної динаміки аміак-асоційованих змін морфології астроцитів та ІГХ експресії астроцитарних білків під час прогресування печінкової енцефалопатії.

З іншого боку, проведені нами ультраструктурні дослідження матеріалу експериментальних AILF-щурів з ПЕ на тлі гострої печінкової недостатності показали, що в окремих астроцитах кори ВПГМ щурів нелетальної «AILF-A» підгрупи спостерігається активація адаптивно-приспосувальних процесів у вигляді активації ендосомально-екзосомальної системи з достовірним підвищенням кількості в периваскулярних кінцевих астроцитарних ніжках мультивезикулярних тілець (МВТ) (рис. 8.3). Астроцити є активними учасниками гліокринної системи ГМ і взаємодіють з іншими клітинами за допомогою екзоцитозу низки біологічно активних речовин і сигнальних молекул, серед яких: mRNA, miRNA, цитокіни [184 185], білки комплексу С3а [186], молекули МНС-II [187], нейротрансмітери та їх попередники, пластичні фактори, гормони та інші [188]. Екзоцитоз цих речовин з астроцитів відбувається у складі таких секреторних органел як лізосоми, щільноядерні везікули, синаптичноподібні мікровезікули і екстрацелюлярні везікули (ЕЦВ) [189]. Один з видів ЕЦВ – екзосоми, які формуються в ході ендосомального внутрішньоклітинного циклу з МВТ (вид пізніх ендосом) внаслідок злиття останніх з плазмолемою і вивільнення їх інтралюмінальних везікул (ІлВ) у позаклітинний простір [184]. Ендосомальна система забезпечує взаємодію між плазмолемою, апаратом синтезу-секреції та лізосомами. Після ендоцитозу трансмембранні білки транспортуються до ранніх ендосом, які за допомогою нейтральної сфінгомелінази-2 і церамідзалежного процесу дозрівають в ІлВ, а із залученням комплексу ESCRT-0, I, II, III (endosomal sorting complex required for transport) перетворюються в МВТ. В МВТ відбувається сортування продуктів внутрішньоклітинного метаболізму – за допомогою ESCRT-механізму в їх ІлВ реалізується секвестрація мембранних білків і цитоплазматичних молекул, які далі можуть транслокуватися в лізосоми для катаболізму або вивільнятися у складі екзосом в позаклітинний простір [184 190].

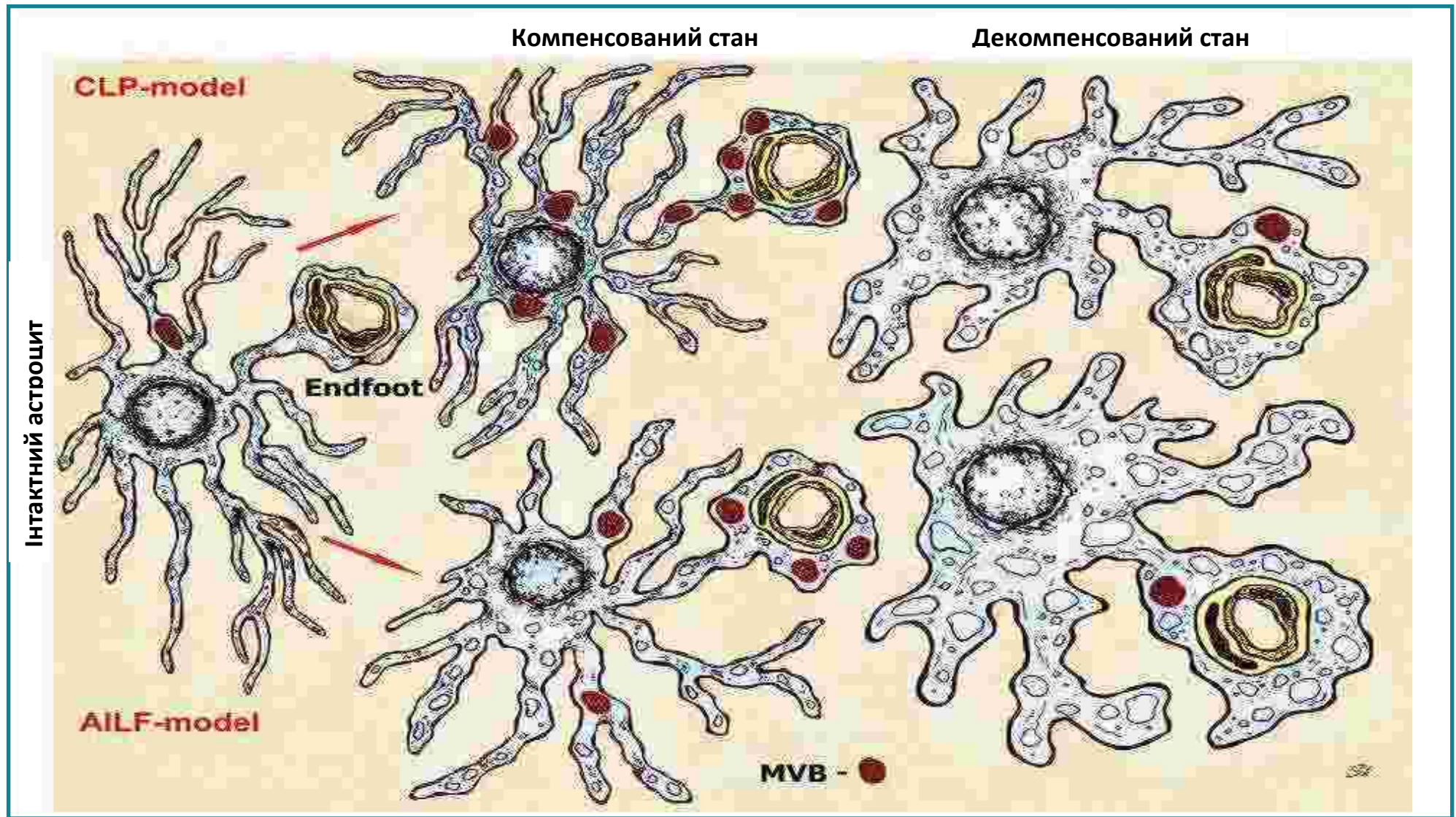


Рисунок 8.3 – Накопичення і перерозподіл MBT в астроцитах кори ВПГМ щурів в моделях CLP і AILF.

За результатами нашого дослідження, астроцитарні профілі, що містили в собі MBT, характеризувалися більшою збереженістю ультраструктури і менш виразні набрякові зміни. Можна припустити, що збільшення кількості MBT в периваскулярних ніжках таких астроцитів нелетальної підгрупи вказує на активацію в них резервних шляхів очищення і елімінації продуктів обміну в судинне русло за рахунок підвищення ендосомально-екзосомального транспорту. Також дане явище вказує на підвищення гліокринної, сигналізаційної активності астроцитів за допомогою екзоцитозу молекул безпосередньо в кров як прояву тісного взаємозв'язку мозкового метаболізму і системних реакцій.

Існує також тісний взаємозв'язок між MBT і процесами аутофагії. MBT можуть зливатися з аутофагосомами, формуючи «амфісоми», які, в свою чергу, об'єднуються з лізосомами і утворюють аутолізосоми для розщеплення продуктів, що надходять [190]. Для ефективної аутофагічної деградації деяких білків необхідні функціонально активні MBT, а ESCRT мутації, що порушують синтез MBT, асоційовані з рядом нейродегенеративних захворювань [190, 191, 192].

Lu K. et al. показали, що при аміачній інтоксикації в *in vitro* та *in vivo* моделях, а також у посмертних зразках ГМ хворих на ПЕ при ЦП в астроцитах підвищується експресія трансглутаминази 2 (TGM2) – фактору, що сприяє аутофагії, а також білку біогенезу аутофагосом – LC3 (microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3B), але одночасно пригнічуються процеси аутофагії за рахунок аміак-індукованого синтезу реактивних форм кисню та змін лізосомального рН. Таким чином, виявлене нами незначне підвищення кількості MBT в астроцитах щурів нелетальної підгрупи «AILF-A» може бути проявом спроби ініціації аутофагічних механізмів, які, як вважається [193], в умовах аміачного токсикозу мають компенсаторно-пристосувальне значення.

За результатами проведеного нами світлооптичного і ультраструктурного дослідження нейрональна патологія у померлих хворих з легкою і важкою ПЕ і у AILF-щурів в усіх досліджених відділах ГМ була

представлена набряклими нейронами з каріопікнозом, більш рідкими гіперхромними і апоптотичними нейронами, іноді – нейронами з олігодендрогліальним сателітозом, а у хворих, що померли в комі, в корі ВПГМ також спостерігалися вогнища ламінарного селективного некрозу нейронів. Починаючи з легкої ПЕ G1-2 при субкомпенсованому ЦП в ГМ померлих хворих зафіксоване достовірне підвищення відсотку Casp3⁺-нейронів, яке досягло максимальних рівнів при важкій ПЕ G3-4 у всіх досліджених відділах ГМ з переважанням показників в гіпокампі та таламусі. Набрякові та конденсовані зміни нейронів можна частково пояснити ішемічним станом на тлі зниження церебральної мікроциркуляції, що проявлялося у вигляді вогнищового спадіння, запустіння, стазу крові і навпаки паретичному розширенні частини артеріол, капілярів і венул як в ГМ померлих хворих з ПЕ G1-2, G3-4, так і у AILF-шурів. Відомо, що для хворих навіть з субклінічними формами ПЕ притаманне підвищення судинної резистентності та зниження церебрального кровотоку і метаболізму кисню [57 194], що особливо виразно в нашому дослідженні було проявлено у важких хворих з ПЕ G3-4 при декомпенсованому ЦП, важкій системній циркуляторній недостатності на тлі скомпрометованої системи ауторегуляції мозкового кровотоку. В таких умовах циркуляторна гіпоксія в ГМ доповнюється тканинною і клітинною на тлі мітохондріальної недостатності. Свідченням енергетичної недостатності мозку при ПЕ є підвищений рівень у мозковій тканині хворих на ПЕ лактату [48], який синтезується астроцитами внаслідок стимульованого гліколізу для забезпечення нейронів джерелом енергії [195]. З іншого боку, можливою більш значущою причиною некротичної і апоптотичної загибелі нейронів в умовах ПЕ є аміак- і глютамін-асоційована ексайтотоксичність. Rose C. et al. в 2005 р. експериментально показано, що аміак із позаклітинного середовища легко проходить через астроцитарну плазматичну мембрану та лужить вміст клітини, що сприяє виходу кальцію з внутрішньоклітинних депо та пояснює збільшення екзоцитозного Ca⁺-залежного вивільнення глютаму у позаклітинний простір [48]. В умовах

гіперамоніємії та осмотичного стресу також пригнічується активність астроцитарних глутаматних транспортерів EAAT1 (excitatory amino acid transporters-1) і EAAT2 (excitatory amino acid transporters-2), що знижує зворотнє захоплення глутамату астроцитарними перисинаптичними відростками, накопичення глутамату в синаптичних щілинах і сприяє глутаматній ексайтотоксичності і загибелі нейронів [196]. Також було показано важливу роль глутаматного іонотропного рецептора N-метил-D-аспартату (NMDAR). Відкриття NMDAR контролюється позаклітинними іонами магнію шляхом потенціал-залежного блоку. Аміак, підвищуючи мембранний потенціал, видаляє магнієве блокування каналу, підсилюючи чутливість NMDA-рецепторів. Вважається, що при підвищеному вмісті аміаку посилення глутаматної нейротрансмісії через NMDA-рецептори одночасно з порушенням NMDA-залежного глутамат-NO-cGMP шляху частково пояснюють клінічну симптоматику ПЕ [197 198]. Аміак призводить до швидкого зниження астроцитарної буферизації іонів K^+ , що збільшує їх позаклітинну концентрацію і надмірно активізує $Na^+K^+-2Cl^-$ котранспортну ізоформу1 у нейронах. Подальша деполяризація нейронального ГАМК-зворотного потенціалу (E_{GABA}) погіршує кортикальну гальмівну систему і також сприяє локальній ексайтотоксичності, обумовлюючи судомну симптоматику [198]. Окрім зменшення кількості дієздатних нейронів, нами вперше було показано суттєве зниження міжнейронної синаптичної передачі за рівнем оптичної щільності основного білку пресинаптичних везикул синаптофізину при ПЕ. Починаючи з легкої ПЕ експресія Synaptophysin в ГМ померлих хворих вже достовірно зменшувалася у всіх досліджених відділах ГМ, знижуючись до слабого рівня, і була відносно більш зниженою в гіпокампі. При важкій ПЕ експресія Syn була максимально низькою, особливо в таламусі, корі ВПГМ та гіпокампі, а в багаточисельних дрібних ділянках ГМ експресія Syn не визначалася зовсім. Схожі результати отримали Jayakumar A.R. et al. в культурі нейронів, поміщених в середовище астроцитів, оброблених аміаком, коли було відзначено зниження рівнів експресії

синаптофізину, PSD95 і синаптотагміну [199]. З одного боку, зменшення кількості синаптичних везикул в гіперамонійному середовищі може мати пристосувальний механізм у відповідь на перенасичення позаклітинного простору вільним глутаматом, з іншого – може бути обумовлене зниженням метаболічної і синтетичної активності синаптичного апарату в умовах окисно-нітрозувального стресу. Аміак-індукований ОНС веде до нітрування тирозинових білкових закінчень та окислення астроцитарної та нейрональної РНК. Також нітрозативний стрес мобілізує цинк із внутрішньоклітинних депо, що веде до індукції експресії мРНК металотіонеїну. У моделях гіперамоніємії у щурів окислення РНК спостерігається переважно у периваскулярних кінцевих ніжках астроцитів, а також у постсинаптичних дендритних шипиках, що порушує експресію генів постсинаптичного синтезу білка, синаптопластичність, внутрішньоклітинну сигналізацію та гліо-нейрональну, нейро-нейрональну взаємодію, а також зумовлює нейротрансмітерний дисбаланс [48]. З іншого боку, гіперамоніємія викликає активацію астроцитарних бензодіазепінових рецепторів периферичного типу [176], що асоціюється з підвищенням продукції мітохондріями нейростероїдів. Нейростероїди, подібно до бензодіазепінів, стимулюють нейрональні ГАМК-ергічні рецептори, що разом зі зниженням здатності астроцитів до захоплення позаклітинного ГАМК веде до посилення ГАМК-ергічного тону в мозковій тканині. За даними Butterworth R. et al., в ГМ пацієнтів у печінковій комі виявлено патологічно високі рівні алопрогнанолону та прегненолону [200]. Все це призводить до зниження нейротрансмісії, а також провокує ПЕ на фоні прийому препаратів, тропних до ГАМК [176]. Гіперамоніємія підвищує проникність ГЕБ для амінокислот з розгалуженим ланцюгом та ароматичних амінокислот, вміст яких значно підвищується у мозковій тканині, в тому числі під час детоксикації аміаку і синтезу глутаміну. Накопичення ароматичних амінокислот веде до порушення продукції катехоламінів (серотоніну та дофаміну) і, замість цього, сприяє синтезу хибних нейротрансмітерів (октопаміну та фенілетиламіну), що погіршує серотонінергічну, ГАМК-

ергічну та глутаматергічну нейротрансмісію. Загалом, більшість експериментальних досліджень ПЕ описують порушення в роботі 4-х нейротрансмітерних систем мозку: ГАМК-бензодіазепінергічної, дофамінергічної, серотонінергічної та глутаматергічної [201].

Наступним проявом генералізованої астрогліальної недостатності в умовах печінкової енцефалопатії виявилось підвищення кількості амілоїдних (крохмальноподібних) тілець в ГМ померлих хворих на ЦП. Більшість сучасних дослідників прийшли до висновку, що амілоїдні тільця (англ. *corpora amylacea*), або «вастосоми» (від англ. *waste* - відходи) є учасниками і продуктами функціонування дренажної глімфатичної системи головного мозку і представлені своєрідними контейнерами, що в своєму складі виносять продукти метаболізму із тканини мозку у ліквор і далі – в лімфатичну систему. Глімфатичне очищення ГМ починається з надходження ліквору в субарахноїдальні периартеріальні простори систем передньої, середньої і задньої мозкових артерій і руху його уздовж цих просторів за допомогою пульсаційних хвиль артеріальних стінок. Через AQP4-канали астрогліальних периваскулярних ніжок відбувається вхід води, змішування її з інтерстиційною рідиною (ICP) тканини ГМ і рух до перивенозних просторів крупних вен: внутрішніх церебральних вен глибокої венозної системи і нижньої анатомозуючої вени Лаббе поверхневої венозної системи. В перивенозних і субарахноїдальному просторах ICP знову змішується з ліквором і дренується або через менінгеальні лімфатичні судини, або через лімфатичні судини м'яких тканин голови і шиї. Також дренування ICP відбувається уздовж краніальних і спинномозкових нервів, через субепендимальний і трансепендимальний шляхи [202]. Поліглюкозанава структура амілоїдних тілець побудована з агрегатів гексоз, що більш споріднені з амілопектином крохмалю, ніж тваринним глікогеном. Вважається, що амілоїдні тільця утворюються в астроцитах [203 204 205], перш за все, внаслідок захвату або фагоциткування ними компонентів дистрофічно-змінених синаптичних апаратів [206 207], інших продуктів тканинного розпаду або внаслідок накопичення власних

внутрішньоастроцитарних метаболітів. Ультраструктурні дослідження амілоїдних тілець довели, що вони складаються із щільних лабіринтоподібних ліпідних мембран, містять везикули і збережені мітохондрії [205] та вивільняються з цитоплазми термінальних астроцитів у ліквор апокриновим шляхом [208]. Накопичення амілоїдних тілець може бути як наслідком підвищеної продукції тканинних метаболітів та продуктів розпаду, так і наслідком первинної недостатності учасників глімфатичної системи кліренсу, перш за все – астроцитів як носіїв AQP4-каналів і контейнерів для метаболізму, транспортування і вивільнення резидуальних продуктів із мозкової тканини. Відомо, що накопичення амілоїдних тілець характерно для старіння ГМ [209], тому в нашому дослідженні підвищення кількості АТ оцінено як достовірне відносно померлих осіб контрольної групи тієї ж вікової когорти. Замість активації глімфатичного кліренсу аміак-асоційоване підвищення експресії AQP4 в астроцитах померлих хворих з ПЕ сприяє набряковим та дистрофічно-деструктивним змінам астроцитів, і враховуючи вищеописане відоме аміак-асоційоване зниження функціональної спроможності лізосомальної системи, можна припустити, що при ПЕ накопичення амілоїдних тілець є, перш за все, результатом первинної аміак-асоційованої астрогліопатії і астроцитарної недостатності. Недостатньо функціональні астроцити не можуть вчасно метаболізувати та виводити продукти деградації некротично- і апоптотично змінених нейронів, синаптичних апаратів і самих астроцитів, тому амілоїдні тілця залишаються в їх цитоплазмі, зосереджуючись у кінцевих зонах найбільш активних шляхів глімфатики – перивенозно, субепендимально, субпіально в гіпокампальній формації, смугастому тілі, таламусі, корі ВПГМ. Підтвердженням того, що накопичення амілоїдних тілець є проявом переважно хронічної, тривалої недостатності глімфатичної системи в умовах гепатогенної нейроінтоксикації стало те, що дані структури не були виявлені в тканині ГМ AILF-щурів.

Набрякові зміни мозкової тканини при ПЕ макроанатомічно проявлялися на стадії важкої ПЕ G3-4 у вигляді достовірного збільшення середньої маси

ГМ та макроскопічними ознаками генералізованого набряку з помірним гризовим вклиненням мигдаликів мозочку у великий окципітальний отвір. Достовірне збільшення площі ПВп і ПЦп відзначено вже на стадії легкої ПЕ G1-2 і відбувалося за рахунок переважання площі периваскулярних просторів, що співпадає з результатами інших експериментальних і клініко-інструментальних досліджень, які вказують на наявність помірного вазогенного набряку ГМ при легких формах ПЕ на тлі хронічної печінкової недостатності [210]. Передбачається, що при ПЕ гіперамоніємія підвищує проникність ГЕБ, пошкоджуючи його структури, а також збільшує екстракцію плазмового аміаку мозковою тканиною [48], що створює додатковий до аквапоринового механізм розвитку вазогенного набряку [211 212]. Висока вибірковість проникності ГЕБ, обумовлена наявністю міжендотеліальних щільних контактів, слабкою вираженістю піноцитозу та потовщеною базальною мембраною, може змінюватися під впливом аміаку, інтерлейкінів, NO, аденозину, пуринових нуклеотидів, стероїдних гормонів, серотоніну, брадикініну. Структура щільних контактів представлена трансмембранними білками, що включають сполучні адгезивні молекули [(JAM)junctional adhesion molecules], оклюдин, клаудини, а також внутрішньоклітинні білкові домени (zonula occludens (ZO)-1, -2, і -3), що з'єднують цей комплекс з елементами цитоскелету і забезпечують стабільність щільних контактів. Відомо, що при експериментальній ПЕ MMP-9-залежне пошкодження цих білкових комплексів веде до підвищення проникності ГЕБ і мозкового набряку [178]. McMillin M. et al. в азоксиметановій моделі ГпечН у мишей показали, що трансформуючий фактор росту бета 1 (TGFβ-1), отриманий з печінки, індукує продукцію MMP-9 в церебральних ендотеліоцитах, що призводить до деградації клаудину-5 [213]. Також передбачається, що в цих умовах основним джерелом токсичних рівнів MMP-9 є печінка і деструктивний вплив гепатогенної MMP-9 на ендотелій відбувається з боку системної циркуляції, адже в тканині ГМ експресія MMP-9 була незмінною [214]. Групою McMillin M. в моделі перев'язки жовчних протоків у щурів продемонстровано, що

жовчні кислоти також підвищують проникність ГЕБ – шляхом стимуляції фосфорилування оклюдину, що призводить до дефіцитної взаємодії з ZO-1 і -2 [214]. Крім того, групою Wang W. et al. була показана роль TNF-а в ультраструктурних змінах ГЕБ, підвищенні екстравазації та зниженні експресії оклюдину у тварин з ГпечН, що підкреслює роль системного запалення в пошкодженні ГЕБ при ПЕ [214]. Однак, за даними інших дослідників зміни проникності ГЕБ при ГПечН не завжди присутні і не завжди супроводжуються ультраструктурними пошкодженнями [48]. За результатами ЕМ дослідження структур ГЕБ кори ГМ AILF-щурів з ПЕ на тлі ГПечН нами також не було виявлено значних деструктивних змін ендотелію і їх щільних контактів. Дегенеративні і некротичні/апоптотичні зміни ендотелію були селективними і серед сукупності мікросудин виявлялися рідко. Майже завжди прослідковувалася наявність збережених щільних міжендотеліальних контактів, часто при потовщених базальних мембранах і селективному ущільненні перицитів. Але найбільш яскравою ультраструктурною ознакою ураження ГЕБ при ГПечН у AILF-щурів був розповсюджений асиметричний набряк, вакуолізація та часткова фрагментизація і цитолізис астроцитарних периваскулярних відростків, що мало більш виразні прояви у щурів летальної підгрупи. Набрякове розширення профілів перинейрональних і нейропільних відростків астроцитів створювало картину порозності нейропілю на світлоопичному рівні, що було дуже характерно для ГМ померлих хворих з ПЕ, особливо на стадії G3-4. Переважання площі розширених перицелюлярних просторів над периваскулярними в ГМ померлих хворих з ПЕ G3-4 може вказувати на зміну превалюючого механізму набрякових змін мозкової тканини у важких циротичних хворих реанімаційних відділень – з вазогенного та цитотоксичний. В цих умовах набрякові зміни перинейрональних астроцитарних відростків відображають компенсаторний перерозподіл надлишків води із набряклих нейронів (рис. 8.4).

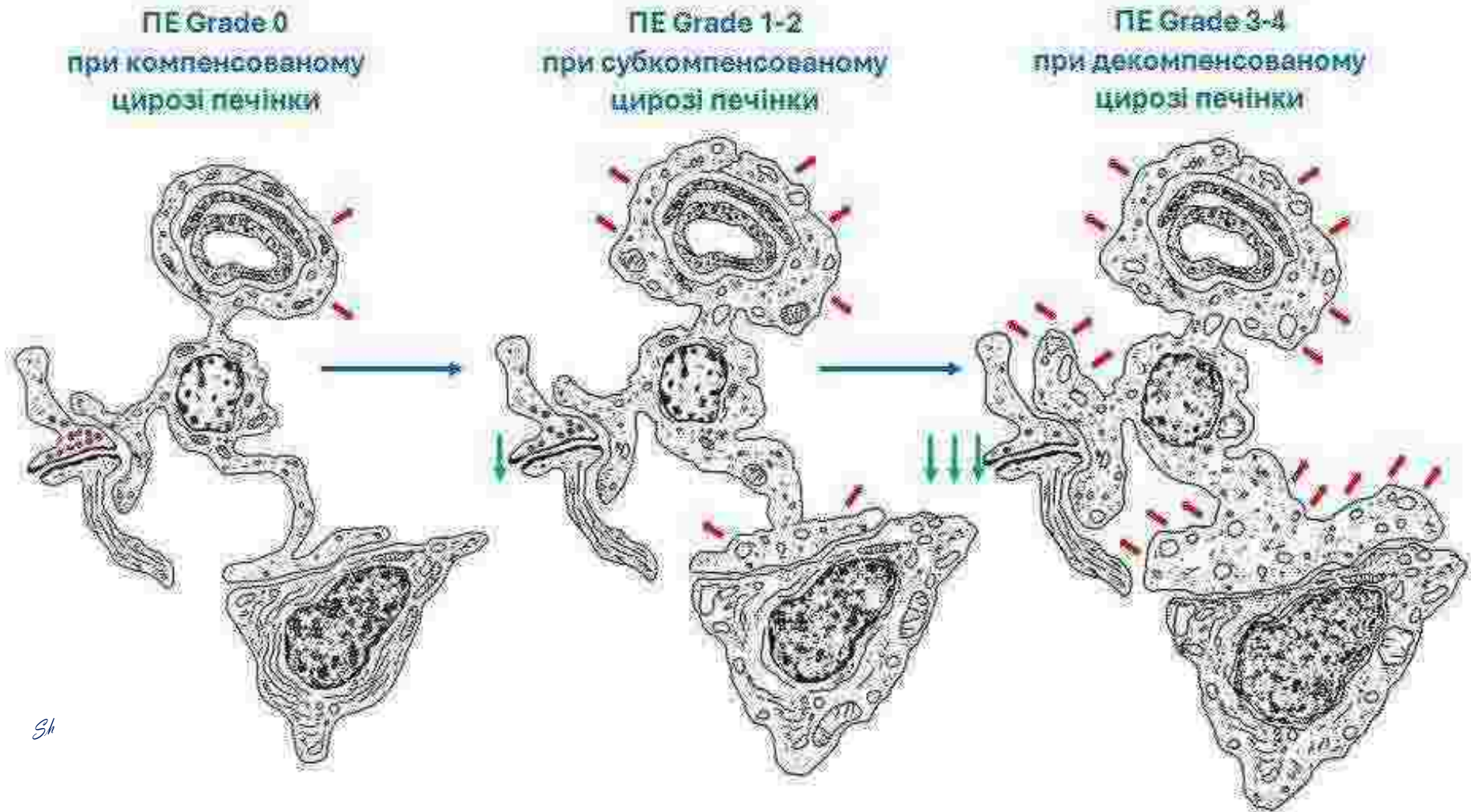


Рисунок 8.4 – Морфогенез набряку мозкової тканини і синаптичної дисфункції при прогресуванні печінкової енцефалопатії у хворих на цироз печінки.

Периферичне запалення є провідним чинником прогресування і розвитку гострої декомпенсації ЦП, в тому числі синдрому ГХпечН [215 40] і на противагу головній ролі гіперамоніємії у розвитку набряку ГМ при ПЕ активно обговорюється ключове значення системного запалення [216 41]. Так, декомпенсований ЦП зі спонтанним перитонітом, синдромом системної запальної відповіді (ССЗВ) або септицемією та високими рівнями ліпополісахариду (ЛПС) (класичного фактору пошкодження ГЕБ) крові характеризується прогресуючим вазогенним і цитотоксичним набряком ГМ [68]. При гострих і хронічних формах ПЕ (починаючи з доклінічної ПЕ) у крові хворих підвищуються прозапальні $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 , а також рівні системного і мозкових $\text{IL-1}\beta$ та VEGF , що прозапальним чином активують ендотелій ГЕБ, підвищують його проникність і індукують нейрозапальні реакції [68]. За даними проведеного нами аналізу прижиттєвих лабораторних даних померлих хворих, починаючи з легкої ПЕ G1-2 на стадії субкомпенсованого ЦП, у хворих нарастають ознаки системної запальної реакції, які при важкій ПЕ G3-4 на стадії декомпенсації ЦП та при синдромі ГХПечН були найвиразнішими (лейкоцитоз, підвищення ЛП, ШОЕ) і частіше за все були обумовлені пневмонією або спонтанним бактеріальним перитонітом. Передбачається, що ССЗВ при ГпечН і ХпечН не обмежується «периферією», а залучає ГМ, розгортаючись там нейрозапальною відповіддю [68].

За результатами проведеного нами комплексного дослідження, починаючи з прихованої ПЕ при компенсованому ЦП без лабораторних ознак системної запальної реакції в мікрогліальній популяції вже відбувається поступове збільшення площі, займаної позасудинними CD68^+ клітинами, а також збільшення серед них відсотку амебоїдних CD68^+ форм. Трансмембранний лізосомальний макросіалін (CD68) вважається маркером макрофагів, і експресія його мікроглією більшістю дослідників оцінюється як ознака їх імунної реактивності і, перш за все, активації програм фагоцитозу [217, 218]. Суттєвий відсоток CD68^+ -наглядових мікрогліоцитів з розгалуженою морфологією в ГМ померлих осіб контрольної групи та у

померлих з ПЕ вказує на те, що незважаючи на «наглядний» неактивний морфотип мікрогліоцитів, вони при цьому можуть знаходитися в стані імунної реактивності, навіть не проявляючи морфологічних ознак фагоцитозу. Амебоїдна трансформація мікроглії (збільшення перикаріону, округлення тіла клітини, вкорочення відростків) разом з позитивною експресією в них CD68 вважаються морфологічним проявом активації програм фагоцитозу в мікроглії [217]. У померлих хворих на легку ПЕ G1-2 нами було відзначено подальше зростання і площі позасудинної CD68-мікроглії, і відсотку CD68⁺-амебоїдних клітин, в той час як у хворих з важкою ПЕ G3-4 відзначалася чітка тенденція до зниження обидвох показників, а в таламусі і смугастому тілі (одні з найбільш «аміак-чутливих» відділів) це зниження було достовірним, відображаючи пригнічувальний вплив аміаку на програми фагоцитозу.

Подібну мікрогліальну реактивну пластичність можна було спостерігати у AILF-щурів, у яких на 16 год експерименту достовірно зріс відсоток CD68⁺ амебоїдних клітин в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі, смугастому тілі ГМ щурів виключно летальної підгрупи, а з 18 год – зросла площа позасудинної CD68⁺-мікроглії в білій речовині ВПГМ і смугастому тілі щурів обох підгруп. За результатами ЕМ, в корі ВПГМ AILF-щурів виявлено всього 4 морфотипи мікроглії: розгалужений наглядний (патрульний) та 3 реактивних, що відображали її адаптивну пластичність: амебоїдний, паличковидний та гіпертрофічно-подібний (рис. 8.5). Незважаючи на позитивну експресію CD68 амебоїдними мікрогліоцитами, при ЕМ дослідженні мікрогліальні перикаріони всіх морфотипів лише іноді містили фагоцитарні включення або ендосомоподібні структури і ніколи не включали великі ліпідні тільця або гранули ліпофусцину. У тварин летальної підгрупи до 77% кіркової популяції мікроглії зберегли свій наглядний морфотип, який був вищим, ніж в нелетальній підгрупі, що можна пояснити коротшим періодом спостереження за тваринами летальної підгрупи і браком часу для відстроченої реактивності. Реактивні нейрозапальні фенотипові зміни мікроглії на тлі гіперамоніємії та системного запалення були також описані іншими дослідниками [69].

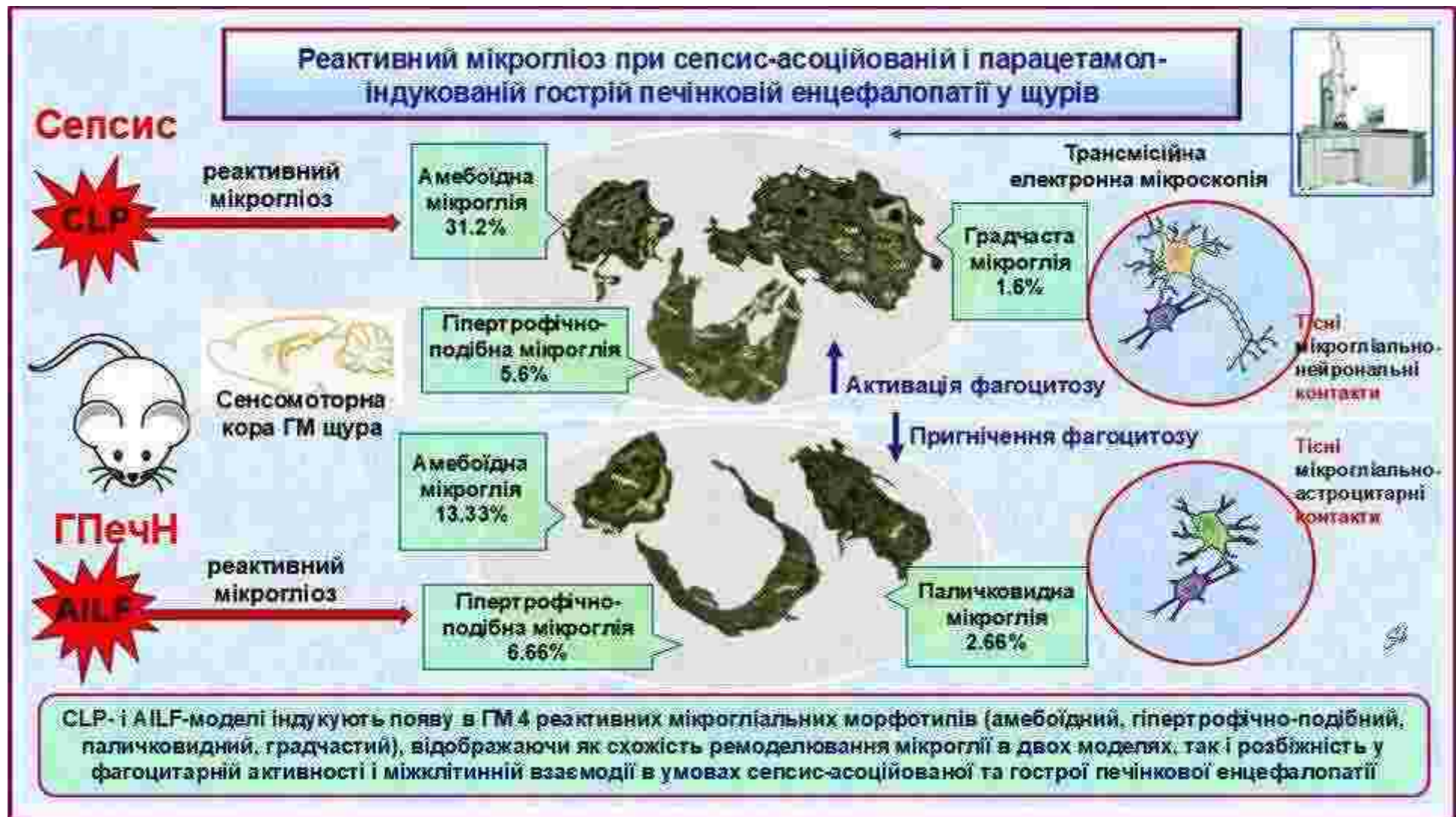


Рисунок 8.5 - Мікрогліальні реактивні морфотипи кори ВПГМ щурів в CLP і AILF експериментальних моделях.

Ультраструктурні особливості амебоїдної мікроглії передбачають активний фагоцитоз, але без великого об'єму цитоплазми і накопичення ліпідних крапель і ліпофусцину [219], що ми використовували для диференціації амебоїдних клітин від гіпертрофічних і градчастих форм. Амебоїдна мікроглія у дорослому мозку зазвичай бере участь у фагоцитозі і очищенні некротичних уламків після пошкодження тканин, і, ймовірно, несе нейропротекторний потенціал, що було підтверджено при патологіях з нейрозапальним компонентом [220–221]. Однак точний внесок цього морфотипу в прогресування нейропатологій є досить спірним через його здатність виділяти набір прозапальних нейротоксичних молекул [222].

Більше того, численні дослідження демонструють реактивність резидентної мікроглії у відповідь на системні запальні сигнали (наприклад, введення LPS та/або живих бактерій, CLP) без морфотипової категоризації реактивних клітин але з секрецією високих рівнів TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, CCL-22 та нітритних/нітратних молекул [222–226], що індукують окислювальний стрес, метаболічні зсуви та загибель клітин.

Амебоїдна мікроглія в нашій AILF-моделі частіше за все прямо чи опосередковано контактувала з астроцитарними компартментами і зрідка – з перикаріонами нейронів і судинними стінками. Прямі з'єднання амебоїдної мікроглії з набряклими астроцитарними перикаріонами виявлені вже на 12 год після введення парацеамолу і у деяких випадках були асоційовані із взаємним зміщенням критичних субклітинних структур ближче до клітинного контакту, що вказувало на тісну міжклітинну взаємодію.

Крім того, розширення перинуклеарного простору в деяких амебоїдних мікрогліальних сателітах, що прилягали до астроцитів, може відображати високі показники клітинного стресу в мікроглії, адже зовнішня мембрана ядерної оболонки примикає до гранулярного ЕПР і перинуклеарний простір може розширюватися, ймовірно, внаслідок стрес-асоційованого розширення ЕПР. Нейрони кори ВПГМ AILF-щурів з частковою ішемічною конденсацією ЕПР. Нейрони кори ВПГМ AILF-щурів з частковою ішемічною конденсацією взаємодіяли з амебоїдною мікроглією через астрогліальних посередників та

поблизу місць контактів демонстрували утворення комплексів органел, що включали мітохондрії, вакуолярні структури, а також мембрани гранулярного ЕПР, утворюючи подобу активно функціонуючих кластерів, призначених, ймовірно, для реципрокного обміну сигнальними молекулами між клітинами. У щурів летальної «AILF-B» підгрупи ультраструктура астроцитів, що контактували з мікроглією, не мала ознак активації ендосомального апарату, що, скоріше за все, було пов'язано з їх набряковими змінами і метаболічною недостатністю. Відомо, що астроцити є координаторами нейрозапальних реакцій, регулюючи пластичність мікрогліальних фенотипів [223]. У присутності хлориду амонію (NH_4Cl) астроцити знижують активацію ЛПС-індукованого мікрогліального прозапального $\text{IL-1}\alpha/\beta$, $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 і CD14 у спільних культурах [224]. Під час нейрозапалення, комунікація астроцитів і мікроглії, опосередкована мікрогліальними рецепторами P2Y_{12} і P2Y_6 , індукує мікрогліальний фагоцитоз [219]. З урахуванням цього, показана нами рання аміак/глутамін-асоційована астрогліальна дисфункція при ПЕ може потенційно обумовлювати часткову нечутливість мікроглії та/або втрату її функцій, що спостерігалось в нашому дослідженні у AILF-щурів та при важкій ПЕ у померлих хворих з декомпенсованим ЦП. Відповідно, суттєве зниження фагоцитарного статусу мікроглії в ГМ хворих з важкою ПЕ (порівняно з легкою ПЕ), а також більш суттєве пригнічення фагоцитозу в таламусі і смугастому тілі ГМ хворих з важкою ПЕ можна пояснити надвисокими рівнями тканинного аміаку та найбільш виразними ознаками первинної астроцитарної недостатності і, відповідно, вторинної мікрогліальної дисфункції при важкій ПЕ в «аміак-чутливих» відділах ГМ.

Класична паличковидна мікроглія, вперше описана більше століття тому, була названа через її біполярний, витягнутий і звужений паличкоподібний вигляд з довгими, тонкими, поляризованими відростками. Незважаючи на їх раннє відкриття, функціональний спектр цього морфотипу досі залишається невідомим [219]. Паличковидна мікроглія була описана в корі та гіпокампі при старінні і нейродегенерації [225], а також виявлена при підгострому

склерозуючому паненцефаліті, хворобі Вільсона та енцефаліті Расмуссена [219]. Її морфологія була описана лише на світлооптичному рівні, і до сьогодні не існувало ультраструктурних критеріїв ідентифікації цих клітин. Таким чином, соматичні профілі мікрогліальних клітин звуженої, подовженої форми з сигароподібними ядрами були визначені нами як паличковидна мікроглія. У AILF-щурів паличковидні тіла мікрогліоцитів та їх основні відростки не мали ознак фагоцитозу та не спостерігалися поблизу нейрональних тіл або аксонів. Однак, паличковидна мікроглія контактувала з астроцитарними нейропільними відростками та набряклими астроцитарними тілами, демонструючи реципрокні структурні перебудови. Паличковидна мікроглія була виявлена лише у тварин, нелетальної «AILF-A» підгрупи, що, ймовірно, пов'язує цей морфотип із більш доброякісним перебігом захворювання.

Поряд із пізньою появою паличковидної мікроглії, гіпертрофічно-подібний морфотип також був виявлений нами лише через 20 год після введення парацетамолу, що є проявом часової залежності пластичності мікроглії при ГПечН. Гіпертрофічний морфотип мікроглії був описаний на світлооптичному рівні як великі клітини з широким перикаріоном, збільшеним ядром, короткими та товстими відростками, що переважають за розмірами наглядову та амебоїдну мікроглію і частіше є ознакою нейрозапалення [219], однак можуть з'явитися під час фізіологічної структурної пластичності [226]. Припускається, що гіпертрофічна мікроглія є сенсibiliзованою і, отже, здатна індукувати надмірну реакцію на запальне середовище [227]. В нашому дослідженні цей морфотип був описаний на світлооптичному рівні у померлих хворих при ПЕ G1-2 і ПЕ G3-4 навколо нейронів та судин МЦР. Їх цитоплазма і відростки експресували CD68, що вказувало на імунну активацію в них програм фагоцитозу. В нелетальній і летальній підгрупах AILF-щурів відсоткова частка гіпертрофічно-подібного морфотипу була ідентичною і незначною (10%). Такі мікрогліоцити контактували з мікросудинами з ознаками пошкодження ГЕБ: асиметричним набряком астрогліальних відростків, селективною конденсацією/набряканням ендотелію, розширенням

базальних мембран. Ми припускаємо, що гіпертрофічно-подібна мікроглія є результатом реактивних трансформацій юкставаскулярної мікроглії, яка приймає участь в утворенні *glia limitans vascularis*, пов'язана зі стінками артеріол, венул та капілярів [228] і у реактивному стані може активно рухатися уздовж судинних стінок [219].

В сукупності, вищеописані особливості мікрогліальної пластичності свідчать про те, що хронічна і гостра гепатогенна аміак-асоційована нейроінтоксикація призводить до збільшення популяцій імунно-активованої мікроглії зі зниженою спроможністю до реалізації програм фагоцитозу, що підтверджується результатами секційних і експериментальних *in vivo* досліджень групи Zemtsova I. et al. [171], які показали, що в умовах гострої і хронічної гіперамоніємії відбувається активація мікроглії з підвищенням експресії Iba-1, але зниженням на 65% фагоцитозу латексних часточок. Можна припустити, що зниження активності фагоцитозу в мікроглії може бути обумовлене аміак-асоційованими змінами рН лізосомального вмісту [171], що також було описане вище для ендосомальної функціональності і програм аутофагії астроцитів в цих же умовах [193].

В нашому дослідженні отримані нові клініко-морфологічні характеристики найважчої форми гострої декомпенсації ЦП – синдрому ГХПечН, клінічні критерії якого все ще переглядаються, незважаючи на більш ніж десятирічні дослідження. Спираючись на визначення і класифікацію ГХПечН Європейської асоціації з вивчення захворювань печінки [36], ми визначили, що у 70% померлих хворих з декомпенсованим ЦП та важкою G3-4 ПЕ спостерігався цей синдром, що підкреслює його важливе значення в танатогенезі хворих при декомпенсації ЦП. Результати патологоанатомічного аналізу історій хвороби показали, що при ГХПечН частіше за все відбувається поєднання прогресуючої гострої печінкової, циркуляторної, легеневої та ниркової дисфункції/недостатності, а патоморфологічні прояви ПЕ G3-4 мають максимальну виразність серед інших випадків важкої ПЕ: максимальна вага ГМ за рахунок набряку; розповсюджене порушення мозкової

мікроциркуляції; висока кількість фокусів енцефалолізису, мікрокрововиливів в корі та білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку; найбільші ГХ показники тканинного аміаку та площі набрякових просторів; найвиразніші гістологічні і ІГХ зміни клітин ГНБК. Вираженість морфологічних змін при ГХПечН можна пояснити комплексним впливом СПОН та присутністю фактору системного запалення, кожне з яких само по собі може спричинити розвиток танатогенетично важливої енцефалопатії.

Взаємозв'язки описаних нами морфологічних змін ГНБК з рівнем тканинного аміаку в ГМ були підтверджені кореляційним аналізом, в результаті якого встановлено, що достовірність і сила цих взаємозв'язків залежали від тяжкості ПЕ та досліджуваного відділу ГМ. Найбільш чутливим критерієм гепатогенних аміак-асоційованих морфологічних змін нервової тканини став Альцгеймер2-астроцитоз, який разом із підвищенням рівня тканинного аміаку з'явився ще на доклінічній стадії ПЕ при компенсованому ЦП, що вказує на особливу патологоанатомічну діагностичну цінність цих параметрів для ранніх стадій ПЕ. Достовірні взаємозв'язки між іншими вищеописаними параметрами тканини ГМ померлих хворих встановлювалися в усіх його досліджених відділах переважно тільки починаючи зі стадії легкої ПЕ G1-2. Так, нами вперше було доведено прямий зв'язок між рівнем аміаку та рівнем GS, AQP4, кількістю AT, розширенням периваскулярних і перицелюлярних просторів, відсотком Casp3⁺ нейронів, площею позасудинної експресії CD68 і відсотком CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів (до легкої ПЕ при субкомпенсованому ЦП). Зворотній зв'язок було доведено між рівнем тканинного аміаку і рівнем астроцитарного GFAP, нейронального синаптофізину та (при важкій ПЕ і декомпенсованому ЦП) площею експресії CD68 і відсотком амебоїдної мікроглії.

Отримані дані свідчать про те, що починаючи з доклінічної стадії ПЕ при компенсованому ЦП в тканині ГМ, особливо в таламусі, смугастому тілі, мозочку, корі ВПГМ і в меншій мірі в гіпокампі та білій речовині ВПГМ підвищується рівень тканинного аміаку та ініціює комплекс реактивних змін

ГНВК, які нарастають з декомпенсацією ЦП та розвитком СПОН і обумовлюють тяжкість проявів ПЕ. Психоневрологічні прояви ПЕ G1-4 (в тому числі зниження свідомості) обумовлені наростаючим аміак-асоційованим зниженням синаптичної передачі та апоптозом нейронів на тлі астроцитарної недостатності і розвитку вазогенного, а при важкій ПЕ – цитотоксичного набряку ГМ. Виразне аміак-асоційоване ремоделювання астроцитів характеризується активацією експресії GS та AQP4, зниженням експресії GFAP-позитивних гліофібрил, а також дисфункцією глімфатичної системи з накопиченням АТ у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках ГМ. Ультраструктурними ознаками астрогліального ремоделювання в умовах моделі ГПечН є значний асиметричний набряк периваскулярних та виразні набрякові зміни перинейрональних і нейропільних відростків астроцитів, а у тварин нелетальної підгрупи, в астроцитах зі збереженою ультраструктурою – адаптивна активація ендосомально-екзосомального транспорту у вигляді накопичення MBT у периваскулярних відростках. Мікрогліальна пластичність у вигляді помірного зростання площі експресії CD68⁺ і відсотку амебоїдних форм на ультраструктурному рівні представлена 3 реактивними морфотипами майже без ознак активного фагоцитозу. Серед них амебоїдні мікрогліоцити найбільш часто встановлювали міжклітинні контакти з астроцитами, і меншій мірі – з тілами нейронів і компонентами судинних стінок.

Узагальнена схема морфологічних змін нейронів, астроцитів і мікроглії при прогресуванні ПЕ від стадії G0 до G3-4 представлена на рисунку 8.6.

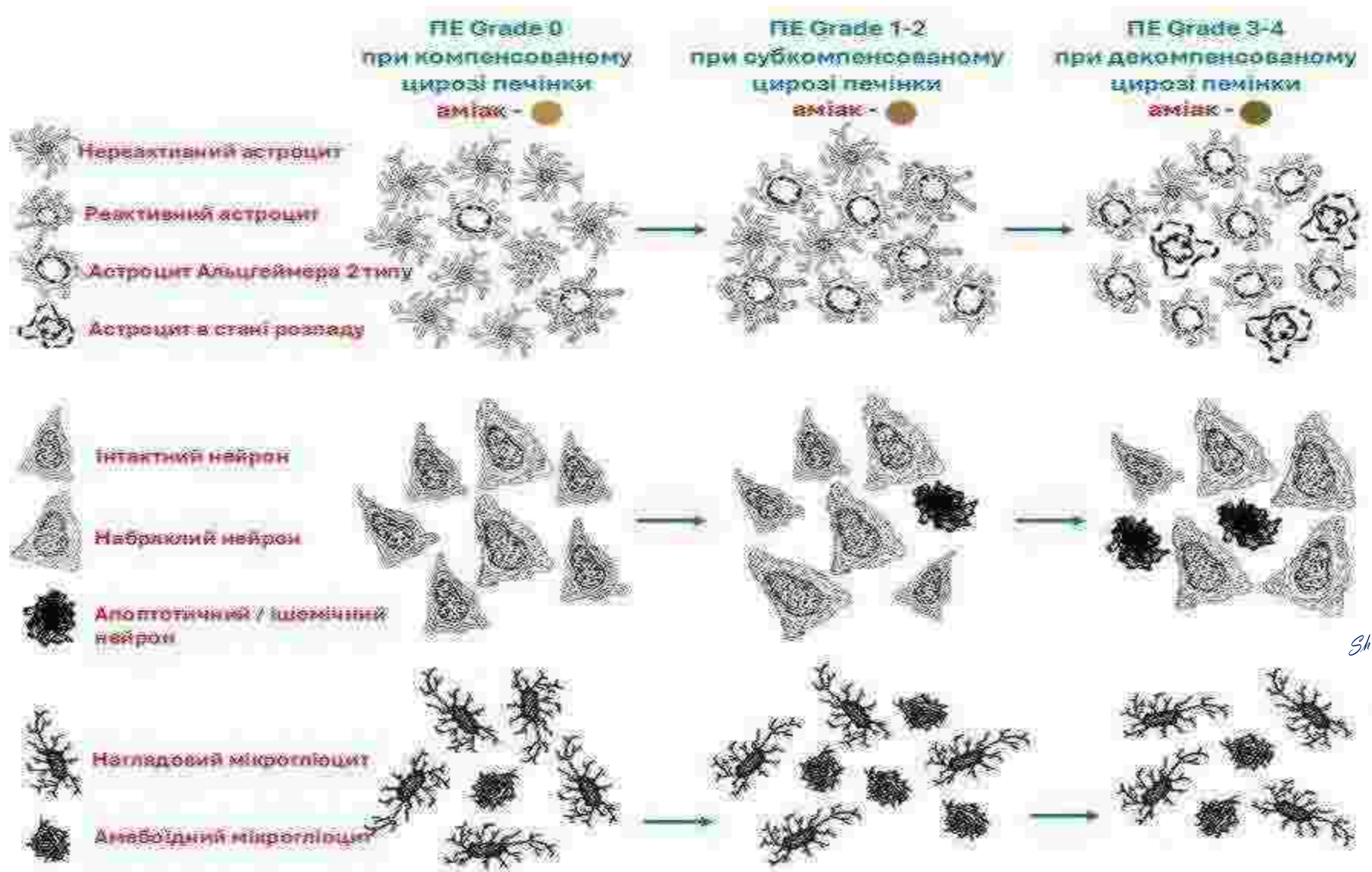


Рисунок 8.6 – Морфогенетичні зміни астроцитів, нейронів і мікроглії при прогресуванні ПЕ при цирозі печінки.

Нами встановлено, що прогресування ПЕ до легкого ступеня G1-2 при субкомпенсованому ЦП на тлі більш суттєвого зростання рівня тканинного аміаку, ПГ і ПХ змін ГНБК також проявлялося появою одиничних дрібновогнищевих крововиливів та фокусів енцефалолізису в таламусі, смугастому тілі, корі ВПГМ. Важкі форми ПЕ G3-4 характеризувалися максимально виразними набряковими змінами тканини ГМ, більш чисельними мікрогеморагіями та вогнищами енцефалолізису на тлі розповсюдженого запустіння судин МЦР, максимальних рівнів тканинного аміаку і асоційованих змін ГНБК.

Для ретроспективної патологоанатомічної діагностики ПЕ за допомогою ROC-аналізу нами вперше було визначено порогові посмертні показники ГХ експресії аміаку в тканині найбільш «аміак-чутливих» відділів ГМ померлих хворих на ЦП, які достовірно вказували на високу ймовірність у хворих прижиттєвих ознак ПЕ G1-4: в корі ВПГМ (> 29.67 УООЩ); в таламусі (> 34.18 УООЩ); в смугастому тілі (> 28.1 УООЩ); в мозочку (> 32.65 УООЩ).

При аналізі клінічних умов, в яких розвивалася прихована ПЕ G0 на тлі компенсованого ЦП, було встановлено, що більшість випадків характеризувалися моноорганною дисфункцією печінки, що проявлялося достовірним підвищенням медіанних рівнів загального білірубіну та АСТ. У великій кількості хворих з легкою ПЕ G1-2 та субкомпенсованим ЦП спостерігалася поєднана або конкуруюча патологія та їх ускладнення, що зумовлювало розвиток в них суттєвих гомеостатичних зсувів та поглиблення шкідливого впливу гепатогенних факторів: підвищення рівнів загального білірубіну, АСТ, АЛТ, прогресування гіпопротеїнемії, гіпоальбумінемії, коагулопатії поєднувалося з анемією, тромбоцитопенією, зниженням кількості лейкоцитів з тенденцією до лейкопенії, підвищенням рівня креатиніну, а також підвищенням ШОЕ. У хворих з важкою ПЕ G3-4 на стадії декомпенсованого ЦП окрім подальшого прогресування показників печінкової дисфункції/недостатності, прогресування анемії та тромбоцитопенії,

відзначено приєднання ознак більш важкої ниркової дисфункції/недостатності, гіпокаліємії, гіпонатріємії та прогресування системної запальної відповіді у вигляді суттєвого зростання ШОЕ, ЛПІ та зміну лейкопенії на лейкоцитоз. В результаті аналізу клініко-лабораторних даних померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 на тлі декомпенсованого ЦП стало зрозуміло, що у 70% з них смерть настала в умовах гострої декомпенсації ЦП у вигляді синдрому так званої гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності, одним з головних критеріїв якої є обов'язкове поєднання СПОН з ознаками системної запальної відповіді.

Для проспективної патологоанатомічної діагностики ПЕ під час аналізу клініко-анатомічних даних історій хвороби померлих хворих на ЦП за допомогою ROC-аналізу нами вперше було визначено порогові значення прижиттєвих показників крові, які достовірно прогнозують підвищену ГХ експресію аміаку в посмертній тканині таламусу (в якому розвиваються найбільш виразні патоморфологічні зміни при ПЕ): 1) рівень загального білірубіну плазми >39.4 мкмоль/л; 2) рівень АСТ >1.25 мкмоль/(сек*л); 3) рівень АЛТ >0.94 мкмоль/(сек*л); 4) рівень ШОЕ >19 мм/год; 5) показник ЛПІ >1.92 од.; 6) рівень креатиніну плазми >144.79 мкмоль/л.

Клініко-морфологічне дослідження сепсис-асоційованої енцефалопатії без гнійного ураження ГМ у 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис з прижиттєвим зниженням свідомості нижче 15 балів за ШКГ, без печінкової або іншої токсичної патології в анамнезі показало, що САЕ завжди розвивається у складі СПОН, іншими компонентами якого частіше за все виступають: дихальна, ниркова, печінкова, циркуляторної та коагуляційна дисфункція/недостатність.

В нещодавньому дослідженні Lu X. et al. [75] автори спробували класифікувати САЕ за чотирма клініко-патофізіологічними фенотипами: 1) ішемічно-гіпоксичний (при гіпоксемії та септичному шоці); 2) метаболічний (сироватковий азот сечовини $> 17,85$ ммоль/л, або глюкоза $< 2,5$ ммоль/л, або МНО $> 2,5$ і АСТ або АЛТ > 200 Од/л, або натрій $<120/>160$ ммоль/л); 3) змішаний (ішемічно-гіпоксичний + метаболічний); 4) некласифікований.

Авторами зазначено, що змішаний варіант САЕ є найбільш небезпечним в плані летального прогнозу. Враховуючи характеристику органної недостатності, що прижиттєво спостерігалася у хворих нашої когорти, можна припустити, що в складі СПОН не було жодного метаболічного варіанту САЕ, і спостерігалися лише ішемічно-гіпоксичний та змішаний типи зі значним переважанням останнього, що вказує на те, що в умовах важкого перебігу сепсису з САЕ та летальним наслідком визначальну роль грає саме поєднання різних механізмів нейроагресії ЦНС.

В нашому дослідженні патоморфологічним підтвердженням метаболічного компонента змішаного фенотипу САЕ виявилось слабе та помірне підвищення рівня аміаку в таламусі, мозочоку, корі ВПГМ та, в меншій мірі, гіпокампі померлих хворих на абдомінальний сепсис. Враховуючи те, що в 57% випадків у померлих хворих спостерігалися клініко-патоморфологічні ознаки сепсис-асоційованого пошкодження печінки, накопичення аміаку в тканині ГМ, скоріше за все, було обумовлене печінковою дисфункцією/недостатністю, що розвинулася в цих умовах. Окрім цього, нещодавні дослідження показали, що у критично хворих пацієнтів відділень інтенсивної терапії (ВІТ), у тому числі в умовах сепсису, гіперамоніємія може бути спричинена станами, не пов'язаними з печінковою недостатністю – «непечінкова гіперамоніємія» (НПГА) [229], причинами якої може бути підвищення продукції, вроджене та набуте зниження метаболізму та екскреції аміаку [230]. Підвищена продукція аміаку в умовах сепсису може бути обумовлена нутриціональними і ентеральними причинами, гастроінтестинальною кровотечею, злоякісною пухлиною з високим катаболічним статусом, уреазо-продукуючими інфекціями сечового тракту і позасечової локалізації, хемотерапією. Знижена екскреція аміаку в умовах сепсису може бути внаслідок гострої або хронічної ниркової недостатності, нерозпізнаних вроджених або набутих дефектів циклу сечовини, лікування анестетиками, анальгетиками та іншими фармпрепаратами [229]. Зазначені стани можуть спричинити смертельно небезпечну гіперамоніємію, але

внаслідок їх відносної рідкості частота діагностованої НПГА у ВІТ-пацієнтів залишається на низькому рівні. З іншого боку, останнє може бути зумовлене відсутністю моніторингу аміаку плазми у критично хворих пацієнтів без ознак враження печінки [229].

Найбільш вірогідними причинами НПГА у досліджених нами септичних хворих могли бути прижиттєва ниркова дисфункція/недостатність (за шкалою SOFA мала місце у 63% хворих), гастроінтестинальна кровотеча (мала місце у 31% хворих) та парентеральне харчування (у всіх хворих). Ішемічно-гіпоксичний механізм змін НГВК при САЕ мав місце майже у всіх досліджених нами хворих, враховуючи те, що 78% хворих мали прижиттєві прояви циркуляторної недостатності, поєднаної з дихальною недостатністю (у 75% спостережень). Виразність ішемічного компонента змін НГВК при САЕ була обумовлена порушеннями гемомікроциркуляції: наявністю тромбозу окремих судин МЦР та розповсюдженого вогнищового спадіння та запусіння мікросудин з розвитком у 60% хворих дрібних вогнищ енцефалолізісу та у 63% померлих хворих – дрібновогнищевих петехіальних мікрокрововиливів. Такі порушення кровообігу були асоційовані з ішемічними змінами нейронів та підвищенням відсотку апоптотично змінених caspase3⁺ нейронів в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі та мозочку померлих хворих. Серед цих відділів ГМ тенденція до найбільшого зростання відсотку апоптотичних нейронів була відзначена в гіпокампі, як однієї з найбільш чутливих до гіпоксії структур ГМ, а також відділу ГМ, що входить до переліку найбільш вразливих при САЕ [77]. Отримані результати підтверджують сучасні дані про зростання апоптозу нейронів гіпокампу CLP-мишей внаслідок пригнічення активності шаперон-медійованої аутофагії за p-CREB-BDNF/Bcl-2 сигнальним шляхом [231], зростання ліпокалін-2-залежного апоптозу нейронів [232], а також загибелі нейронів шляхом некроптозу [233] в гіпокампі септичних мишей. Незважаючи на те, що у ЛПС-моделі САЕ гризунів когнітивний дефіцит був в тому числі асоційований зі зниженням експресії білку пресинаптичних везикул синаптофізину і синаптичною дисфункцією [232], в нашому дослідженні,

середні показники оптичної щільності Syn в міжнейронних синапсах досліджених відділів ГМ померлих хворих групи «САЕ» мала лише тенденцію до зниження і статистично не відрізнялася від контролю, що може вказувати на менш значимий вклад синаптичної мальфункції в розвитку психоневрологічного дефіциту у хворих з САЕ. Ультраструктурно в корі ВПГМ CLP-щурів суттєва частка нейронів характеризувалася ішемічними змінами, які дуже характерні для САЕ [234]: електронно-щільною цитоплазмою, помірним каріопікнозом, набряклими або ущільненими мітохондріями, з розширенням цистерн ЕПР та перинейрональним гліальним сателітозом. Також визначалися групи нейронів з незначним набряком цитоплазми і помірним набуханням просвітлених ядер та поодинокі гіперхромні нейрони з нормальними ядрами. У щурів летальної підгрупи «CLP-B» патологічно змінені нейрони були більш розповсюдженими, а у окремих тварин на кордоні нижніх шарів кори ВПГМ і прилеглої білої речовини було визначено нечисленні дрібні вогнища енцелалолізу.

Слабке і помірне підвищення тканинного аміаку в 6-ти досліджених відділах ГМ померлих хворих з САЕ асоціювалося з характерними змінами нейроглії, які були описані для ПЕ при гепатогенній нейроінтоксикації, але мали свої особливості.

За даними сучасних експериментальних досліджень, саме нейрозапальні механізми є визначальними у розвитку САЕ і їх реалізація оркеструється перш за все реактивними популяціями астроглії, що першими з клітин мозкової тканини постають на шляху системних тригерів у вигляді термінальної астроглії ГЕБ, гемато-лікворного і лікворно-енцефалічного бар'єрів. Під час сепсису астроцити, будучи активованими праймованими ендотеліоцитами, перицитами, периваскулярними лімфоцитами та макрофагами, зазнають пластичності і створюють картину реактивного астрогліозу, підвищуючи експресію GFAP та AQP4 [170], що підтверджено нашими ІГХ дослідженнями ГМ померлих хворих з САЕ та ГМ CLP-щурів. Патологічна експресія астроцитарної GS при САЕ описана в одиничних роботах, з яких відомо, що в

умовах сепсису TLR4/NF- κ B індукує пригнічення альфа-кетоглутарату, що в свою чергу, призводить до H3K27me3 метілюванню та зниженню синтезу GS та асоціюється з підвищенням прозапального впливу макрофагів [235]. Зважаючи на те, що мікроглія представляє основну популяцію макрофагів ГМ, вірогідно, підвищення експресії GS в нашому дослідженні, що спостерігалось в усіх досліджених відділах ГМ померлих хворих на сепсис, а також в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі та мозочку CLP-щурів, може вказувати на адаптивну протизапальну реакцію астроцитів для корекції токсичного фенотипу мікроглії. Також тенденція до максимальних рівнів експресії GS в таламусі, мозочку та корі ВПГМ померлих хворих та CLP-щурів вказує на компенсаторне підвищення аміак-детоксифікуючого пулу GS в найбільш «аміак-чутливих» відділах ГМ, що також підтверджено появою там помірного та слабкого Альцгеймер-2 астроцитозу. Вказане поєднання може розцінюватися типовим морфологічним проявом гепатогенного нейротоксикозу, що спостерігався більш ніж у половині випадків досліджуваної септичної когорти хворих та у CLP-щурів і був підтверджений сепсис-асоційованим пошкодженням печінки.

На відміну від ПЕ, і незважаючи на слабе або помірне підвищення рівня тканинного аміаку, при САЕ аберантна експресія GFAP мала протилежну спрямованість. В усіх 6-ти досліджених відділах ГМ померлих хворих з САЕ, а також ГМ CLP-щурів (окрім таламусу) відзначалося підвищення експресії GFAP, при цьому, в таламусі і мозочку спостерігалася тенденція до найменш виразного підвищення експресії, а в білій речовині і корі ВПГМ та гіпокампі - максимальний приріст. Нейрозапалення при САЕ реалізується за рахунок каскаду васкуло-гліо-нейрональної стимуляції, взаємної потенціації і пошкодження, і підвищення експресії GFAP за рахунок збільшення кількості GFAP⁺-астроцитів та їх відростків, з перекриттям територій сусідніх астроцитарних доменів є яскравим проявом нейрозапального реактивного анізоморфного астрогліозу [170]. Останній також може бути пояснений ішемічно-гіпоксичним пошкодженням нервової тканини з розвитком

дрібновогнищевому реактивному гліофіброзу [236] навколо невеликих фокусів енцефалолізу, що спостерігалися в нашому дослідженні в корі, білій речовині ВПГМ, гіпокампі, мозочку померлих септичних хворих і в кірково-підкіркових зонах ВПГМ CLP-щурів. Найбільше підвищення експресії GFAP в білій речовині, корі ВПГМ та гіпокампі померлих септичних хворих підтверджує вищезгадані нейроанатомічні спостереження інших авторів щодо більш суттєвого враження цих відділів ГМ при САЕ [77]. З іншого боку, найменше зростання площі експресії GFAP в таламусі та мозочку може бути пояснено зниженим синтезом цитоскелетного білку під інгібуючим впливом більш високих концентрацій тканинного аміаку [181] в цих зонах. Незважаючи на помірне підвищення концентрації тканинного аміаку в корі ВПГМ, експресія GFAP в цьому відділі також виявилася достовірно підвищеною. Можна припустити, що при САЕ це пов'язано з більшою виразністю нейрозапального процесу та ішемічно-гіпоксичних змін мозкової тканини в корі ВПГМ, що вимагає більшої напруженості і тривалості процесів адаптивного реактивного астрогліозу попри аміачне середовище.

Підвищення експресії AQP4 в астроцитах всіх шести досліджених відділів ГМ померлих хворих на сепсис з САЕ, а також CLP-щурів в поєднанні з наростанням в них середньої площі «набрякових» тканинних просторів вказує на набрякові зміни мозкової тканини, що можуть мати як вазогенний, так і цитотоксичний механізм, і бути пов'язаними як з ішемія-індукованою, так і аміак-індукованою гіперекспресією AQP4, водним перевантаженням і глутамін-обумовленим гіперосмолярним набряканням периваскулярної та нейропільної астроглії [237]. Аналогічно аберантній експресії AQP4 при ПЕ, збільшення площі експресії AQP4 при САЕ було асоційовано з більшою кількістю AQP4-імунопозитивних астроцитів серед нейропільних, нетермінальних популяцій і перерозподілом водних каналів в плазматичній мембрані перикаріонів («феномен дисрегуляції AQP4»). Цікаво, що тенденція до найбільшого підвищення AQP4 спостерігалася в білій речовині ВПГМ та таламусі. Якщо останнє можна пов'язати з найвищими рівнями тканинного

аміаку, то перше, скоріше за все, пояснюється більш виразними гіпоксично-ішемічними механізмами індукції аквапорину [238]. При цьому, розширення «набрякових просторів» мозкової тканини (за рахунок набряку периваскулярних і нейропільних, перинейрональних астроцитарних відростків) було приблизно однаково виражено серед досліджених відділів з максимальними значеннями в таламусі та мозочку. Відсутність виразного набряку в білій речовині ВПГМ померлих хворих з САЕ (незважаючи на максимальні рівні експресії там AQP4) можна пояснити низькими рівнями аміаку в білій речовині ВПГМ, що нівелює глютаміно-осмотичний механізм і залишає лише роль ішемічно-індукованої гіперекспресії AQP4.

Незначне накопичення амілоїдних тілець в таламусі та мозочку померлих хворих на сепсис з САЕ вказує на розвиток помірної астроцитарної недостатності та дисфункції глімфатичної системи цих відділів з накопиченням в тканині астроцитогенних продуктів утилізації тканинного метаболізму та розпаду, що не піддаються дренажу в субарахноїдальні простори [208]. Вибірковість накопичення АТ в цих відділах ГМ при САЕ може бути пов'язана з більш високими рівнями тканинного аміаку, що спостерігається в них і, відповідно, більш виразним пошкодженням нейронів, синаптичних апаратів і самої астроглії.

Ультраструктурні зміни астроцитів ГМ CLP-щурів починаються вже на 20 год після операції з наростання набрякового розширення профілів переважно астроцитарних кінцевих периваскулярних ніжок і меншій мірі – нейропільних та перинейрональних астроцитарних відростків, що вказувало на переважання вазогенного набряку. В більш ультраструктурно збережених кортикальних астроцитах щурів нелетальної підгрупи спостерігалось достовірне збільшення до 4.5 разів (порівняно з контролем) кількості MBT і перерозподілом їх в астроцитарні капілярні ніжки, що було типовою ознакою астрогліальної ультраструктури в тварин нелетальної підгрупи і вказує на напруженість адаптивної мозок-системної сигналізації реактивної астроглії в умовах САЕ. В астроцитах кори ГМ щурів летальної підгрупи також

визначалося дане явище, але зростання кількості MBT було менш виразним (див. рис. 8.3).

У реалізації нейрозапальних механізмів пошкодження мозкової тканини при САЕ головну роль грає реактивна пластичність мікроглії [239]. Мікроглія є головними клітинами ГМ, що експресують «рецептори розпізнавання паттернів» (pattern recognition receptors, PRR), такі як toll-подібні (TLRs) і nod-подібні (NLRs) рецептори для розпізнавання накопичувальних PAMP і DAMP [240]. Експериментально і клінічно було доведено, що при САЕ відбувається швидка реактивність мікроглії і за допомогою TLR (переважно TLR2 і TLR4), діючи через MyD88-залежний сигнальний каскад, запускається шлях NF- κ B/MAPK, що веде до секреції прозапальних молекул, включаючи TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12 та IFN γ [222 241 240 242]. Нещодавні дослідження посмертного матеріалу ГМ експериментальних септичних тварин та померлих хворих на сепсис з САЕ продемонстрували раннє регіон-залежне збільшення кількості CD68⁺-амебоїдної мікроглії в білій речовині, хвостатому ядрі/скорлупі, корі, гіпокампі та мозочку [239 241 243]. Результати проведеного нами ІГХ дослідження секційного і експериментального матеріалу частково підтвердили дані літератури щодо найбільшого підвищення експресії CD68 реактивною мікроглією та максимального відсотка CD68⁺ амебоїдної мікроглії в певних відділах ГМ, а саме: в корі, білій речовині ВПГМ та гіпокампі померлих хворих на сепсис з САЕ та в корі, білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ CLP-щурів. Вказані тенденції вказують на більш виразну реактивність мікрогліальних популяцій цих відділів ГМ та активацію в них процесів фагоцитозу, що може бути пов'язано як з більш суттєвим ішемічно-гіпоксичним і нейрозапальним пошкодженням нервової тканини кори, білої речовини і гіпокампу, а також підкреслюють інгібуючий вплив більш високих концентрацій тканинного аміаку в таламусі та мозочку на фагоцитарні властивості їх мікрогліальних популяцій. Переважання кількості амебоїдної мікроглії в білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі щурів летальної підгрупи над аналогічним показником щурів нелетальної підгрупи може

вказувати як на можливий більш шкідливий «прозапальний» фенотип амебоїдної мікроглії в умовах САЕ, так і на більшу реактивність мікроглії у відповідь на більш значущі деструктивні зміни нервової тканини у щурів летальної підгрупи.

Ультраструктурно в моделі CLP нами було описано 3 реактивних морфотипи мікроглії (амебоїдна, гіпертрофічно-подібна та градчаста мікроглія), які, на відміну від моделі AILF, демонстрували субклітинні ознаки фагоцитарної активності.

Амебоїдний морфотип був другим за чисельністю серед усіх популяцій CLP-мікроглії після наглядного типу та домінував серед реактивних фенотипів з переважанням у щурів нелетальної підгрупи на 5% порівняно з щурами летальної підгрупи. Амебоїдна мікроглія часто зустрічалася в безпосередній близькості від ішемічно-змінених нейронів і встановлювала прямі контакти з їх відростками та перикаріонами. Накопичення ендосомальних структур і мітохондрій в нейрональних перикаріонах поблизу цих місць контакту, а також підвищена фагоцитарна активність мікрогліальних філоподій поблизу нейрональних перикаріонів свідчать про активну міжклітинну комунікацію. Двоспрямована взаємодія мікроглія-нейрон варіювалася від непрямого зв'язку через клітини-посередники (переважно астроцити) до прямих мембранних контактів, що представляють найбільш ефективну форму клітинної взаємодії [244 245], де нейрональна активність контролює рухливість мікрогліальних відростків [246 247]. Передбачається, що прямі мембранні мікрогліально-нейрональні контакти встановлюються у відповідь на нейрональні фагоцитарні, проапоптотичні або ексайтотоксичні сигнали [244]. У нашому дослідженні перикаріони ішемізованих конденсованих нейронів із мембранними контактами з тілами та/або філоподіями амебоїдної мікроглії характеризувалися більшою збереженістю ультраструктури, ніж нейрони без мікрогліальних сателітів. Такі нейрони перерозподілили частину своїх органел (мітохондрії, вакуолярні структури, мембрани гранулярної ЕПР), як це було описано в подібних контактах в AILF-

моделі. При субстратному голодуванні мікроглія характеризується надзвичайною метаболічною гнучкістю, споживаючи альтернативні метаболіти [248], тому може діяти як джерело дефіцитних метаболітів для нейронів, що потребують метаболічної підтримки – це узгоджується з нещодавно описаними нейропротективними соматичними мікрогліально-нейрональними контактами [249]. Також відомо, що мікрогліальні відростки тісно залучені до видалення перисоматичних синапсів [249], тому можна припустити, що ішемічна ексайтотоксичність під час САЕ може спонукати мікроглію видаляти пошкоджені та дисфункціональні соматичні синапси.

Більш пізнім проявом мікрогліальної реактивності в розвитку САЕ став гіпертрофічно-подібний морфотип, який був на 7.47% більш поширеним у тварин летальної підгрупи порівняно з нелетальною. Подібно до нейрональних контактів амебоїдної мікроглії, гіпертрофічно-подібна мікроглія також встановлювала прямі контакти з частково пошкодженими нейронами, які поблизу цих з'єднань формували скупчення мітохондрій, вільних рибосом, групи малих електронно-щільних гранул і мембрани гранулярного ЕПР. Ультраструктура таких нейронів відрізнялася відносною збереженістю, тоді як мікрогліальні сателіти часто демонстрували ознаки клітинного стресу, відображені розширенням цистерн гранулярного ЕПР [250–251]. Поруч з відростками гіпертрофічно-подібної мікроглії часто виявлялися кишені позаклітинного матриксу, що містили деградовані тканинні уламки [250]. У тварин нелетальної підгрупи гіпертрофічно-подібні фагоцитуючі мікрогліоцити, завантажені електронно-щільними включеннями, були безпосередньо пов'язані з венулярною стінкою з конденсацією ендотелію. Останнє відповідає сучасним уявленням про порушення ГЕБ під час системного запалення, яке може бути спровоковано пошкодженням ендотелію LPS-стимульованою мікроглією через NF- κ B та JAK-STAT шляхи [239].

Градчаста мікроглія, описана раніше як варіант вікових клітин [252], також спостерігалася при важких ураженнях ЦНС при системній інфекції [253]. В нашій CLP-моделі цей морфотип спорадично спостерігався в ГМ

щурів летальної підгрупи і для його ідентифікації ми використовували ЕМ-критерії, представлені командою Tremblay M.È. et al.: наявність в збільшених мікрогліюцитах принаймні однієї гранули ліпофусцину та більше чотирьох ліпідних тілець [254]. Накопичення цих включень у мікроглії у відповідь на прозапальні сигнали вважається маркером клітинного метаболічного стресу та ранньою ознакою нейрозапалення [254]. У нашій моделі градчаста мікроглія була виявлена в невеликих вогнищах декомпенсованого набряку з розпадом нейропілю та фрагментацією мієлінізованих аксонів. Значне навантаження ліпідними включеннями та ліпофусцином вказує на інтенсивну фагоцитарну активність градчастої мікроглії і відображає тяжкість пошкодження тканини.

Мікроглія та астроцити є потужними союзниками в модуляції нейрозапалення [255 256], визначаючи функціональний фенотип одне одного [257]. У CLP-щурів мікрогліально-астроцитарна взаємодія була представлена прямими мікрогліально-астроцитарними контактами перикаріонів та/або відростків усіх вищеописаних мікрогліальних морфотипів та астроцитарних нейропільних/периваскулярних відростків.

Для з'ясування впливу підвищеного рівня аміаку в ГМ померлих септичних хворих на патоморфологію САЕ та визначення ролі в цьому сепсис-асоційованого пошкодження печінки нами був проведений порівняльний аналіз реактивних аміак-асоційованих змін астроглії ГМ померлих септичних хворих з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки («САПП») та померлих септичних хворих без сепсис-асоційованого пошкодження печінки («бСАПП»). Визначено, що у померлих хворих підгрупи «САПП» ГХ експресія тканинного аміаку помірного і слабого ступеню, а також виразність А2-астроцитозу в усіх досліджених відділах ГМ достовірно перевищувала показники померлих септичних хворих підгрупи «бСАПП». У ГМ померлих хворих підгрупи «бСАПП» слабе підвищення рівня тканинного аміаку визначалося лише в таламусі, смугастому тілі та мозочку, а слабкий А2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ та таламусі (відповідно, патогномонічні ознаки гепатогенного пошкодження спостерігалися в найбільш «аміак-

чутливих» відділах ГМ, які першими реагують навіть на незначне зростання гепатогенного впливу). Одночасно з цим визначено, що у померлих хворих підгрупи «САПП» експресія GFAP астроцитами ГМ була достовірно слабшою, а рівні експресії GS і AQP4, навпаки, перевищували показники померлих хворих підгрупи «бСАПП», що вказує на чіткий зв'язок між сепсис-асоційованим пошкодженням печінки і аміак-асоційованими змінами астроглії, у великій мірі аналогічними тим, що були описані для печінкової енцефалопатії на тлі цирозу печінки.

В результаті виконаних досліджень нами отримані нові достовірні дані для диференційної патологоанатомічної діагностики сепсис-асоційованої та важкої G3-4 печінкової енцефалопатії при синдромі ГХПечН, морфологія яких не була описана в літературі. За результатами порівняльного аналізу (за χ^2) встановлено, що у померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 має місце достовірно вища (в порівнянні з САЕ) частота підвищеного рівня тканинного аміаку ($\chi^2=6.59$; $p = 0.0158$) і A2-астроцитозу ($\chi^2=6.98$; $p = 0.0123$) в таламусі, одночасно у всіх досліджених відділах ГМ визначається достовірно вищий рівень аміаку, експресії GS, більша кількість AA2 та AT. На протилежність цьому, у померлих хворих з САЕ (в порівнянні з важкою ПЕ G3-4) достовірно частіше зустрічається запусніння і спадіння мікросудин кори ВПГМ ($\chi^2=4.04$; $p = 0.0373$), а також петехіальні крововиливи в корі і білій речовині ВПГМ та в мозочку ($\chi^2=4.70$; $p = 0.0202$); в усіх досліджених відділах ГМ визначається достовірно вищий відсоток Casp3⁺ нейронів, більша площа CD68⁺ позасудинної мікроглії та відсоток амебоїдної мікроглії, а також вища експресія GFAP та синаптофізину.

Узагальнена схема визначених змін ГНБК при печінковій і сепсис-асоційованій енцефалопатіях представлена на рисунку 8.7.

САПП	бСАПП	САЕ	Характеристика ГНВК	ПЕ Grade 0	ПЕ Grade 1-2	ПЕ Grade 3-4
↑ Аміак	N / ↑ Аміак	N / ↑ Аміак		↑ Аміак	↑↑ Аміак	↑↑↑ Аміак
↑↑ GS	↑ GS	↑↑ GS	астроцити	↑ GS	↑↑ GS	↑↑↑ GS
↑↑ AQP4	↑ AQP4	↑↑ AQP4		↑ AQP4	↑↑ AQP4	↑↑↑ AQP4
N / ↑ GFAP	↑↑ GFAP	↑↑ GFAP		↓ GFAP	↓↓ GFAP	↓↓↓ GFAP
↑ AA2	N AA2	↑ AA2 ↑ AT		↑ AA2 N AT	↑↑ AA2 ↑ AT	↑↑↑ AA2 ↑↑↑ AT
Не досліджувалося	Не досліджувалося	↑↑↑ Caspase-3 N Synaptophysin	нейрони	N Caspase-3 N Synaptophysin	↑ Caspase-3 ↓ Synaptophysin	↑↑ Caspase-3 ↓↓ Synaptophysin
Не досліджувалося	Не досліджувалося	↑↑ S rel.% CD68 ↑↑↑ амеб.м. CD68	мікроглія	↑ S rel.% CD68 ↑ амеб.м. CD68	↑↑ S rel.% CD68 ↑↑ амеб.м. CD68	↑ S rel.% CD68 ↑ амеб.м. CD68
Не досліджувалося	Не досліджувалося	↑↑↑ ПВП > ПЦП	набряк	↑ ПВП > ПЦП	↑↑ ПВП > ПЦП	↑↑↑ ПВП < ПЦП

Рисунок 8.7 - Зміни гліонейроваскулярного комплексу при прогресуванні ПЕ при цирозі печінки та при САЕ.

ВИСНОВКИ

Незважаючи на високу частоту енцефалопатій, які ускладнюють перебіг поліорганної недостатності і підвищують летальність хворих, морфогенез і патологоанатомічні прояви енцефалопатії при печінковій недостатності та сепсис-асоційованої енцефалопатії на сьогодні розроблені недостатньо.

В дисертації вирішується актуальне питання патологічної анатомії щодо морфогенезу, патоморфологічної характеристики і патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії різного ступеня тяжкості при цирозі печінки та енцефалопатії при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень головного мозку.

1. Ініціюючу роль в розвитку печінкової енцефалопатії при цирозі печінки відіграє підвищення рівня сироваткового аміаку, який депонується в нервовій тканині і гістохімічно виявляється реактивом Неслера у вигляді дрібнозернистих амонійних преципітатів. У померлих хворих з клінічно прихованою печінковою енцефалопатією G0 і компенсованим цирозом печінки визначається слабко вища за показники померлих осіб контрольної групи експресія аміаку (в 1.49 рази – в корі ВПГМ, в 1.38 рази – в таламусі, в 1.32 рази – в смугастому тілі, в 1.48 рази – в мозочку; $p < 0.05$), її показники підвищуються і сягають максимуму при важкій G3-4 енцефалопатії, при якій експресія аміаку перевищує показники померлих групи контролю в усіх 6-ти досліджених відділах ГМ: від 1.9 разів у білій речовині ВПГМ до 6.18 разів у мозочку; $p < 0.05$.

2. За результатами кореляційного аналізу підвищення експресії аміаку в головному мозку асоційовано з п'ятьма взаємно пов'язаними морфогенетичними процесами, що прогресують по мірі зростання клінічних проявів ПЕ від прихованої G0 до легкої G1-2 та до важкої G3-4 ПЕ: 1) зі складним ремоделюванням астроцитів: зростанням експресії аміак-детоксикуючої астроцитарної глютамінсинтази GS; зниженням експресії

астроцитарного цитоскелетного білку GFAP; появою Альцгеймер2-астроцитозу різного ступеню; 2) з прогресуванням набряку головного мозку (зростання ваги ГМ при важкій енцефалопатії; гіперекспресія білку водних каналів AQP4; розширення площі периваскулярних і перицелюлярних просторів); 3) зі зниженням синаптичної передачі (гіпоекспресія синаптофізину) і зростанням кількості Casp3⁺-апоптотичних нейронів; 4) з реактивацією мікроглії (гіперекспресія CD68 позасудинною мікроглією та зростання частки CD68⁺ амебоїдних форм); 5) з дисфункцією глімфатичної системи (зростання кількості амілоїдних тілець у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках ГМ); $p < 0.05$.

3. У померлих хворих на компенсований ЦП з клінічно прихованою G0 ПЕ та прижиттєво підвищеними в плазмі крові рівнями загального білірубину і АСТ визначається слабо підвищена експресія аміаку в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку; слабкий Альцгеймер2-астроцитоз в таламусі, смугастому тілі та мозочку; знижена до 2.19 разів експресія GFAP та підвищені до 2.36 разів експресія GS і до 2.62 разів AQP4 в астроцитах; збільшені до 1.54 разів площа позасудинної CD68⁺ мікроглії та до 2.32 разів відсоток амебоїдної CD68⁺ мікроглії; $p < 0.05$.

4. У померлих хворих з легкою G1-2 ПЕ при субкомпенсованому ЦП з прижиттєво підвищеними рівнями загального білірубину та активності АСТ і АЛТ, зниженими протромбіновим індексом, рівнями загального білку, альбуміну, гемоглобіну, еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів та підвищеним креатиніном і ШОЕ, в корі ВПГМ і гіпокампі визначається слабка, а в таламусі, смугастому тілі та мозочку – помірна експресія аміаку; помірний A2-астроцитоз в корі ВПГМ, таламусі і в мозочку та слабкий A2-астроцитоз смугастому тілі; знижена до 5.13 разів експресія GFAP та підвищена до 3.62 разів експресія GS і до 3.73 разів AQP4; збільшений до 2.4 разів відсоток Casp3⁺-нейронів та знижена до 1.36 разів експресія синаптофізину; збільшені до 2.22 разів площа позасудинної CD68⁺ мікроглії та до 2.35 разів відсоток амебоїдної CD68⁺

мікроглії; розширена до 4.08 разів площа периваскулярних і перицелюлярних просторів та накопичення амілоїдних тілець; $p < 0.05$.

5. У померлих хворих з важкою G3-4 ПЕ при декомпенсованому ЦП з прижиттєво підвищеними рівнями загального білірубіну, АСТ і АЛТ, креатиніну, сечовини, зниженим протромбіновим індексом, рівнями загального білку, альбуміну, гемоглобіну, еритроцитів, тромбоцитів, гіпонатріємією і гіпокаліємією, лейкоцитозом, підвищеними ШОЕ та лейкоцитарним індексом інтоксикації визначається слабка (в білій речовині ВПГМ), помірна (в корі ВПГМ і гіпокампі) та сильна (в таламусі, смугастому тілі та мозочку) експресія аміаку; виразний A2-астроцитоз в таламусі, мозочку, смугастому тілі та корі ВПГМ, помірний A2-астроцитоз у білій речовині ВПГМ і слабкий A2-астроцитоз в гіпокампі; знижена до 6.74 разів експресія GFAP та підвищена до 4.35 разів експресія GS і до 4.34 разів AQP4; збільшена до 4.07 разів частка Casp3⁺-нейронів та знижена до 1.93 разів експресія синаптофізину; помірно збільшені площа позасудинної CD68⁺ мікроглії та відсоток амебоїдної мікроглії; максимально (до 10.11 разів) розширені периваскулярні і перицелюлярні простори в усіх досліджених відділах ГМ з переважанням в чотири рази більшої площі перицелюлярних просторів; підвищена до 6 разів кількість амілоїдних тілець; $p < 0.05$.

6. У померлих хворих з важкою G3-4 ПЕ у складі синдрому гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності при декомпенсованому ЦП, у яких гостра печінкова недостатність прогресувала на тлі поєднаної циркуляторної (у 90% хворих), легеневої (у 76% хворих) та ниркової (у 66% хворих) недостатності, експресія аміаку в ГМ до 6 разів перевищує показники осіб контрольної групи, що асоційовано з максимальними змінами патоморфологічних параметрів, за винятком експресії GFAP, зниження якої є помірним. Через набряк вага ГМ померлих хворих на 15.78% перевищує показники контролю, визначаються порушення гемомікроциркуляції: в корі ВПГМ частіше ($\chi^2=4.21$) спостерігаються ділянки запусілих мікросудин, відсоток яких в 3.99 рази перевищує контроль, також визначається більша частота мікрокрововиливів

($\chi^2=6.04$) і дрібних фокусів енцефалолізису ($\chi^2=14.32$) в корі та білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку; $p<0.05$.

7. За результатами кореляційного аналізу найбільш чутливою аміак-асоційованою зміною нервової тканини, що виявляється ще на клінічно прихованій стадії ПЕ G0 при компенсованому ЦП і слабкому підвищенні експресії аміаку, є Альцгеймер2-астроцитоз. Починаючи з легкої G1-2 ПЕ визначаються також інші достовірні ($p<0.05$) взаємозв'язки: прямий зв'язок між рівнем тканинного аміаку та експресією GS, AQP4, кількістю амілоїдних тілець, розширенням периваскулярних і перицелюлярних просторів, відсотком Casp3⁺-нейронів; зворотній зв'язок – між рівнем тканинного аміаку та експресією GFAP, синаптофізину. Прямий зв'язок між рівнем аміаку та позасудинною експресією CD68 і відсотком CD68⁺ амебоїдної мікроглії при легкій G1-2 ПЕ змінюється на зворотній при важкій G3-4 ПЕ.

8. За відсутності в клінічному діагнозі ПЕ при патологоанатомічному розтині померлих хворих на ЦП на високу ймовірність ($p<0.05$) її наявності за життя хворих вказує підвищена експресія аміаку в таламусі (> 34.18 УООЩ), в корі ВПГМ (> 29.67 УООЩ), в смугастому тілі (> 28.1 УООЩ), в мозочку (> 32.65 УООЩ). Підвищена експресія аміаку в таламусі асоційована з комплексом прижиттєво підвищених лабораторних показників крові: загального білірубіну >39.4 мкмоль/л, АСТ >1.25 мкмоль/(сек*л), АЛТ >0.94 мкмоль/(сек*л), креатиніну >144.79 мкмоль/л, ШОЕ >19 мм/год та показника ЛП >1.92 од. ($p<0.05$).

9. При гострій ПЕ на тлі модельованої парацетамол-індукованої гострої печінкової недостатності (AILF-модель) у всіх досліджених відділах ГМ щурів визначається збільшена (до 2.99 разів у таламусі) площа розширених через набряк периваскулярних, нейропільних і перинейрональних відростків астроцитів; виявляється запусніння і спадіння частки мікросудин; помірний набряк або рідше – ішемічне ущільнення та конденсація ядра і цитоплазми нейронів. Визначається підвищена експресія GS і AQP4 (максимально в корі ВПГМ: в 3.52 рази і в 5.05 рази, відповідно); знижена експресія GFAP

(максимально в корі ВПГМ і таламусі: в 6.47 рази і в 6.26 рази, відповідно); а також збільшена кількість Альцгеймер2-астроцитів; $p < 0.05$. В цитоплазмі ультраструктурно збережених астроцитів ГМ щурів нелетальної підгрупи виявляється помірне накопичення і переміщення в периваскулярні відростки мультивезикулярних тілець. Реактивна мікроглія представлена амебоїдними (33%), паличковидними (10%) і гіпертрофічно-подібними (20%) мікрогліоцитами з низькою фагоцитарною активністю, а також підвищенням до 1.58 разів відсотку $CD68^+$ амебоїдної мікроглії в корі і в білій речовині ВПГМ, гіпокампі, смугастому тілі та збільшенням до 3.16 разів площі позасудинної $CD68^+$ мікроглії в білій речовині ВПГМ та смугастому тілі.

10. Сепсис-асоційована енцефалопатія без гнійних уражень ГМ розвивається та тлі токсинемії і поліорганної недостатності (поєднання циркуляторної, легеневої, ниркової, печінкової та коагуляційної недостатності у 22% померлих хворих). В ГМ померлих хворих частіше порівняно з контролем виявляються запустілі мікросудини ($\chi^2=18.69$) з вищим в 6.87 разів їх відсотком в корі ВПГМ та дрібновогнищеві крововиливи ($\chi^2=19.29$) і локуси енцефалолізису ($\chi^2=23.98$) в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі, мозочку. Визначається помірний набряк-набухання ГМ зі збільшеною на 10.27% вагою ГМ та неглибокою странгуляційною борозною в мигдаликах мозочку у 66% осіб, значно розширені площі периваскулярних і перицелюлярних просторів у всіх досліджених відділах ГМ (максимально до 10.47 разів – в таламусі), а також збільшений відсоток $Casp3^+$ -нейронів (максимально до 4.16 разів – в гіпокампі). Реєструється підвищена експресія в астроцитах GFAP (максимально до 2.92 разів – в корі ВПГМ), GS (максимально до 2.34 разів – в таламусі) та AQP4 (максимально до 5 разів – в білій речовині ВПГМ), дисфункція глімфатичної системи (зі збільшенням до 2 разів кількості амілоїдних тілець в таламусі, смугастому тілі та мозочку), а також збільшення площі позасудинної $CD68^+$ мікроглії та відсотку амебоїдної $CD68^+$ мікроглії у всіх досліджених відділах ГМ (до 5.79 разів та до 4.74 разів, відповідно); $p < 0.05$.

11. У померлих хворих з САЕ при абдомінальному сепсисі з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки в ГМ визначається слабо або помірно підвищена експресія аміаку та А2-астроцитоз (слабкий – в білій речовині ВПГМ, гіпокампі; помірний – в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку, $p < 0.05$). Рівні тканинного аміаку, А2-астроцитозу, експресії GS і AQP4 в астроцитах достовірно ($p < 0.05$) перевищують аналогічні показники померлих септичних хворих без сепсис-асоційованого пошкодження печінки, у яких слабе підвищення експресії аміаку визначається лише в таламусі, смугастому тілі та мозочку, а слабкий А2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ і в таламусі.

12. При сепсис-асоційованій енцефалопатії на тлі CLP-модельованого абдомінального сепсису в ГМ щурів визначаються вогнища запустіння мікросудин з набряком або коагуляційним некрозом окремих ендотеліоцитів; ішемічне ущільнення цитоплазми і каріопікноз, рідше – набряк та цитолітичні зміни деяких нейронів, а також збільшена до 2.42 разів площа розширених периваскулярних і перицелюлярних ніжок астроцитів. В астроцитах усіх досліджених відділів ГМ виявляється підвищена експресія GFAP, AQP4 та GS (максимально – в корі ВПГМ: до 6.25, 3.34 та до 1.69 разів, відповідно); $p < 0.05$. У щурів летальної CLP-підгрупи реєструється підвищена кількість Альцгеймер2-астроцитів (максимально до 4 разів – в таламусі). В цитоплазмі астроцитів кори ВПГМ щурів збільшується кількість мультивезикулярних тілець (максимально – до 4.5 разів у щурів нелетальної підгрупи) з їх перерозподілом у периваскулярні відростки. Реактивна мікроглія представлена амебоїдною (71.51%) і гіпертрофічно-подібною (14.75%) мікроглією, що контактує переважно з ішемічно-пошкодженими нейронами, а також фагоцитуючою градчастою (4.44%) мікроглією; виявляється підвищена (до 1.85 разів) частка CD68⁺ амебоїдної мікроглії та збільшена (до 5.66 разів) площа позасудинної CD68⁺ мікроглії в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ; $p < 0.05$.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії у померлих хворих на цироз печінки рекомендується:

1.1. При розтині померлого хворого звернути увагу на наявність макроскопічних ознак помірного набряку-набухання або набряку головного мозку та взяти пластини/шматочки кори великих півкуль головного мозку, таламусу, смугастого тіла та мозочка, в яких стабільно реєструються патогномонічні ознаки енцефалопатії, і зафіксувати їх в 10% нейтральному формаліні подальших для мікроскопічних, гістохімічних і імуногістохімічних досліджень.

1.2. Важливою доказовою ознакою печінкового генезу енцефалопатії є гістохімічне виявлення реактивом Неслера в досліджених відділах ГМ дрібнозернистих амонійних преципітатів значної оптичної щільності, які свідчать про підвищення рівня сироваткового аміаку, що проник через гемато-енцефалічний бар'єр і депонувався в нервовій тканині.

1.3. Патогномонічними ознаками печінкової енцефалопатії, які виявляються у рекомендованих відділах ГМ при мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, є слабкий або виразний Альцгеймер-2 астроцитоз, розширена площа периваскулярних і перицелюлярних просторів, підвищений відсоток апоптотичних нейронів, накопичення амілоїдних тілець у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках головного мозку; а також виявляються при мікроскопії імуногістохімічних препаратів - підвищена експресія астроцитами аміак-детоксуючої глютамінсинтази, білку водних каналів AQP4 і знижена експресія гліофібрилярного білку GFAP, значне число Casp3-позитивних апоптотичних нейронів і знижена експресія синаптофізину, а також підвищена кількість активованих CD68-позитивних позасудинних і амебоїдних мікрогліоцитів.

1.4. Про наявність у померлого хворого на цироз печінки печінкової енцефалопатії додатково свідчить асоційований з підвищеним рівнем

тканинного аміаку в таламусі головного мозку наступний комплекс прижиттєво підвищених лабораторних параметрів крові з його історії хвороби (рівень загального білірубину плазми >39.4 мкмоль/л; АСТ >1.25 мкмоль/(сек*л); АЛТ >0.94 мкмоль/(сек*л); креатиніну плазми >144.79 мкмоль/л; ШОЕ >19 мм/год; показника ЛП >1.92 од.).

2. При патологоанатомічній діагностиці сепсис-асоційованої енцефалопатії у померлих хворих на абдомінальний сепсис без гнійних уражень ЦНС рекомендується врахувати наступне:

2.1. В морфогенезі сепсис-асоційованої енцефалопатії без гнійних уражень ЦНС провідну роль відіграє системне запалення та тлі токсинемії і поліорганної недостатності (поєднання циркуляторної, легеневої, ниркової, печінкової та коагуляційної недостатності). В патологоанатомічних проявах сепсис-асоційованої енцефалопатії при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ЦНС переважають ознаки порушень мозкової гемомікроциркуляції (спадіння, запусіння, тромбоз мікросудин; петехіальні крововиливи і локуси енцефалолізису), макро-мікроскопічні ознаки набряку головного мозку, а також збільшений відсоток апоптотичних нейронів, виразні реактивні зміни нейроглії (підвищена експресія астроцитами AQP4, гліофібрилярного білку GFAP, глутамінсинтази), збільшення кількості реактивної, в тому числі амебоїдної, мікроглії та помірне збільшення кількості амілоїдних тілець.

2.2. Треба враховувати, що якщо в структурі поліорганної недостатності при абдомінальному сепсисі без гнійних уражень ЦНС фігурує сепсис-асоційована печінкова недостатність, то в патоморфологічних проявах сепсис-асоційованої енцефалопатії може визначатися слабо/помірно підвищена гістохімічна експресія церебрального аміаку, слабкий/помірний Альцгеймер-2 астроцитоз та зниження експресії астроцитарного GFAP.

3. При диференційній патологоанатомічній діагностиці сепсис-асоційованої та важкої G3-4 печінкової енцефалопатії при синдромі ГХПечН доцільно враховувати наступні відмінності:

3.1. У померлих хворих з важкою ПЕ G3-4 визначається достовірно вища (в порівнянні з сепсис-асоційованою енцефалопатією) частота підвищеного рівня тканинного аміаку ($\chi^2=6.59$; $p = 0.0158$) та A2-астроцитозу ($\chi^2=6.98$; $p = 0.0123$) в таламусі, а також має місце достовірно вищий медіанний рівень ГХ експресії аміаку, ІГХ експресії GS, більша кількість A2 астроцитів та амیلіодних тілець у всіх досліджених відділах ГМ.

3.2. В ГМ померлих хворих з сепсис-асоційованою енцефалопатією (в порівнянні з важкою ПЕ G3-4) достовірно частіше зустрічається спадіння і запусіння мікросудин кори ВПГМ ($\chi^2=4.04$; $p = 0.0373$), петехіальні крововиливи в корі і білій речовині ВПГМ та мозочку ($\chi^2=4.70$; $p = 0.0202$), визначається достовірно вищий відсоток Casp3⁺ апоптотичних нейронів, більша площа CD68⁺ позасудинних мікрогліоцитів та відсоткова частка CD68⁺ амебоїдних мікрогліоцитів, вища експресія GFAP та синаптофізину.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. European Association for the Study of the Liver (2022). EASL Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy. *Journal of hepatology*, 77(3), 807–824. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.06.001>
2. Sonnevile, R., Benghanem, S., Jeantin, L., de Montmollin, E., Doman, M., Gaudemer, A., Thy, M., & Timsit, J. F. (2023). The spectrum of sepsis-associated encephalopathy: a clinical perspective. *Critical care (London, England)*, 27(1), 386. <https://doi.org/10.1186/s13054-023-04655-8>
3. Carter, B. L., & Underwood, J. (2022). Sepsis and the brain: a review for acute and general physicians. *Clinical medicine (London, England)*, 22(5), 392–395. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2022-0346>
4. Singer, B. H., Dickson, R. P., Denstaedt, S. J., Newstead, M. W., Kim, K., Falkowski, N. R., Erb-Downward, J. R., Schmidt, T. M., Huffnagle, G. B., & Standiford, T. J. (2018). Bacterial Dissemination to the Brain in Sepsis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 197(6), 747–756. <https://doi.org/10.1164/rccm.201708-1559OC>
5. Туманський, В. О., Марковський, В. Д., Сорокіна, І. В. (2015). Патоморфологія: нац. підруч. Київ: ВСВ «Медицина», 936 с. ISBN^978-617-505-450-5
6. Hirode, G., Vittinghoff, E., & Wong, R. J. (2019). Increasing Burden of Hepatic Encephalopathy Among Hospitalized Adults: An Analysis of the 2010-2014 National Inpatient Sample. *Digestive diseases and sciences*, 64(6), 1448–1457. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05576-9>
7. Singer M et al. (2016) The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 315:801-810 doi:10.1001/jama.2016.0287

8. Butterworth R. F. (2019). Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis: Pathology and Pathophysiology. *Drugs*, 79(Suppl 1), 17–21. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1017-0>
9. Mazeraud, A., Righy, C., Bouchereau, E., Benghanem, S., Bozza, F. A., & Sharshar, T. (2020). Septic-Associated Encephalopathy: a Comprehensive Review. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 17(2), 392–403. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00862-1>
10. McCandless, D.W. (2009). Metabolic Encephalopathy. Springer New York, NY, 601. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-79112-8>
11. Mullen, K.D., Prakash, R.K. (2012). Hepatic Encephalopathy. Humana New York, NY, 250. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-836-8>
12. Bajaj, J.S. (2018). Diagnosis and Management of Hepatic Encephalopathy. Springer Cham, 160. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-76798-7>
13. Sobel, R. A., DeArmond, S. J., Forno, L. S., & Eng, L. F. (1981). Glial fibrillary acidic protein in hepatic encephalopathy. An immunohistochemical study. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 40(6), 625–632. <https://doi.org/10.1097/00005072-198111000-00004>
14. Thumburu, K. K., Taneja, S., Vasishta, R. K., & Dhiman, R. K. (2012). Neuropathology of acute liver failure. *Neurochemistry international*, 60(7), 672–675. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.10.013>
15. Lim, C. G., Hahm, M. H., & Lee, H. J. (2023). Hepatic encephalopathy on magnetic resonance imaging and its uncertain differential diagnoses: a narrative review. *Journal of Yeungnam medical science*, 40(2), 136–145. <https://doi.org/10.12701/jyms.2022.00689>
16. Al Jasser, A. N., & Al Adwani, N. I. (2018). Bilateral thalamic lesions in hepatic encephalopathy. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, 23(2), 165–167. <https://doi.org/10.17712/nsj.2018.2.20170562>
17. Agarwal, A. N., & Mais, D. D. (2019). Sensitivity and Specificity of Alzheimer Type II Astrocytes in Hepatic Encephalopathy. *Archives of pathology &*

laboratory medicine, 143(10), 1256–1258. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0455-OA>

18. Popek, M., Obara-Michlewska, M., Szewczyk, Ł. M., Kołodziej, M., Perlejewski, K., Verkhatsky, A., Albrecht, J., & Zielińska, M. (2025). Oedematic-atrophic astrocytes in hepatic encephalopathy. *Acta neuropathologica communications*, 13(1), 122. <https://doi.org/10.1186/s40478-025-02045-5>
19. Erkinen, M. G., & Berkowitz, A. L. (2019). A Clinical Approach to Diagnosing Encephalopathy. *The American journal of medicine*, 132(10), 1142–1147. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.07.001>
20. <https://e-mis.com.ua/mkx-10>
21. <https://icd.who.int/browse/2025-01/mms/en#1942289108>
22. Hadjihambi, A., Arias, N., Sheikh, M., & Jalan, R. (2018). Hepatic encephalopathy: a critical current review. *Hepatology international*, 12(Suppl 1), 135–147. <https://doi.org/10.1007/s12072-017-9812-3>
23. Elwir, S., & Rahimi, R. S. (2017). Hepatic Encephalopathy: An Update on the Pathophysiology and Therapeutic Options. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 5(2), 142–151. <http://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00069>
24. Wendon, J., Cordoba, J., Dhawan, A., Larsen, F., Manns, M., Nevens, F., Samuel, D., Simpson, K., Yaron, I. and Bernardi, M. (2017). EASL Clinical Practical Guidelines on the management of acute (fulminant) liver failure. *Journal of Hepatology*, 66(5), pp.1047-1081. <http://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.003>
25. Rose, C. F., Amodio, P., Bajaj, J. S., Dhiman, R. K., Montagnese, S., Taylor-Robinson, S. D., Vilstrup, H., & Jalan, R. (2020). Hepatic encephalopathy: Novel insights into classification, pathophysiology and therapy. *Journal of hepatology*, 73(6), 1526–1547. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.07.013>
26. Vilstrup, H., Amodio, P., Bajaj, J., Cordoba, J., Ferenci, P., Mullen, K., Weissenborn, K. and Wong, P. (2014). Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*, 60(2), pp.715-735. <http://doi.org/10.1002/hep.27210>

27. Ramachandran, A., & Jaeschke, H. (2017). Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology. *Journal of Clinical and Translational Research*, 3 (Suppl 1), 157-169. <http://doi.org/10.18053/jctres.03.2017S1.002>
28. Allampati, S., Duarte-Rojo, A., Thacker, L. R., Patidar, K. R., White, M. B., Klair, J. S., John, B., Heuman, D. M., Wade, J. B., Flud, C., O'Shea, R., Gavis, E. A., Unser, A. B., & Bajaj, J. S. (2016). Diagnosis of Minimal Hepatic Encephalopathy Using Stroop EncephalApp: A Multicenter US-Based, Norm-Based Study. *The American journal of gastroenterology*, 111(1), 78–86. <https://doi.org/10.1038/ajg.2015.377>
29. Jain, S., & Iverson, L. M. (2023). Glasgow Coma Scale. In StatPearls. StatPearls Publishing. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30020670/>
30. Ruf, A., Dirchwolf, M., & Freeman, R. B. (2022). From Child-Pugh to MELD score and beyond: Taking a walk down memory lane. *Annals of hepatology*, 27(1), 100535. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2021.100535>
31. Wan, S. Z., Nie, Y., Zhang, Y., Liu, C., & Zhu, X. (2020). Assessing the Prognostic Performance of the Child-Pugh, Model for End-Stage Liver Disease, and Albumin-Bilirubin Scores in Patients with Decompensated Cirrhosis: A Large Asian Cohort from Gastroenterology Department. *Disease markers*, 2020, 5193028. <https://doi.org/10.1155/2020/5193028>
32. Moreau, R., Jalan, R., Gines, P., Pavesi, M., Angeli, P., Cordoba, J., Durand, F., Gustot, T., Saliba, F., Domenicali, M., Gerbes, A., Wendon, J., Alessandria, C., Laleman, W., Zeuzem, S., Trebicka, J., Bernardi, M., Arroyo, V., & CANONIC Study Investigators of the EASL–CLIF Consortium (2013). Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology*, 144(7), 1426–1437.e14379. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.042>
33. Villanueva, C., Albillos, A., Genescà, J., Garcia-Pagan, J. C., Brujats, A., Calleja, J. L., Aracil, C., Bañares, R., Morillas, R. M., Poca, M., Peñas, B., Augustin, S., Abraldes, J. G., Alvarado, E., Torres, F., Bosch, J., & PreDesCI Study

- Investigators (2021). Bacterial infections adversely influence the risk of decompensation and survival in compensated cirrhosis. *Journal of hepatology*, 75(3), 589–599. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.04.022>
34. Trebicka, J., Bork, P., Krag, A., & Arumugam, M. (2021). Utilizing the gut microbiome in decompensated cirrhosis and acute-on-chronic liver failure. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 18(3), 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00376-3>
35. Arroyo, V., Moreau, R., & Jalan, R. (2020). Acute-on-Chronic Liver Failure. *The New England journal of medicine*, 382(22), 2137–2145. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1914900>
36. Engelmann, C., & Berg, T. (2023). Clinical practice guidelines for acute-on-chronic liver failure: are we ready for reaching global consensus?. *Hepatobiliary surgery and nutrition*, 12(2), 239–243. <https://doi.org/10.21037/hbsn-23-6>
37. Zaccherini, G., Weiss, E., & Moreau, R. (2020). Acute-on-chronic liver failure: Definitions, pathophysiology and principles of treatment. *JHEP reports : innovation in hepatology*, 3(1), 100176. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100176>
38. Slooter, A. J. C., Otte, W. M., Devlin, J. W., Arora, R. C., Bleck, T. P., Claassen, J., Duprey, M. S., Ely, E. W., Kaplan, P. W., Latronico, N., Morandi, A., Neufeld, K. J., Sharshar, T., MacLulich, A. M. J., & Stevens, R. D. (2020). Updated nomenclature of delirium and acute encephalopathy: statement of ten Societies. *Intensive care medicine*, 46(5), 1020–1022. <https://doi.org/10.1007/s00134-019-05907-4>
39. D'Amico, G., Bernardi, M., & Angeli, P. (2022). Towards a new definition of decompensated cirrhosis. *Journal of hepatology*, 76(1), 202–207. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.06.018>
40. Trebicka, J., Fernandez, J., Papp, M., Caraceni, P., Laleman, W., Gambino, C., Giovio, I., Uschner, F. E., Jimenez, C., Mookerjee, R., Gustot, T., Albillos, A., Bañares, R., Janicko, M., Steib, C., Reiberger, T., Acevedo, J., Gatti, P., Bernal, W., Zeuzem, S., ... PREDICT STUDY group of the EASL-CLIF Consortium (2020). The PREDICT study uncovers three clinical courses of acutely decompensated

cirrhosis that have distinct pathophysiology. *Journal of hepatology*, 73(4), 842–854.

<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.06.013>

41. Arroyo, V., Angeli, P., Moreau, R., Jalan, R., Clària, J., Trebicka, J., Fernández, J., Gustot, T., Caraceni, P., Bernardi, M., & investigators from the EASL-CLIF Consortium, Grifols Chair and European Foundation for the Study of Chronic Liver Failure (EF-Clif) (2021). The systemic inflammation hypothesis: Towards a new paradigm of acute decompensation and multiorgan failure in cirrhosis. *Journal of hepatology*, 74(3), 670–685.

<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.11.048>

42. Ma K. C. (2001). Alzheimer-type I astrogliopathy (AIA) and its implications for dynamic plasticity of astroglia: a historical review of the significance of AIA. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 60(2), 121–131.

<https://doi.org/10.1093/jnen/60.2.121>

43. Chen, J. R., Wang, B. N., Tseng, G. F., Wang, Y. J., Huang, Y. S., & Wang, T. J. (2014). Morphological changes of cortical pyramidal neurons in hepatic encephalopathy. *BMC neuroscience*, 15, 15.

<https://doi.org/10.1186/1471-2202-15-15>

44. Tamnanloo, F., Ochoa-Sanchez, R., Oliveira, M. M., Lima, C., Lépine, M., Dubois, K., Bosoi, C., Tremblay, M., Sleno, L., & Rose, C. F. (2023). Multiple ammonia-induced episodes of hepatic encephalopathy provoke neuronal cell loss in bile-duct ligated rats. *JHEP reports : innovation in hepatology*, 5(12), 100904.

<https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2023.100904>

45. Wang, X., Liu, X., Zhou, P., Feng, J., Jia, J., Xie, B., Chen, Y., & Zhou, J. (2025). Treatment with hydrogen-rich water protects against thioacetamide-induced hepatic encephalopathy in rats through stabilizing liver-brain disturbance. *Scientific reports*, 15(1), 17901.

<https://doi.org/10.1038/s41598-025-02891-2>

46. Cordova-Gallardo, J., Vargas-Beltran, A. M., Armendariz-Pineda, S. M., Ruiz-Manriquez, J., Ampuero, J., & Torre, A. (2025). Brain reserve in hepatic encephalopathy: Pathways of damage and preventive strategies through lifestyle and

- therapeutic interventions. *Annals of hepatology*, 30(1), 101740. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2024.101740>
47. Jafaripour, L., Ahmadvand, H., Babaeenezhad, E., Esmaeilpour, K., Maneshian, M., Bashiri, H., & Asadi-Shekaari, M. (2025). Gallic acid alleviates hippocampus and cerebellum injuries in a rat model of hepatic encephalopathy. *Scientific reports*, 15(1), 31080. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-15524-5>
48. Claeys, W., Van Hoecke, L., Lefere, S., Geerts, A., Verhelst, X., Van Vlierberghe, H., Degroote, H., Devisscher, L., Vandenbroucke, R. E., & Van Steenkiste, C. (2021). The neurogliovascular unit in hepatic encephalopathy. *JHEP reports : innovation in hepatology*, 3(5), 100352. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2021.100352>
49. Khan, A., Ayub, M., & Khan, WM (2016). Hyperammonemia Is Associated with Increasing Severity of Both Liver Cirrhosis and Hepatic Encephalopathy. *International Journal of Hepatology*, 2016, 6741754. <http://doi.org/10.1155/2016/6741754>
50. Shalimar, Sheikh, M. F., Mookerjee, R. P., Agarwal, B., Acharya, S. K., & Jalan, R. (2019). Prognostic Role of Ammonia in Patients With Cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 70(3), 982–994. <https://doi.org/10.1002/hep.30534>
51. Dalsania, N., Kundu, S., Patti, R. K., Somal, N., & Kupfer, Y. (2022). Nonhepatic Hyperammonemia With Septic Shock: Case and Review of Literature. *Journal of investigative medicine high impact case reports*, 10, 23247096221101855. <https://doi.org/10.1177/23247096221101855>
52. Oja, S. S., Saransaari, P., & Korpi, E. R. (2017). Neurotoxicity of Ammonia. *Neurochemical research*, 42(3), 713–720. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2014-x>
53. Lattanzi, B., D'Ambrosio, D., & Merli, M. (2019). Hepatic Encephalopathy and Sarcopenia: Two Faces of the Same Metabolic Alteration. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 9(1), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.04.007>

54. Butterworth, R. F. (2015). Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy and Brain Edema in Acute Liver Failure. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 5(Suppl 1), S96–S103. <http://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.02.004>
55. Ochoa-Sanchez, R., & Rose, C. F. (2018). Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 8(3), 262–271. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.08.001>
56. Sen, B. K., Pan, K., & Chakravarty, A. (2025). Hepatic Encephalopathy: Current Thoughts on Pathophysiology and Management. *Current neurology and neuroscience reports*, 25(1), 28. <https://doi.org/10.1007/s11910-025-01415-9>
57. Bjerring, P. N., Gluud, L. L., & Larsen, F. S. (2018). Cerebral Blood Flow and Metabolism in Hepatic Encephalopathy-A Meta-Analysis. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 8(3), 286–293. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2018.06.002>
58. Sancho-Alonso, M., Garcia-Garcia, R., Teruel-Martí, V., Llansola, M., & Felipo, V. (2022). Hyperammonemia Enhances GABAergic Neurotransmission in Hippocampus: Underlying Mechanisms and Modulation by Extracellular cGMP. *Molecular neurobiology*, 59(6), 3431–3448. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02803-9>
59. Weiss, N., Barbier Saint Hilaire, P., Colsch, B., Isnard, F., Attala, S., Schaefer, A., Amador, M. D., Rudler, M., Lamari, F., Sedel, F., Thabut, D., & Junot, C. (2016). Cerebrospinal fluid metabolomics highlights dysregulation of energy metabolism in overt hepatic encephalopathy. *Journal of hepatology*, 65(6), 1120–1130. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.07.046>
60. Zaccherini, G., Aguilar, F., Caraceni, P., Clària, J., Lozano, J. J., Fenaille, F., Castelli, F., Junot, C., Curto, A., Formentin, C., Weiss, E., Bernardi, M., Jalan, R., Angeli, P., Moreau, R., & Arroyo, V. (2021). Assessing the role of amino acids in systemic inflammation and organ failure in patients with ACLF. *Journal of hepatology*, 74(5), 1117–1131. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.11.035>
61. Verkhratsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J., & Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of

- vesicular secretion. *The EMBO Journal*, 35(3), 239–257.
<http://doi.org/10.15252/emj.201592705>
62. Braissant, O., Rackayová, V., Pierzchala, K., Grosse, J., McLin, V. A., & Cudalbu, C. (2019). Longitudinal neurometabolic changes in the hippocampus of a rat model of chronic hepatic encephalopathy. *Journal of hepatology*, 71(3), 505–515. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.05.022>
63. Filippidis, A. S., Carozza, RB, & Rekate, HL (2017). Aquaporins in Brain Edema and Neuropathological Conditions. *Journal of Molecular International Sciences*, 18(1), 55. <http://doi.org/10.3390/ijms18,010,055>
64. Hsu, S. J., Zhang, C., Jeong, J., Lee, S. I., McConnell, M., Utsumi, T., & Iwakiri, Y. (2021). Enhanced Meningeal Lymphatic Drainage Ameliorates Neuroinflammation and Hepatic Encephalopathy in Cirrhotic Rats. *Gastroenterology*, 160(4), 1315–1329.e13. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.11.036>
65. Hablitz, L. M., & Nedergaard, M. (2021). The Glymphatic System: A Novel Component of Fundamental Neurobiology. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 41(37), 7698–7711. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0619-21.2021>
66. Corbali, O., & Levey, A. I. (2025). Glymphatic system in neurological disorders and implications for brain health. *Frontiers in neurology*, 16, 1543725. <https://doi.org/10.3389/fneur.2025.1543725>
67. Ntuli, Y., & Shawcross, D. L. (2024). Infection, inflammation and hepatic encephalopathy from a clinical perspective. *Metabolic brain disease*, 39(8), 1689–1703. <https://doi.org/10.1007/s11011-024-01402-y>
68. Rhodes, K., Wang, Y., DeMorrow, S., & Gurumalles, P. (2025). The Role of Neuroinflammation in the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy. *Journal of immunology research*, 2025, 6855563. <https://doi.org/10.1155/jimr/6855563>
69. Hoogland, I. C., Houbolt, C., van Westerloo, D. J., van Gool, W. A., & van de Beek, D. (2015). Systemic inflammation and microglial activation: systematic

- review of animal experiments. *Journal of neuroinflammation*, 12, 114. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0332-6>
70. D'Mello, C., Almishri, W., Liu, H., & Swain, M. G. (2017). Interactions Between Platelets and Inflammatory Monocytes Affect Sickness Behavior in Mice With Liver Inflammation. *Gastroenterology*, 153(5), 1416–1428.e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.011>
71. Balzano, T., Arenas, Y. M., Dadsetan, S., Forteza, J., Gil-Perotin, S., Cubas-Núñez, L., Casanova, B., Gracià, F., Varela-Andrés, N., Montoliu, C., Llansola, M., & Felipo, V. (2020). Sustained hyperammonemia induces TNF- α IN Purkinje neurons by activating the TNFR1-NF- κ B pathway. *Journal of neuroinflammation*, 17(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01746-z>
72. Tsuruta, R., & Oda, Y. (2016). A clinical perspective of sepsis-associated delirium. *Journal of intensive care*, 4, 18. <https://doi.org/10.1186/s40560-016-0145-4>
73. Piva, S., McCreadie, V. A., & Latronico, N. (2015). Neuroinflammation in sepsis: sepsis associated delirium. *Cardiovascular & hematological disorders drug targets*, 15(1), 10–18. <https://doi.org/10.2174/1871529x15666150108112452>
74. Hasegawa-Ishii, S., Inaba, M., Umegaki, H., Unno, K., Wakabayashi, K., & Shimada, A. (2016). Endotoxemia-induced cytokine-mediated responses of hippocampal astrocytes transmitted by cells of the brain-immune interface. *Scientific reports*, 6, 25457. <https://doi.org/10.1038/srep25457>
75. Lu, X., Qin, M., Walline, J. H., Gao, Y., Yu, S., Ge, Z., Gong, C., Zhu, H., Annane, D., & Li, Y. (2023). Clinical phenotypes of sepsis-associated encephalopathy: a retrospective cohort study. *Shock (Augusta, Ga.)*, 59(4), 583–590. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000002092>
76. Sartelli M., Chichom-Mefire A., Labricciosa F. M., Hardcastle T., Abu-Zidan F.M., Adesunkanmi A.K., Catena F. (2017). The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery: WJES*, 12, 29. <http://doi.org/10.1186/s13017-017-0141-6>

77. Heming, N., Mazeraud, A., Verdonk, F., Bozza, F. A., Chrétien, F., & Sharshar, T. (2017). Neuroanatomy of sepsis-associated encephalopathy. *Critical care (London, England)*, 21(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1643-z>
78. Cantier, M., Sabben, C., Adle-Biasette, H., Louedec, L., Delbosc, S., Desilles, J. P., Journé, C., Diallo, D., Ou, P., Klein, I., Chau, F., Lefort, A., Iung, B., Duval, X., Olivot, J. M., Ho-Tin-Noe, B., Michel, J. B., Sonnevile, R., & Mazighi, M. (2019). Neurologic Complications of Infective Endocarditis: A Joint Model for a Septic Thromboembolism and Inflammatory Small Vessel Disease. *Critical care medicine*, 47(8), e685–e692. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003796>
79. Srdić, T., Đurašević, S., Lakić, I., Ružičić, A., Vujović, P., Jevđović, T., Dakić, T., Đorđević, J., Tosti, T., Glumac, S., Todorović, Z., & Jasnić, N. (2024). From Molecular Mechanisms to Clinical Therapy: Understanding Sepsis-Induced Multiple Organ Dysfunction. *International journal of molecular sciences*, 25(14), 7770. <https://doi.org/10.3390/ijms25147770>
80. Kempker, J. A., & Martin, G. S. (2016). The Changing Epidemiology and Definitions of Sepsis. *Clinics in chest medicine*, 37(2), 165–179. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.01.002>
81. Gharamti, A. A., Samara, O., Monzon, A., Montalbano, G., Scherger, S., DeSanto, K., Chastain, D. B., Sillau, S., Montoya, J. G., Franco-Paredes, C., Henao-Martínez, A. F., & Shapiro, L. (2022). Proinflammatory cytokines levels in sepsis and healthy volunteers, and tumor necrosis factor-alpha associated sepsis mortality: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*, 158, 156006. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.156006>
82. Kuperberg, S. J., & Wadgaonkar, R. (2017). Sepsis-Associated Encephalopathy: The Blood-Brain Barrier and the Sphingolipid Rheostat. *Frontiers in immunology*, 8, 597. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00597>
83. Tang, F., Zhao, X. L., Xu, L. Y., Zhang, J. N., Ao, H., & Peng, C. (2024). Endothelial dysfunction: Pathophysiology and therapeutic targets for sepsis-induced multiple organ dysfunction syndrome. *Biomedicine & pharmacotherapy* =

- Biomedecine* & *pharmacotherapie*, 178, 117180.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117180>
84. Bertozzi, G., Ferrara, M., Calvano, M., Pascale, N., & Di Fazio, A. (2024). Oxidative/Nitrosative Stress and Brain Involvement in Sepsis: A Relationship Supported by Immunohistochemistry. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 60(12), 1949. <https://doi.org/10.3390/medicina60121949>
85. Raia, L., & Zafrani, L. (2022). Endothelial Activation and Microcirculatory Disorders in Sepsis. *Frontiers in medicine*, 9, 907992. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.907992>
86. Tang, C., Jin, Y., & Wang, H. (2022). The biological alterations of synapse/synapse formation in sepsis-associated encephalopathy. *Frontiers in synaptic neuroscience*, 14, 1054605. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2022.1054605>
87. Fu, C., Weng, S., Liu, D., Guo, R., Chen, M., Shi, B., & Weng, J. (2025). Review on the Role of Mitochondrial Dysfunction in Septic Encephalopathy. *Cell biochemistry and biophysics*, 83(1), 135–145. <https://doi.org/10.1007/s12013-024-01493-5>
88. Xin, Y., Tian, M., Deng, S., Li, J., Yang, M., Gao, J., Pei, X., Wang, Y., Tan, J., Zhao, F., Gao, Y., & Gong, Y. (2023). The Key Drivers of Brain Injury by Systemic Inflammatory Responses after Sepsis: Microglia and Neuroinflammation. *Molecular neurobiology*, 60(3), 1369–1390. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03148-z>
89. Peng, X., Luo, Z., He, S., Zhang, L., & Li, Y. (2021). Blood-Brain Barrier Disruption by Lipopolysaccharide and Sepsis-Associated Encephalopathy. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 768108. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.768108>
90. Verkhratsky, A., & Semyanov, A. (2025). Physiology of neuroglia of the central nervous system. *Handbook of clinical neurology*, 209, 69–91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19104-6.00005-X>
91. Murton, A., Bohanon, F. J., Ogunbileje, J. O., Capek, K. D., Tran, E. A., Chao, T., Sidossis, L. S., Porter, C., & Herndon, D. N. (2019). Sepsis Increases Muscle

- Proteolysis in Severely Burned Adults, but Does not Impact Whole-Body Lipid or Carbohydrate Kinetics. *Shock (Augusta, Ga.)*, 52(3), 353–361. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001263>
92. Kim, T. S., & Choi, D. H. (2020). Liver Dysfunction in Sepsis. *The Korean journal of gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe chi*, 75(4), 182–187. <https://doi.org/10.4166/kjg.2020.75.4.182>
93. Liu, H., Zhang, T., Zhang, L., & Zhong, Y. (2025). Neuroinflammatory Mechanisms of Adult Sepsis-Associated Encephalopathy: Implications for Blood-Brain Barrier Disruption and Oxidative Stress. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 15(7), 873. <https://doi.org/10.3390/diagnostics15070873>
94. Liddelow, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity*, 46(6), 957–967. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>
95. Zhao, Y., Huang, Y., Cao, Y., & Yang, J. (2024). Astrocyte-Mediated Neuroinflammation in Neurological Conditions. *Biomolecules*, 14(10), 1204. <https://doi.org/10.3390/biom14101204>
96. Rodgers, K. R., Lin, Y., Langan, T. J., Iwakura, Y., & Chou, R. C. (2020). Innate Immune Functions of Astrocytes are Dependent Upon Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Scientific reports*, 10(1), 7047. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63766-2>
97. Bellaver, B., Dos Santos, J. P., Leffa, D. T., Bobermin, L. D., Roppa, P. H. A., da Silva Torres, I. L., Gonçalves, C. A., Souza, D. O., & Quincozes-Santos, A. (2018). Systemic Inflammation as a Driver of Brain Injury: the Astrocyte as an Emerging Player. *Molecular neurobiology*, 55(3), 2685–2695. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0526-2>
98. Yan, X., Yang, K., Xiao, Q., Hou, R., Pan, X., & Zhu, X. (2022). Central role of microglia in sepsis-associated encephalopathy: From mechanism to therapy. *Frontiers in immunology*, 13, 929316. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.929316>
99. Shimada, A., & Hasegawa-Ishii, S. (2017). Histological Architecture Underlying Brain-Immune Cell-Cell Interactions and the Cerebral Response to

- Systemic Inflammation. *Frontiers in immunology*, 8, 17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00017>
100. Ye, B., Tao, T., Zhao, A., Wen, L., He, X., Liu, Y., Fu, Q., Mi, W., & Lou, J. (2019). Blockade of IL-17A/IL-17R Pathway Protected Mice from Sepsis-Associated Encephalopathy by Inhibition of Microglia Activation. *Mediators of inflammation*, 2019, 8461725. <https://doi.org/10.1155/2019/8461725>
101. Li, Y., Yin, L., Fan, Z., Su, B., Chen, Y., Ma, Y., Zhong, Y., Hou, W., Fang, Z., & Zhang, X. (2020). Microglia: A Potential Therapeutic Target for Sepsis-Associated Encephalopathy and Sepsis-Associated Chronic Pain. *Frontiers in pharmacology*, 11, 600421. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.600421>
102. Wang, S., Lindroth, H., Chan, C., Greene, R., Serrano-Andrews, P., Khan, S., Rios, G., Jabbari, S., Lim, J., Saykin, A. J., & Khan, B. (2021). A Systematic Review of Delirium Biomarkers and Their Alignment with the NIA-AA Research Framework. *Journal of the American Geriatrics Society*, 69(1), 255–263. <https://doi.org/10.1111/jgs.16836>
103. Zhao, L., Walline, J. H., Gao, Y., Lu, X., Yu, S., Ge, Z., Zhu, H., & Li, Y. (2020). Prognostic Role of Ammonia in Critical Care Patients Without Known Hepatic Disease. *Frontiers in medicine*, 7, 589825. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.589825>
104. Zhao, L., Hou, S., Na, R., Liu, B., Wang, Z., Li, Y., & Xie, K. (2023). Prognostic role of serum ammonia in patients with sepsis-associated encephalopathy without hepatic failure. *Frontiers in public health*, 10, 1016931. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1016931>
105. Woźnica, E. A., Ingot, M., Woźnica, R. K., & Łysenko, L. (2018). Liver dysfunction in sepsis. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wrocław Medical University*, 27(4), 547–551. <https://doi.org/10.17219/acem/68363>
106. Zhao, J., He, Y., Xu, P., Liu, J., Ye, S., & Cao, Y. (2020). Serum ammonia levels on admission for predicting sepsis patient mortality at D28 in the emergency

- department: A 2-center retrospective study. *Medicine*, 99(11), e19477. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019477>
107. Numan, Y., Jawaid, Y., Hirzallah, H., Kusmic, D., Megri, M., Aqtash, O., Amro, A., Mezughi, H., Maher, E., Raru, Y., Numan, J., Akpanudo, S., Khitan, Z., & Shweihat, Y. (2018). Ammonia vs. Lactic Acid in Predicting Positivity of Microbial Culture in Sepsis: The ALPS Pilot Study. *Journal of clinical medicine*, 7(8), 182. <https://doi.org/10.3390/jcm7080182>
 108. Shulyatnikova, T.V. & Shavrin, V.A. (2017). Modern view on hepatic encephalopathy: basic terms and concepts of pathogenesis. *Pathologia*, 14(3), 371-380. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.3.118773>
 109. Shulyatnikova, T.V. & Shavrin, V.A. (2018). Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of medicine*, 3(7), 158-165. <https://art-of-medicine.ifnmu.edu.ua/index.php/aom/article/view/144>
 110. Shulyatnikova, T., & Verkhatsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical research*, 45(1), 83–99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
 111. Shulyatnikova, T., & Hayden, M. R. (2023). Why Are Perivascular Spaces Important?. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 59(5), 917. <https://doi.org/10.3390/medicina59050917>
 112. Pavliak, A. (2018). Analysis of prognostic value of leukocyte and hematological indexes of intoxication in the diagnosis of surgical sepsis. *Technology Transfer: Innovative Solutions in Medicine*, 21-23. <https://doi.org/10.21303/2585-663.2018.00772>
 113. Moreno, R., Rhodes, A., Piquilloud, L., Hernandez, G., Takala, J., Gershengorn, H. B., Tavares, M., Coopersmith, C. M., Myatra, S. N., Singer, M., Rezende, E., Prescott, H. C., Soares, M., Timsit, J. F., de Lange, D. W., Jung, C., De Waele, J. J., Martin, G. S., Summers, C., Azoulay, E., ... Vincent, J. L. (2023). The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an

- update?. *Critical care* (London, England), 27(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13054-022-04290-9>
114. McGill, M. R., Williams, C. D., Xie, Y., Ramachandran, A., & Jaeschke, H. (2012). Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 264(3), 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.08.015>
115. Mossanen, J. C., & Tacke, F. (2015). Acetaminophen-induced acute liver injury in mice. *Laboratory animals*, 49(1 Suppl), 30–36. <https://doi.org/10.1177/0023677215570992>
116. Mitchell, R. A., Rathi, S., Dahiya, M., Zhu, J., Hussaini, T., & Yoshida, E. M. (2020). Public awareness of acetaminophen and risks of drug induced liver injury: Results of a large outpatient clinic survey. *PloS one*, 15(3), e0229070. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229070>
117. Rittirsch, D., Huber-Lang, M. S., Flierl, M. A., & Ward, P. A. (2009). Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nature protocols*, 4(1), 31–36. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214>
118. Gutiérrez-de-Juan, V., López de Davalillo, S., Fernández-Ramos, D., Barbier-Torres, L., Zubiete-Franco, I., Fernández-Tussy, P., Simon, J., Lopitz-Otsoa, F., de Las Heras, J., Iruzubieta, P., Arias-Loste, M. T., Villa, E., Crespo, J., Andrade, R., Lucena, M. I., Varela-Rey, M., Lu, S. C., Mato, J. M., Delgado, T. C., & Martínez-Chantar, M. L. (2017). A morphological method for ammonia detection in liver. *PloS one*, 12(3), e0173914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173914>
119. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*. Т.24. №5(134). С.529-537. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.5.261327>
120. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Nestin, CD44, Ki-67, GS and AQP4 expression in the brain neurogenic niches of deceased patients with liver

cirrhosis of different degree. *Pathologia*. 20(2), 108-117.

<http://dx.doi.org/10.14739/2310-1237.2023.2.286125>

121. Shulyatnikova, T.V., Tumanskiy, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Medicni perspektivi*. 2024;29(2):62-71. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307482>

122. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2017). Pathomorphological features of perifocal critical zones of brain infarction (penumbra) in the conditions of chronic hepatic encephalopathy. Materials of International research and practice conference «*Innovative technology in medicine: Experience of Poland and Ukraine*», Lublin, Republic of Poland, April 28–29, 2017, p. 104-107.

123. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Immunohistochemical study of GFAP, GS and AQP4 levels in the postmortem brain of cirrhotic patients. Proceed. of the XXVII Internat. Scientific and Practical Conference «*Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice*», July 12 – 15, 2022, Prague, Czech Republic, p. 199-200.

124. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Alterations of the brain glial fibrillary acidic protein during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*», November 11, 2022; Paris, France, p. 140-141.

125. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Expression of the water channel protein aquaporin-4 in the brain during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Science of post-industrial society: globalization and transformation processes*», November 25, 2022; Vienna Austria, p. 287-288.

126. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain glutamine synthetase expression during human liver cirrhosis. Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference «*Technologies and strategies for the*

implementation of scientific achievements», November 18, 2022; Stockholm, Sweden, p. 187-188.

127. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2023). Brain tissue ammonia and alzheimer type 2 astrocytosis in human liver cirrhosis. Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference «*Theory and practice of modern science*», May 12, 2023; Kraków, Republic of Poland, p. 161-162.

128. Шулятнікова, Т.В., Туманський, В.О., & Туманська, Л.М. (2023). Патологоанатомічна діагностика печінкової енцефалопатії при цирозі печінки за змінами астроглії та рівнем аміаку в головному мозку. Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «*Актуальні проблеми патологічної анатомії*», 05-06.10.2023 р., м. Київ, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 4 (143) 2023, с. 32-33.

129. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*. 20(1), 36-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.1.276453>

130. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sport*. 13(4), 339-355. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.04.041> (Польща)

131. Shulyatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Prognostic value of thalamic ammonia level in postmortem brain of patients with liver cirrhosis for the presence of intravitaly overt hepatic encephalopathy. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*», May 23, 2025, Vienna, Austria, p. 1072-1074.

132. Shulyatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive value of the cerebellar ammonia level in the deceased cirrhotic patients for

probability of intravital hepatic encephalopathy. Матеріали XX Міжнародна науково-практична конференція «*Innovative scientific research: latest theories, modern methods and practices*», May 20-23, 2025, Seville, Spain, p. 283-284.

133. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive capacity of the ammonia level in the postmortem brain cortical tissue for intravital hepatic encephalopathy type C. Materials of the I-st International Scientific and Theoretical Conference «*Modern science and innovation: trends, challenges, and breakthroughs*», May 3, 2025, New York, USA, p. 351-352.

134. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Immunohistochemical expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver injury. *Art of Medicine*, 2(26), 138-145.
<http://dx.doi.org/10.21802/artm.2023.2.26.138>

135. Shulyatnikova, T.V. & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical technology*. 2024;16(2):77-85.
<https://doi.org/10.14739/mmt.2024.2.305087>

136. Shulyatnikova, T.V. (2023). Expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver injury. Матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «*Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2023*», 25-26 травня 2023 р., Запоріжжя, с. 71.

137. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Neuronal caspase-3 expression in the brain of deceased patients with sepsis-associated encephalopathy. *Current scientific goals, approaches and challenges: collection of scientific papers with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference*, March 22, 2024; Riga, Republic of Latvia, p. 95-96.

138. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Brain tissue ammonia in human sepsis-associated encephalopathy. *Education and science*

of today: intersectoral issues and development of sciences: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference, March 29, 2024; Cambridge, USA, p. 493-495.

139. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of microglial CD68 in human sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Modernization of today's science: experience and trends*: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, March 29, 2024; Singapore, Republic of Singapore, p. 60-61.

140. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Regional alteration of astroglial GFAP in the brain of septic patients with sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Scientific forum: theory and practice of research*: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, April 5, 2024; Valencia, Kingdom of Spain, p. 52-53.

141. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alzheimer type 2 astrocytosis in human sepsis-associated encephalopathy. Proceedings of the II Correspondence International Scientific and Practical Conference «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*», Vol. 38, April 12, 2024; Vienna, Austria, p. 410-411.

142. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Enlarged perivascular and extraperivascular (pericellular and neuropil) edematous spaces in the brain tissue during human sepsis-associated encephalopathy. Proceedings of the VI International Scientific and Theoretical Conference «*Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation*», April 26, 2024; Pisa, Italian Republic, p. 157-158.

143. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of AQP4 expression in the brain of deceased septic patients with sepsis-associated encephalopathy. *Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche*: Raccolta di articoli scientifici con gli atti della V

Conferenza scientifica e pratica internazionale, Aprile 26, 2024; Bologna, Italian Republic, p. 393-395.

144. Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>

145. Shulyatnikova, T.V. (2021). Immunohistochemical analysis of microglial changes in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Pathologia*, 18(1), 33-38. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.1.227642>

146. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2021). Glutamine synthetase expression in the brain during experimental acute liver failure (immunohistochemical study). *Journal of Education, Health and Sport*. 11(10), 342-356. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.033>

147. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of the glial fibrillary acidic protein expression in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Morphologia*. 15(4), 96-105. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.96-105> (доступно 3 <https://drive.google.com/file/d/1RtBOor4V-aXJU8yHqaJBqfi3QEpK4kxD/view>)

148. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain aquaporin-4 in the rat acute liver failure model. *Art of Medicine*, 1(21), 103-108. <https://doi.org/10.21802/artm.2022.1.21.103>

149. Shulyatnikova, T., Tumanskyi, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microgliosis in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms232214455>

150. Shulyatnikova, T. (2021). Comparative analysis of brain cd68 expression in the experimental acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of the 8th International scientific and practical conference «*Fundamental and applied research in the modern world*», March 17-19, 2021, BioScience Publisher, Boston, USA. 2021, p. 222-224.

151. Shuliatnikova, T. (2021). Phagocytosis activation in the rat brain in the conditions of acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of I International scientific and practical conference «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*», March 19, 2021, Cambridge, UK 2021, p. 12-13.
152. Shulyatnikova, T.V. (2021). Microglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. Матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції «*Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*» 22-23 квітня 2021 року, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 2 (123) 2021, p.44.
153. Shuliatnikova, T.V. (2021). Region-dependent heterogeneity in GFAP expression in acute hepatic encephalopathy. *Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives*: collection of scientific papers with Proceedings of the II International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 2), October 1, 2021. Vilnius, Republic of Lithuania, c. 56-57.
154. Shuliatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*: collection de papiers scientifiques avec des matériaux de la II conférence scientifique et pratique internationale (Vol. 2), Paris, 1er octobre 2021. Paris: La Fedeltà & Plateforme scientifique européenne, 2021, p. 41-42.
155. Shulyatnikova, T.V. (2022). Brain glutamine synthetase alterations during experimental acute liver failure. Матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «*Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022*», 17 травня 2022 року, Запоріжжя, с. 60-61.
156. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain AQP4 during experimental acute liver failure. Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference «*Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences*» (Vol. 16), Vienna, Austria, June 17, 2022, p. 559-561.

157. Шулятникова Т.В., Шаврин В.А. (2020). Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной энцефалопатии. *Патологія*. 17(1), 60-67. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203742>
158. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.O. (2021). Regional-specific activation of phagocytosis in the rat brain in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. *Zaporozhye medical journal*, 23(1), 111-119. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224921> (WoS, Q4, Кат.А)
159. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of GFAP expression in the experimental sepsis-associated encephalopathy *Pathologia*. 18(3), 295-302. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.240033>
160. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskyi, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain glutamine synthetase expression in the rat septic model. *Pathologia*. 19(1), 47-52. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.251248>
161. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Brain aquaporin-4 expression in the rat septic model (immunohistochemical study). *Medicni Perspektivi*. 27 (3), 39-43. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265827>
162. Erickson, M. A., Shulyatnikova, T., Banks, W. A., & Hayden, M. R. (2023). Ultrastructural Remodeling of the Blood-Brain Barrier and Neurovascular Unit by Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1640. <https://doi.org/10.3390/ijms24021640>
163. Shulyatnikova, T. (2019). Increased density and redistribution of multivesicular bodies into perivascular astrocytic endfeet in sepsis-associated encephalopathy. Abstracts (Wiley E-Only Supplement to *Glia*, SCOPUS (Elsevier Journal)), Materials of poster session, *XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease*, Porto, Portugal, July 10-13, E527, 2019.
164. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2019). Intensification of astroglial endosomal machinery work in sepsis-associated encephalopathy. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною

участю «Теорія та практика сучасної морфології», 9-11 жовтня 2019 року, Дніпро, с.152.

165. Shulyatnikova, T.V. (2020). The specificity of CD68 expression in different brain regions in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 4-6 листопада 2020 року, Дніпро, с. 127-128.

166. Shulyatnikova, T.V. (2020). The ultrastructural features of cortical phagocytic microglia in the conditions of experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука у практику охорони здоров'я», 27 листопада 2020 року, Полтава, с. 30.

167. Shulyatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Materialien der I internationalen wissenschaftlich-praktischen Konferenz “Grundlagen der modernen wissenschaftlichen Forschung” der Sammlung wissenschaftlicher Arbeiten «ΛΟΓΟΣ» zu den, Zürich, 10. September, 2021. Zürich: BOLESWA Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform, 2021, p. 228-229.

168. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Regional heterogeneity of GFAP expression in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. Матеріали П'ятої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 20-22 листопада 2021 року, Дніпро, с. 163.

169. Jo, D., Kim, B. C., Cho, K. A., & Song, J. (2021). The Cerebral Effect of Ammonia in Brain Aging: Blood-Brain Barrier Breakdown, Mitochondrial Dysfunction, and Neuroinflammation. *Journal of clinical medicine*, 10(13), 2773. <https://doi.org/10.3390/jcm10132773>

170. Verkhatsky, A., Butt, A., Li, B., Illes, P., Zorec, R., Semyanov, A., Tang, Y., & Sofroniew, M. V. (2023). Astrocytes in human central nervous system diseases:

- a frontier for new therapies. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 396. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01628-9>
171. Claeys, W., Geerts, A., Van Hoecke, L., Van Steenkiste, C., & Vandenbroucke, R. E. (2025). Role of astrocytes and microglia in hepatic encephalopathy associated with advanced chronic liver disease: lessons from animal studies. *Neural regeneration research*, 20(12), 3461–3475. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00600>
 172. Zielińska, M., Albrecht, J., & Popek, M. (2022). Dysregulation of Astrocytic Glutamine Transport in Acute Hyperammonemic Brain Edema. *Frontiers in neuroscience*, 16, 874750. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.874750>
 173. Zeng, G., Penninkilampi, R., Chaganti, J., Montagnese, S., Brew, B. J., & Danta, M. (2020). Meta-analysis of magnetic resonance spectroscopy in the diagnosis of hepatic encephalopathy. *Neurology*, 94(11), e1147–e1156. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008899>
 174. Heidari R. (2019). Brain mitochondria as potential therapeutic targets for managing hepatic encephalopathy. *Life sciences*, 218, 65–80. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.12.030>
 175. Sørensen, M., Andersen, J. V., Bjerring, P. N., & Vilstrup, H. (2024). Hepatic encephalopathy as a result of ammonia-induced increase in GABAergic tone with secondary reduced brain energy metabolism. *Metabolic brain disease*, 40(1), 19. <https://doi.org/10.1007/s11011-024-01473-x>
 176. Jaeger, V., DeMorrow, S., & McMillin, M. (2019). The Direct Contribution of Astrocytes and Microglia to the Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy. *Journal of clinical and translational hepatology*, 7(4), 352–361. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2019.00025>
 177. Stokum, J. A., Kurland, D. B., Gerzanich, V., & Simard, J. M. (2015). Mechanisms of astrocyte-mediated cerebral edema. *Neurochemical research*, 40(2), 317–328. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1374-3>
 178. Dhanda, S., & Sandhir, R. (2018). Blood-Brain Barrier Permeability Is Exacerbated in Experimental Model of Hepatic Encephalopathy via MMP-9

- Activation and Downregulation of Tight Junction Proteins. *Molecular neurobiology*, 55(5), 3642–3659. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0521-7>
179. Hadjihambi, A., Harrison, I. F., Costas-Rodríguez, M., Vanhaecke, F., Arias, N., Gallego-Durán, R., Mastitskaya, S., Hosford, P. S., Olde Damink, S. W. M., Davies, N., Habtesion, A., Lythgoe, M. F., Gourine, A. V., & Jalan, R. (2019). Impaired brain glymphatic flow in experimental hepatic encephalopathy. *Journal of hepatology*, 70(1), 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.08.021>
180. Li, D., Liu, X., Liu, T., Liu, H., Tong, L., Jia, S., & Wang, Y. F. (2020). Neurochemical regulation of the expression and function of glial fibrillary acidic protein in astrocytes. *Glia*, 68(5), 878–897. <https://doi.org/10.1002/glia.23734>
181. Elsherbini, D. M. A., Ghoneim, F. M., El-Mancy, E. M., Ebrahim, H. A., El-Sherbiny, M., El-Shafey, M., Al-Serwi, R. H., & Elsherbiny, N. M. (2022). Astrocytes profiling in acute hepatic encephalopathy: Possible enrolling of glial fibrillary acidic protein, tumor necrosis factor-alpha, inwardly rectifying potassium channel (Kir 4.1) and aquaporin-4 in rat cerebral cortex. *Frontiers in cellular neuroscience*, 16, 896172. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.896172>
182. Hösslin, C. V., & Alzheimer, A. V. (1912). Ein Beitrag zur Klinik und pathologischen Anatomie der Westphal-Strümpellschen Pseudosklerose. *Z Gesante Neurol Psychiatrie*, 8, 183-209.
183. Spielmeyer, W. (1920). Die histopathologische zusammengehörigkeit der Wilsonschen Krankheit und der pseudosklerose. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 57(1), 312-351.
184. Turchinovich, A., Drapkina, O., & Tonevitsky, A. (2019). Transcriptome of Extracellular Vesicles: State-of-the-Art. *Frontiers in immunology*, 10, 202. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00202>
185. Liu, T., Zhang, Q., Zhang, J., Li, C., Miao, Y. R., Lei, Q., Li, Q., & Guo, A. Y. (2019). EVmiRNA: a database of miRNA profiling in extracellular vesicles. *Nucleic acids research*, 47(D1), D89–D93. <https://doi.org/10.1093/nar/gky985>
186. Lian, H., Yang, L., Cole, A., Sun, L., Chiang, A. C., Fowler, S. W., Shim, D. J., Rodriguez-Rivera, J., Taglialatela, G., Jankowsky, J. L., Lu, H. C., & Zheng, H.

- (2015). NF κ B-activated astroglial release of complement C3 compromises neuronal morphology and function associated with Alzheimer's disease. *Neuron*, 85(1), 101–115. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
187. Božić, M., Verkhratsky, A., Zorec, R., & Stenovec, M. (2020). Exocytosis of large-diameter lysosomes mediates interferon γ -induced relocation of MHC class II molecules toward the surface of astrocytes. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 77(16), 3245–3264. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03350-8>
188. Verkhratsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J. P., & Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *The EMBO journal*, 35(3), 239–257. <https://doi.org/10.15252/emboj.201592705>
189. Vardjan, N., Parpura, V., Verkhratsky, A., & Zorec, R. (2019). Gliocrine System: Astroglia as Secretory Cells of the CNS. *Advances in experimental medicine and biology*, 1175, 93–115. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_4
190. Doyle, L. M., & Wang, M. Z. (2019). Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*, 8(7), 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
191. Meng T, Lin S, Zhuang H, Huang H, He Z, Hu Y, Gong Q, Feng D. (2019). Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases. *Cell Stress*. 29;3(5):141-161. <https://doi.org/10.15698/cst2019.05.186>
192. Guo, F., Liu, X., Cai, H., & Le, W. (2018). Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 28(1), 3–13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
193. Lu, K., Zimmermann, M., Görg, B., Bidmon, H. J., Biermann, B., Klöcker, N., Häussinger, D., & Reichert, A. S. (2019). Hepatic encephalopathy is linked to alterations of autophagic flux in astrocytes. *EBioMedicine*, 48, 539–553. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.09.058>
194. Ponziani, F. R., Funaro, B., Lupascu, A., Ainora, M. E., Garcovich, M., Caracciolo, G., Quadarella, A., Nesci, A., Riccardi, L., Gasbarrini, A., Pompili, M., & Zocco, M. A. (2019). Minimal Hepatic Encephalopathy is Associated with

- Increased Cerebral Vascular Resistance. A Transcranial Doppler Ultrasound Study. *Scientific reports*, 9(1), 15373. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51867-6>
195. Huang, L., Nakamura, Y., Lo, E. H., & Hayakawa, K. (2019). Astrocyte Signaling in the Neurovascular Unit After Central Nervous System Injury. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 282. <https://doi.org/10.3390/ijms20020282>
196. Montana, V., Verkhratsky, A., & Parpura, V. (2014). Pathological Role for Exocytotic Glutamate Release from Astrocytes in Hepatic Encephalopathy. *Neuropharmacology Current*, 12 (4), 324-333. <http://doi.org/10.2174/1570159X12666140903094700>
197. Sancho-Alonso, M., Taoro-Gonzalez, L., Cabrera-Pastor, A., Felipo, V., & Teruel-Martí, V. (2022). Hyperammonemia Alters the Function of AMPA and NMDA Receptors in Hippocampus: Extracellular cGMP Reverses Some of These Alterations. *Neurochemical research*, 47(7), 2016–2031. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03588-y>
198. Cabrera-Pastor, A., Arenas, Y. M., Taoro-Gonzalez, L., Montoliu, C., & Felipo, V. (2019). Chronic hyperammonemia alters extracellular glutamate, glutamine and GABA and membrane expression of their transporters in rat cerebellum. Modulation by extracellular cGMP. *Neuropharmacology*, 161, 107496. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.01.011>
199. Jayakumar, A. R., Tong, X. Y., Curtis, K. M., Ruiz-Cordero, R., Shamaladevi, N., Abuzamel, M., Johnstone, J., Gaidosh, G., Rama Rao, K. V., & Norenberg, M. D. (2015). Decreased astrocytic thrombospondin-1 secretion after chronic ammonia treatment reduces the level of synaptic proteins: in vitro and in vivo studies. *Journal of neurochemistry*, 131(3), 333–347. <https://doi.org/10.1111/jnc.12810>
200. Butterworth, R. (2016). Neurosteroids in hepatic encephalopathy: Novel insights and new therapeutic opportunities. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160, pp.94-97. <http://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.11.006>
201. Ferenci, P. (2017). Hepatic encephalopathy. *Gastroenterology Report*, 5(2), 138–147. <http://doi.org/10.1093/gastro/gox013>

202. Riba, M., Del Valle, J., Molina-Porcel, L., Pelegrí, C., & Vilaplana, J. (2022). Wasteosomes (corpora amylacea) as a hallmark of chronic glymphatic insufficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(48), e2211326119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2211326119>
203. Augé, E., Cabezón, I., Pelegrí, C., & Vilaplana, J. (2017). New perspectives on corpora amylacea in the human brain. *Scientific reports*, 7, 41807. <https://doi.org/10.1038/srep41807>
204. Augé, E., Bechmann, I., Llor, N., Vilaplana, J., Krueger, M., & Pelegrí, C. (2019). Corpora amylacea in human hippocampal brain tissue are intracellular bodies that exhibit a homogeneous distribution of neo-epitopes. *Scientific reports*, 9(1), 2063. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38010-7>
205. Navarro, P. P., Genoud, C., Castaño-Díez, D., Graff-Meyer, A., Lewis, A. J., de Gier, Y., Lauer, M. E., Britschgi, M., Bohrmann, B., Frank, S., Hench, J., Schweighauser, G., Rozemuller, A. J. M., van de Berg, W. D. J., Stahlberg, H., & Shahmoradian, S. H. (2018). Cerebral Corpora amylacea are dense membranous labyrinths containing structurally preserved cell organelles. *Scientific reports*, 8(1), 18046. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36223-4>
206. Lee, S. Y., & Chung, W. S. (2021). The roles of astrocytic phagocytosis in maintaining homeostasis of brains. *Journal of pharmacological sciences*, 145(3), 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.12.007>
207. Konishi, H., Koizumi, S., & Kiyama, H. (2022). Phagocytic astrocytes: Emerging from the shadows of microglia. *Glia*, 70(6), 1009–1026. <https://doi.org/10.1002/glia.24145>
208. Riba, M., Augé, E., Campo-Sabariz, J., Moral-Anter, D., Molina-Porcel, L., Ximelis, T., Ferrer, R., Martín-Venegas, R., Pelegrí, C., & Vilaplana, J. (2019). Corpora amylacea act as containers that remove waste products from the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(51), 26038–26048. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913741116>
209. Riba, M., Augé, E., Tena, I., Del Valle, J., Molina-Porcel, L., Ximelis, T., Vilaplana, J., & Pelegrí, C. (2021). Corpora Amylacea in the Human Brain Exhibit

- Neopeptides of a Carbohydrate Nature. *Frontiers in immunology*, 12, 618193. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.618193>
210. Kumar, G., Taneja, A., & Kandiah, P. A. (2017). Brain and the Liver: Cerebral Edema, Hepatic Encephalopathy and Beyond. *Hepatic Critical Care*, 83–103. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66432-3_8
211. Cudalbu, C., & Taylor-Robinson, S. D. (2019). Brain Edema in Chronic Hepatic Encephalopathy. *Journal of clinical and experimental hepatology*, 9(3), 362–382. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2019.02.003>
212. Grant, S., McMillin, M., Frampton, G., Petrescu, A. D., Williams, E., Jaeger, V., Kain, J., & DeMorrow, S. (2018). Direct Comparison of the Thioacetamide and Azoxymethane Models of Type A Hepatic Encephalopathy in Mice. *Gene expression*, 18(3), 171–185. <https://doi.org/10.3727/105221618X15287315176503>
213. McMillin, M. A., Frampton, G. A., Seiwel, A. P., Patel, N. S., Jacobs, A. N., & DeMorrow, S. (2015). TGF β 1 exacerbates blood-brain barrier permeability in a mouse model of hepatic encephalopathy via upregulation of MMP9 and downregulation of claudin-5. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 95(8), 903–913. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.70>
214. Le Guennec, L., Mouri, S., Thabut, D., & Weiss, N. (2025). Blood-brain barrier dysfunction in hepatic encephalopathy: pathophysiology, diagnostic assessment and therapeutic perspectives. *Metabolic brain disease*, 40(5), 223. <https://doi.org/10.1007/s11011-025-01645-3>
215. Clària, J., Stauber, R. E., Coenraad, M. J., Moreau, R., Jalan, R., Pavesi, M., Amorós, À., Titos, E., Alcaraz-Quiles, J., Oettl, K., Morales-Ruiz, M., Angeli, P., Domenicali, M., Alessandria, C., Gerbes, A., Wendon, J., Nevens, F., Trebicka, J., Laleman, W., Saliba, F., ... CANONIC Study Investigators of the EASL-CLIF Consortium and the European Foundation for the Study of Chronic Liver Failure (EF-CLIF) (2016). Systemic inflammation in decompensated cirrhosis: Characterization and role in acute-on-chronic liver failure. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 64(4), 1249–1264. <https://doi.org/10.1002/hep.28740>

216. Pierzchala, K., Hadjihambi, A., Mosso, J., Jalan, R., Rose, C. F., & Cudalbu, C. (2023). Lessons on brain edema in HE: from cellular to animal models and clinical studies. *Metabolic brain disease*, 10.1007/s11011-023-01269-5. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s11011-023-01269-5>
217. Hendrickx, D. A. E., van Eden, C. G., Schuurman, K. G., Hamann, J., & Huitinga, I. (2017). Staining of HLA-DR, Iba1 and CD68 in human microglia reveals partially overlapping expression depending on cellular morphology and pathology. *Journal of neuroimmunology*, 309, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.04.007>
218. Uff, C. E. G., Patel, K., Yeung, C., & Yip, P. K. (2022). Advances in Visualizing Microglial Cells in Human Central Nervous System Tissue. *Biomolecules*, 12(5), 603. <https://doi.org/10.3390/biom12050603>
219. Augusto-Oliveira, M., Arrifano, G. P., Delage, C. I., Tremblay, M. È., Crespo-Lopez, M. E., & Verkhratsky, A. (2022). Plasticity of microglia. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 97(1), 217–250. <https://doi.org/10.1111/brv.12797>
220. Berglund, R., Guerreiro-Cacais, A. O., Adzemovic, M. Z., Zeitelhofer, M., Lund, H., Ewing, E., Ruhrmann, S., Nutma, E., Parsa, R., Thessen-Hedreul, M., Amor, S., Harris, R. A., Olsson, T., & Jagodic, M. (2020). Microglial autophagy-associated phagocytosis is essential for recovery from neuroinflammation. *Science immunology*, 5(52), eabb5077. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abb5077>
221. Jia, J., Yang, L., Chen, Y., Zheng, L., Chen, Y., Xu, Y., & Zhang, M. (2022). The Role of Microglial Phagocytosis in Ischemic Stroke. *Frontiers in immunology*, 12, 790201. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.790201>
222. Michels, M., Abatti, M. R., Ávila, P., Vieira, A., Borges, H., Carvalho Junior, C., Wendhausen, D., Gasparotto, J., Tiefensee Ribeiro, C., Moreira, J. C. F., Gelain, D. P., & Dal-Pizzol, F. (2020). Characterization and modulation of microglial phenotypes in an animal model of severe sepsis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(1), 88–97. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14606>

223. Cekanaviciute, E., & Buckwalter, M. S. (2016). Astrocytes: Integrative Regulators of Neuroinflammation in Stroke and Other Neurological Diseases. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 13(4), 685–701. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0477-8>
224. Karababa, A., Groos-Sahr, K., Albrecht, U., Keitel, V., Shafigullina, A., Görg, B., & Häussinger, D. (2017). Ammonia Attenuates LPS-Induced Upregulation of Pro-Inflammatory Cytokine mRNA in Co-Cultured Astrocytes and Microglia. *Neurochemical research*, 42(3), 737–749. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2060-4>
225. Bachstetter, A. D., Ighodaro, E. T., Hassoun, Y., Aldeiri, D., Neltner, J. H., Patel, E., Abner, E. L., & Nelson, P. T. (2017). Rod-shaped microglia morphology is associated with aging in 2 human autopsy series. *Neurobiology of aging*, 52, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.12.028>
226. Swanson, M. E. V., Murray, H. C., Ryan, B., Faull, R. L. M., Dragunow, M., & Curtis, M. A. (2020). Quantitative immunohistochemical analysis of myeloid cell marker expression in human cortex captures microglia heterogeneity with anatomical context. *Scientific reports*, 10(1), 11693. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68086-z>
227. Walker, D. G., & Lue, L. F. (2015). Immune phenotypes of microglia in human neurodegenerative disease: challenges to detecting microglial polarization in human brains. *Alzheimer's research & therapy*, 7(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0139-9>
228. Mondo, E., Becker, S. C., Kautzman, A. G., Schifferer, M., Baer, C. E., Chen, J., Huang, E. J., Simons, M., & Schafer, D. P. (2020). A Developmental Analysis of Juxtavascular Microglia Dynamics and Interactions with the Vasculature. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 40(34), 6503–6521. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3006-19.2020>
229. Long, M. T., & Coursin, D. B. (2022). Undifferentiated non-hepatic hyperammonemia in the ICU: Diagnosis and management. *Journal of critical care*, 70, 154042. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2022.154042>

230. Sakusic, A., Sabov, M., McCambridge, A. J., Rabinstein, A. A., Singh, T. D., Mukesh, K., Kashani, K. B., Cook, D., & Gajic, O. (2018). Features of Adult Hyperammonemia Not Due to Liver Failure in the ICU. *Critical care medicine*, 46(9), e897–e903. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000003278>
231. Li, Y., Fan, Z., Jia, Q., Ma, H., Wu, Y., Guo, X., Du, L., Wang, X., Hou, W., Fang, Z., & Zhang, X. (2023). Chaperone-mediated autophagy (CMA) alleviates cognitive impairment by reducing neuronal death in sepsis-associated encephalopathy (SAE). *Experimental neurology*, 365, 114417. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114417>
232. Guo, C., Li, W., Liu, Y. et al. (2025). LCN2 induces neuronal loss and facilitates sepsis-associated cognitive impairments. *Cell Death & Disease*, 16, 146. <https://doi.org/10.1038/s41419-025-07469-4>
233. Fan, Z., Ma, H., Li, Y., Wu, Y., Wang, J., Xiong, L., Fang, Z., & Zhang, X. (2022). Neuronal MD2 induces long-term mental impairments in septic mice by facilitating necroptosis and apoptosis. *Frontiers in pharmacology*, 13, 884821. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.884821>
234. Zhou, R. X., Li, Y. Y., Qu, Y., Huang, Q., Sun, X. M., Mu, D. Z., & Li, X. H. (2020). Regulation of hippocampal neuronal apoptosis and autophagy in mice with sepsis-associated encephalopathy by immunity-related GTPase M1. *CNS neuroscience & therapeutics*, 26(2), 177–188. <https://doi.org/10.1111/cns.13229>
235. Yu, J., Zhang, J., Shi, M., Ding, H., Ma, L., Zhang, H., & Liu, J. (2022). Maintenance of glutamine synthetase expression alleviates endotoxin-induced sepsis via alpha-ketoglutarate-mediated demethylation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 36(5), e22281. <https://doi.org/10.1096/fj.202200059R>
236. Akhoundzadeh, K., & Shafia, S. (2021). Association between GFAP-positive astrocytes with clinically important parameters including neurological deficits and/or infarct volume in stroke-induced animals. *Brain research*, 1769, 147566. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147566>

237. Sepehrinezhad, A., Zarifkar, A., Namvar, G., Shahbazi, A., & Williams, R. (2020). Astrocyte swelling in hepatic encephalopathy: molecular perspective of cytotoxic edema. *Metabolic brain disease*, 35(4), 559–578. <https://doi.org/10.1007/s11011-020-00549-8>
238. Filchenko, I., Blochet, C., Buscemi, L., Price, M., Badaut, J., & Hirt, L. (2020). Caveolin-1 Regulates Perivascular Aquaporin-4 Expression After Cerebral Ischemia. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 371. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00371>
239. Hu, J., Xie, S., Zhang, H., Wang, X., Meng, B., & Zhang, L. (2023). Microglial Activation: Key Players in Sepsis-Associated Encephalopathy. *Brain sciences*, 13(10), 1453. <https://doi.org/10.3390/brainsci13101453>
240. Moraes, C. A., Zaverucha-do-Valle, C., Fleurance, R., Sharshar, T., Bozza, F. A., & d'Avila, J. C. (2021). Neuroinflammation in Sepsis: Molecular Pathways of Microglia Activation. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(5), 416. <https://doi.org/10.3390/ph14050416>
241. Westhoff, D., Engelen-Lee, J. Y., Hoogland, I. C. M., Aronica, E. M. A., van Westerloo, D. J., van de Beek, D., & van Gool, W. A. (2019). Systemic infection and microglia activation: a prospective postmortem study in sepsis patients. *Immunity & ageing : I & A*, 16, 18. <https://doi.org/10.1186/s12979-019-0158-7>
242. Wang, L., Lin, F., Ren, M., Liu, X., Xie, W., Zhang, A., Qian, M., Mo, Y., Wang, J., & Lv, Y. (2021). The PICK1/TLR4 complex on microglia is involved in the regulation of LPS-induced sepsis-associated encephalopathy. *International immunopharmacology*, 100, 108116. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108116>
243. Zrzavy, T., Höftberger, R., Berger, T., Rauschka, H., Butovsky, O., Weiner, H., & Lassmann, H. (2019). Pro-inflammatory activation of microglia in the brain of patients with sepsis. *Neuropathology and applied neurobiology*, 45(3), 278–290. <https://doi.org/10.1111/nan.12502>
244. Cserép, C., Pósai, B., & Dénes, Á. (2021). Shaping Neuronal Fate: Functional Heterogeneity of Direct Microglia-Neuron Interactions. *Neuron*, 109(2), 222–240. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.11.007>

245. Xie, J., Wang, H., Lin, T., & Bi, B. (2017). Microglia-Synapse Pathways: Promising Therapeutic Strategy for Alzheimer's Disease. *BioMed research international*, 2017, 2986460. <https://doi.org/10.1155/2017/2986460>
246. Nebeling, F. C., Poll, S., Justus, L. C., Steffen, J., Keppler, K., Mittag, M., & Fuhrmann, M. (2023). Microglial motility is modulated by neuronal activity and correlates with dendritic spine plasticity in the hippocampus of awake mice. *eLife*, 12, e83176. <https://doi.org/10.7554/eLife.83176>
247. Umpierre, A. D., Bystrom, L. L., Ying, Y., Liu, Y. U., Worrell, G., & Wu, L. J. (2020). Microglial calcium signaling is attuned to neuronal activity in awake mice. *eLife*, 9, e56502. <https://doi.org/10.7554/eLife.56502>
248. Nagy, A. M., Fekete, R., Horvath, G., Koncsos, G., Kriston, C., Sebestyen, A., Giricz, Z., Kornyei, Z., Madarasz, E., & Tretter, L. (2018). Versatility of microglial bioenergetic machinery under starving conditions. *Biochimica et biophysica acta. Bioenergetics*, 1859(3), 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2017.12.002>
249. Cserép, C., Pósfa, B., Lénárt, N., Fekete, R., László, Z. I., Lele, Z., Orsolits, B., Molnár, G., Heindl, S., Schwarcz, A. D., Ujvári, K., Környei, Z., Tóth, K., Szabadits, E., Sperlágh, B., Baranyi, M., Csiba, L., Hortobágyi, T., Maglóczy, Z., Martinecz, B., ... Dénes, Á. (2020). Microglia monitor and protect neuronal function through specialized somatic purinergic junctions. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6477), 528–537. <https://doi.org/10.1126/science.aax6752>
250. El Hajj, H., Savage, J. C., Bisht, K., Parent, M., Vallières, L., Rivest, S., & Tremblay, M. È. (2019). Ultrastructural evidence of microglial heterogeneity in Alzheimer's disease amyloid pathology. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1473-9>
251. Kim, S. K., Oh, E., Yun, M., Lee, S. B., & Chae, G. T. (2015). Palmitate induces cisternal ER expansion via the activation of XBP-1/CCT α -mediated phospholipid accumulation in RAW 264.7 cells. *Lipids in health and disease*, 14, 73. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0077-3>

252. Savage, J. C., Carrier, M., & Tremblay, M. È. (2019). Morphology of Microglia Across Contexts of Health and Disease. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2034, 13–26. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9658-2_2
253. Mesquita, L. P., Hora, A. S., de Siqueira, A., Salvagni, F. A., Brandão, P. E., & Maiorka, P. C. (2016). Glial response in the central nervous system of cats with feline infectious peritonitis. *Journal of feline medicine and surgery*, 18(12), 1023–1030. <https://doi.org/10.1177/1098612X15615906>
254. Tremblay, M. E., Zhang, I., Bisht, K., Savage, J. C., Lecours, C., Parent, M., Titorenko, V., & Maysinger, D. (2016). Remodeling of lipid bodies by docosahexaenoic acid in activated microglial cells. *Journal of neuroinflammation*, 13(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0580-0>
255. Kwon, H. S., & Koh, S. H. (2020). Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Translational neurodegeneration*, 9(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s40035-020-00221-2>
256. Nosi, D., Lana, D., Giovannini, M. G., Delfino, G., & Zecchi-Orlandini, S. (2021). Neuroinflammation: Integrated Nervous Tissue Response through Intercellular Interactions at the "Whole System" Scale. *Cells*, 10(5), 1195. <https://doi.org/10.3390/cells10051195>
257. Matejuk, A., & Ransohoff, R. M. (2020). Crosstalk Between Astrocytes and Microglia: An Overview. *Frontiers in immunology*, 11, 1416. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01416>

ДОДАТОК А1



Д-р ГРИГОРІЙ
Професор кафедри неврології та геріатрії, роботи
Інституту неврології та геріатрії НАН України
доц. кафедри неврології та геріатрії університету
доц. професор П.А. Пилип

19.09.2025

АКТ ВІПРОБАДЖЕННЯ

I. Назва пропозиції для випробування:

Морфологічні патологічні нейрофізіологічні припирки патологічних процесів в системі нервової регуляції при епілептичному синдромі.

II. Учасники випробування:

Учасники випробування: Інститут неврології та геріатрії НАН України, Інститут неврології та геріатрії університету МОЗ України (ІНУМОУ), кафедра неврології та геріатрії Івано-Франківського національного університету.

III. Джерела інформації:

1) Shulyatnikova, T.V. & Tumanov, V. (2021). Morphological and neurophysiological changes in the subjects of epileptic syndromes in acute encephalopathy. *Brain research*, 1751, 1471-1484. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>

2) Shulyatnikova, T.V. & Tumanov, V. (2022). Key astroglial markers in human brain sections of different degree of immunohistochemical study. *International journal of surgery*, 124, 164-174. <https://doi.org/10.14739/2310-1010.2022.124.164.174>

3) Shulyatnikova, T.V., Tumanov, V. & Hayden, M. R. (2023). Reactive Alterations in Septic Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 24(22), 14435. <https://doi.org/10.3390/ijms24144435>

4) Shulyatnikova, T.V. & Tumanov, V. (2023). Astrocyte level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathology*, 20(1), 36-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1010.2023.1.36.44>

5) Shulyatnikova, T.V. & Tumanov, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral astrocyte level and Alzheimer type 2 astrocytes with initial blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sports*, 13(4), 339-355. <https://doi.org/10.12733/2145-2023.13.04.339>

6) Shulyatnikova, T.V., Tumanov, V. O., & Tumanov, J. M. (2024). Pathomorphology of severe grade 1-4 hepatic encephalopathy in decompressed cirrhotic patients with acute-on-chronic liver failure. *Medical perspective*, 2024/20(2):62-71. <https://doi.org/10.26647/2267-0464.2024.19.02452>

7) Shulyatnikova, T.V. & Tumanov, J.M. (2024). Pathomorphological parameters of severe associated encephalopathy in deceased septic patients without primary lesions to the brain. *Medical perspective*, 2024/19(2):72-84. <https://doi.org/10.14739/2310.2024.19.02452>

IV. Територія для випробування: Інститут неврології та геріатрії НАН України, Інститут неврології та геріатрії університету МОЗ України (ІНУМОУ), кафедра неврології та геріатрії Івано-Франківського національного університету.

V. Термін випробування: 2024—2025 п.р.

VI. Основні випробування в основній частині процесу: з використанням даних і практичних знань дослідників, а також у науковій роботі кафедри.

VII. Результативність випробування: одержання різних типів і кількості даних, які будуть використані для морфологічного та нейрофізіологічного аналізу припирки патологічних процесів в системі нервової регуляції при епілептичному синдромі.

VIII. Заключення з випробування: результати випробування в основній частині процесу. Завдання виконано.

Протокол випробування: випробування на епілептичному синдромі, кафедра неврології та геріатрії Івано-Франківського національного університету, МОЗ України, 19.09.2025 рр.

Місце проведення випробування:

Івано-Франківський національний університет

наукової медицини ІНУМОУ

доцент професор

Григорій ГРИГОРІЙ

ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник КП «Дніпропетровська обласна
патолого-анатомічне бюро» Дніпропетровської
обласної ради

Олея І РІК

« 25 » 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Преп'ятств до впровадження: Преп'ятств немає: патоморфологічна діагностика (поро-
жнечиванні, нечленистоногі, енцефалопатії, різного ступеня, хвороби ЦНС, сепсис, асцит, комахі)
енцефалопатії при абдомінальному сепсисі.

2. Установа розробника: Інституцій розроблений медико-фармацевтичний університет МОЗ
України (УІМФУ), кафедра патологічної анатомії і судочної медицини. Автор: Іасуковський А.О.,
науковий співробітник, професор з наукової роботи ІІМФУ, доктор а., професор Туманський В.О.,
доктор кафедри патологічної анатомії і судочної медицини ІІМФУ, асистент Шутайнікова Т.В.,
доктор кафедри патологічної анатомії і судочної медицини ІІМФУ, доктор Туманська Л.М.

3. Джерела інформації:

Shutaynikova T.V., & Tumanovsky V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of
different degrees: immunohistochemical study. *International journal of* *Pathology* 12(4), 485-494. doi:10.14739/2311-1210.2022.4.485-494.

Shutaynikova T. & Tumanovsky V. (2023). Astrocyte level and Alzheimer type 2 astrocytes in the
brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathology* 20(1), 36-44.
https://doi.org/10.14739/2311-1210.2023.1.36-44.

Shutaynikova T.V., Tumanovsky V.O., & Tumanova L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade
3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Medical
journal* 2024(29(2)), 62-71. https://doi.org/10.26641/2307-6940.2024.1-2.487.

Shutaynikova T.V., & Tumanova L.M. (2024). Pathomorphological parameters of severe associated
encephalopathy in deceased liver patients with acute-on-chronic liver failure of the brain. *Modern medical
journal* 2024(6(2)), 77-85. https://doi.org/10.18739/mmj.2024.2.305082.

4. Впроваджено: КП «Дніпропетровська обласна патолого-анатомічне бюро» Дніпропетровської
обласної ради.

5. Термін впровадження: серпень 2024 – березень 2025 р.р.

6. Ефективність впровадження з відповідністю до критеріїв, вказаних в охороні (п.3) –
впроваджено критерії ефективності.

Показники	За даними	
	Розробників	Впроваджені за пропозицією розробників
Оптимізація патоморфологічної діагностики (порожнечиванні, нечленистоногі, енцефалопатії, різного ступеня, хвороби ЦНС, сепсис, асцит, комахі) енцефалопатії	50%	100%

7. Затверджено та прийнято: не затверджено.

Відповідальний за впровадження:

Залучити відділення загальної патології
КП «ДОПАБ» ДОР»

« 25 » 2025



Роман ЛІСУНЕНКО

ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Мандат на вступ до патологоанатомічного відділення
КП «Львівська область клінічна лікарня»
№ мед.з. Олени В. Р. ЧОДА



2025р.

АКТ ВИРОВАДЖЕННЯ

1. **Примітки для вивчення:** Пацієнтка якості патоморфологічної діагностики шлях неопікованої патологічної енцефалопатії різної ступеня тяжкості та серце-асоційованої енцефалопатії при відомому серцеві.

2. **Установа виробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет «ДМУ» (ЗДМУ), кафедра патологічної анатомії і судочної медицини.

3. **Джерело інформації:**

1) Shulyatnikova, T. & Shazina, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the surface of reactive astrocytes in acute oncogenic toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147574>.

2) Shulyatnikova, T.V. & Tumanovskiy, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький вісник медицини*, Т.24, №5(174), 1-126-177. <https://doi.org/10.26907/2542-2075.2022.174.126-177>.

3) Shulyatnikova, T., Tumanovskiy, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microglia in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Immunoperoxidase Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14435. <https://doi.org/10.3390/ijms232214435>.

4) Shulyatnikova, T. & Tumanovskiy, V. (2023). Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*, 26(1), 33-44. <https://doi.org/10.14716/2542-2075.2023.26.1.33-44>.

5) Shulyatnikova, T. & Tumanovskiy, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia (NH₄) and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sport*, 13(4), 334-353. <https://doi.org/10.22780/JEHS.13.4.334-353>.

6) Shulyatnikova, T.V., Tumanovskiy, V.O., & Tumanovskiy, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Modern perspectives*, 2024,29(2) 62-71. <https://doi.org/10.26907/2542-2075.2024.29.2.62-71>.

7) Shulyatnikova, T.V. & Tumanovskiy, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without putrefactive lesions in the brain. *Modern medical technology*, 2024,16(2) 77-85. <https://doi.org/10.14716/2542-2075.2024.16.2.77-85>.

4. **Виробник:** КП «Львівська область клінічна лікарня» патологоанатомічне відділення.

5. **Термін вивчення:** серпень 2024 – квітень 2025 р.р.

6. **Ефективність вивчення:** з відповідністю до критеріїв викладених в додатку (п.3) – відповідності критеріїв ефективності.

Показники	Результати	Відомості Установи, яка провела виробництво
Ефективність патоморфологічної діагностики патологічної енцефалопатії різної ступеня тяжкості та серце-асоційованої енцефалопатії	50%	40%

7. **Завдання та примітки до вивчення:**

Надання за вивченням:
Завдання патоморфологічного відділення
в мед.з.



Олена ВАРНИКА

ДОДАТОК А6



АКТ ВИПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Призначення для впровадження:** Підвищення якості патологоанатомічної діагностики церебральної печінкової енцефалопатії різного ступеня тяжкості та септико-асептичної енцефалопатії при абдомінальному сепсисі.
- 2. Учасники розробки:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України (ЗДМУ), кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
- 3. Джерела інформації:**
 - 1) Shulyamnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the surface of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1731, 1671-74. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>
 - 2) Shulyamnikova, T.V., & Tumanskyi, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*, Т.24, №5(134), С.329-337. <https://doi.org/10.14319/2310-1210.2022.5.761327>
 - 3) Shulyamnikova, T., Tumanskyi, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microgliosis in Septic-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms23214455>
 - 4) Shulyamnikova, T., & Tumanskyi, V. (2023). Amyloid level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*, 29(1), 30-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2023.1.276453>
 - 5) Shulyamnikova, T., & Tumanskyi, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral amyloid level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education Health and Sport*, 13(4), 334-355. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.1304.041>
 - 6) Shulyamnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhotic patients with acute-on-chronic liver failure. *Medical perspective*, 2024;29(2):62-71. <https://doi.org/10.26641/2307-0109.2024.2.307482>
 - 7) Shulyamnikova, T.V., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of septic-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical technology*, 2024;16(2):77-83. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.2.305187>
- 4. Впроваджено:** КЛ «Феофанія» ДУС
- 5. Термін впровадження:** серпень 2024 – травень 2025 р.р.
- 6. Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, визначених в охороні п.6) – запропоновані критерії ефективні.**

Показники	За дітями	
	Впроваджено	Успішно, як проваджено впровадження
Оптимізація патологоанатомічної діагностики печінкової енцефалопатії типу С та септико-асептичної енцефалопатії	50%	45%

7. Зауваження та пропозиції не висувалися.

Відповідальний за впровадження:

керівник Центру патологічної анатомії та цитоморфології

Погоджено:

Заступник головного лікаря

від червня 2025 року

Л.П. Ринш

А.С. Котуза

ДОДАТОК А8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи Дніпровського державного
 медичного університету
 д. мед. н. професор  **Олександр ГУДАР'ЯН**
 № 2/25 від 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**I. Назва пропозиції для впровадження:**

Патоморфологія, гистологія, мікроморфологія діагностичних параметрів енцефалопатії при парні
 пухликах та енцефало-асимілярній енцефалопатії при абсцесивному синдромі

II. Учасники впровадження:

Учбово-науковий заклад: Запорізький державний медичний університет (ЗДМУ).

Учбовий заклад: Інститут науки і медицини України, проректор з наукової роботи ЗДМУ, д. мед. н.
 професор Туманська Н.О., доценти кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ,
 у м.д. Шугарикова Т.В., доценти кафедри патологічної анатомії і судової медицини ЗДМУ,
 ж.м.д. Туманська Л.М.

III. Джерела інформації:

1) Shulyatskaya, T.V., & Tumanov, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of
 different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*, 7(24), 165-181. <https://doi.org/10.14739/2310-1230-2022-5-161327>.

2) Shulyatskaya, T. & Tumanov, V. (2023). Astrocyte level and Alzheimer type 2 astrocytes in the
 brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*, 20(1), 30-44.
<https://doi.org/10.14739/2310-1237-2023-1-276453>.

3) Shulyatskaya, T.V., Tumanov, V.O., & Tumanova, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4
 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhotic patients with acute-on-chronic liver failure. *Modern
 medical research*, 2024, 2(2), 62-71. <https://doi.org/10.26641/2307-3404.2024.2.67-82>.

4) Shulyatskaya, T.V. & Tumanov, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated
 encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical
 research*, 2024, 1(6), 77-85. <https://doi.org/10.14739/2310-1237-2024-2-303387>.

IV. Бет щодо впровадження:

Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії, судової медицини та
 патоморфологічної фізіології

V. Термін впровадження: 2024 – 2025 н.р.

VI. Форма впровадження в навчальний процес – в матеріалах лекцій і практичних занять з
 патоморфології, а також у наукову роботу кафедри.

VII. Інфекційність, впровадження підлягає рецензуванню і може відбуватися одним з двох
 морфотипу і патоморфологічної діагностики парітальної енцефалопатії типу C та асимі-
 лярної енцефалопатії

VIII. Затвердження та рецензування впровадження в навчальний процес. Затвердження може
 проводитися обговорення і затвердження на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії,
 судової медицини та патоморфологічної фізіології (протокол №15 від 28 травня 2025 р.)

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної
 анатомії, судової медицини та
 патоморфологічної фізіології ЗДМУ.

д. мед. н. професор



Олександр ПОСТАВСЬКА

ДОДАТОК А9



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- I. Цілі впровадження: «впровадження МРБ стенозу пенісних артерій до клінічної практики при обстеженні пацієнтів з артеріальною гіпертензією при обстеженні в спеціалізованій клініці».
- II. Методика впровадження: Загальнонауковий методологічний підхід до впровадження наукових досліджень у клінічну практику.
- III. Джерела інформації:
 - 1) Shulyatsnikova, I. & Shadrin, V. (2023) Mobilization and redistribution of submicrosomal bodies in the context of reactive astrocytes at acute encephalopathy. *Brain research*, 1781, 1470-1484. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2023.147014>
 - 2) Shulyatsnikova, I.V., & Timansky, V.A. (2022) Key astrocytic markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Journal of Cellular Biochemistry*, 123(4), 329-337. <https://doi.org/10.1002/jcb.25012>
 - 3) Shulyatsnikova, I., Timansky, V., & Hyder, M.R. (2023) Reactive Microglia in Septic-Associated and Acute Hepatic Encephalopathy: An Ultrastructural Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1245. <https://doi.org/10.3390/ijms24021245>
 - 4) Shulyatsnikova, I., & Timansky, V. (2023) Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathology*, 20(1), 28-34. <https://doi.org/10.3390/path20010028>
 - 5) Shulyatsnikova, I., & Timansky, V. (2023) Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degrees. *Journal of Education, Health and Sport*, 13(4), 119-133. <https://doi.org/10.1515/jehs-2023-0040>
 - 6) Shulyatsnikova, I.V., Timansky, V.A., & Timansky, I.M. (2024) Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-to-chronic liver failure. *Alcohol Research*, 2024, 29(2), 62-71. <https://doi.org/10.1007/s00137-024-00182-2>
 - 7) Shulyatsnikova, I.V., & Timansky, I.M. (2023) Pathomorphology as parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without paraneoplastic lesions in the brain. *Modern medical morphology*, 26(4), 1627-1728. <https://doi.org/10.1007/s10237-023-00903-2>
- IV. До впровадження впровадження: вступову роботу кафедри патологічної анатомії та судочної медицини ДНУ «Дніпровський національний медичний університет імені Данила Галицького».
- V. Термін впровадження: 2024 – 2025 н.р.
- VI. Висновок впровадження: «впровадження кафедри патологічної анатомії та судочної медицини ДНУ «Дніпровський національний медичний університет імені Данила Галицького».
- VII. Ефективність впровадження: підвищення рівня знань щодо морфологічних змін в клінічній практиці пацієнтів з гострою-хронічною печінковою енцефалопатією.
- VIII. Інформація про впровадження: рекомендації до впровадження у наукову роботу: зазначено нижче.

Методологічний впровадження:

Дані з цієї кафедри патологічної анатомії та судочної медицини

ДНУ «Дніпровський національний медичний університет імені Данила Галицького»

дана на впровадження

[Signature]

Юлія СЕМЕНОВА

ДОДАТОК А10



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

I. Назва провакції та впровадження: Морфологія менинкової енцефалопатії при широкій печінки та септико-асоційованій енцефалопатії при абдомінальному сепсисі.

II. Установа, її адреса, акредитація.

Установа-розробник: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет (ЗДМФУ).

Укладачі: Заслужений діяч науки і техніки України, професор кафедри патологічної анатомії і судочної медицини ЗДМФУ, д.мед.н., професор Гукенко І.В.; доцент кафедри патологічної анатомії і судочної медицини ЗДМФУ, д.мед.н. Шулєпнікова Т.В.; доцент кафедри патологічної анатомії і судочної медицини ЗДМФУ, д.мед.н. Турянська І.М.

III. Джерела інформації:

1) Shulyatnikova, T., & Shulyat, V. (2021). Mobilization and redistribution of multivesicular bodies to the surface of reactive astrocytes in acute exogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1781, 142-174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.142174>

2) Shulyatnikova, T.V., & Tymanskiy, V.O. (2022). Sex astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Immunology and medicine*, 25(4), 529-537. <https://doi.org/10.1179/2149-1018.2022.5.261527>

3) Shulyatnikova, T.V., Tymanskiy, V.O., & Turianska, I.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Modern medical perspectives*, 2024, 29(2), 62-71. <https://doi.org/10.26641/2307-0904.2024.2.307482>

4) Shulyatnikova, T.V., & Turianska, I.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent foci in the brain. *Modern medical technology*, 2024, 16(2), 77-85. <https://doi.org/10.14739/2307-0904.2024.2.305087>

IV. Де і коли було впроваджено: Дніпропетровський державний медичний університет, кафедра патологічної анатомії, судочної медицини та патологічної фізіології.

V. Термін впровадження: 2024 – 2025 н.р.

VI. Процедура впровадження: з навчальний процес – в матеріалах лекцій і практичних занять з патоморфології, а також у науковій роботі кафедри.

VII. Ефективність впровадження: підвищення рівня знань і навик зобов'язати всіх слухачів морфології менинкової енцефалопатії при широкій печінки та септико-асоційованій енцефалопатії.

VIII. Завдання та відповідні рекомендації до впровадження в освітній процес: Завдання немає.

Принципи обговорення і затвердження на засіданні кафедри патологічної анатомії та судочної медицини (протокол №12 від 27-го травня 2024 р.).

Підписаний та aprobaty:

Зашукач кафедри патологічної анатомії та

судочної медицини ЗДМФУ

д.мед.н., д.фарм.н.

Голова кафедри

ДОДАТОК А11



1. **Пропозиції для впровадження:** Підвищення якості діагностичної діагностики цироз-асоційованої печінкової енцефалопатії різного ступеню тяжкості та сепсис-асоційованої енцефалопатії при абдомінальному сепсисі.
2. **Установа розробника:** Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України (ЗДМФУ), кафедра патологічної анатомії і судової медицини.
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Shulyaynikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>
 - 2) Shulyaynikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*. Т. 24. №3(134). С. 529-537. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.3.261327>
 - 3) Shulyaynikova, T., Tumanskiy, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microgliosis in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms232214455>
 - 4) Shulyaynikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*. 30(1), 36-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.1.276452>
 - 5) Shulyaynikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sport*. 13(4), 339-355. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.04.041>
 - 6) Shulyaynikova, T.V., Tumanskiy, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Medicine perspectives*. 2024;29(2):63-71. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307482>
 - 7) Shulyaynikova, T.V. & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical technology*. 2024;16(2):77-85. <https://doi.org/10.14739/mm.2024.2.305087>
4. **Впровадження:** у науково-практичну роботу кафедри патологічної анатомії НМУ (мені О.О.Богомольця)
5. **Терміни впровадження:** серпень 2024 – квітень 2025 р.р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності до критеріїв, викладених в джерелі (п.3) – заповнювані критерії ефективності.**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Оптимізація патоморфологічної діагностики печінкової енцефалопатії типу С та сепсис-асоційованої енцефалопатії	50%	40%

7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилась.

Відповідальний за впровадження:
 Завідувач кафедри патологічної анатомії
 професор
 08.10.2024 2025

Сергій ГРИЧКО

ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Shulyatnikova T.V., Shavrin V.A. (2017). Modern view on hepatic encephalopathy: basic terms and concepts of pathogenesis. *Pathologia*, 14(3), 371-380. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.3.118773> (WoS, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. аналіз літератури, написання тексту; Шаврін В.О. регагування, затвердження).
2. Shulyatnikova T.V., Shavrin V.A. (2018). Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of medicine*, 3(7), 158-165. <https://art-of-medicine.ifnmu.edu.ua/index.php/aom/article/view/144> (кат.Б) (Шулятнікова Т.В. аналіз літератури, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).
3. Shulyatnikova, T., & Verkh ratsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical research*, 45(1), 83–99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2> (WoS, Scopus, Q1) (Шулятнікова Т.В. концептуалізація, аналіз літератури, написання тексту; Верхратський О.Н. редагування, затвердження).
4. Шулятнікова Т.В., Шаврін В.А. (2020). Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной энцефалопатии. *Патологія*. 17(1), 60-67. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203742> (WoS, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. аналіз, редагування, затвердження).
5. Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174> (WoS, Scopus, Q2) (Шулятнікова

Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

6. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.O. (2021). Regional-specific activation of phagocytosis in the rat brain in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. *Zaporozhye medical journal*, 23(1), 111-119. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224921> (WoS, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В.

електронномікроскопічне, імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

7. Shulyatnikova, T.V. (2021). Immunohistochemical analysis of microglial changes in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Pathologia*, 18(1), 33-38. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.1.227642> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А)

8. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of GFAP expression in the experimental sepsis-associated encephalopathy *Pathologia*. 18(3), 295-302. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.240033> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

9. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2021). Glutamine synthetase expression in the brain during experimental acute liver failure (immunohistochemical study). *Journal of Education, Health and Sport*. 11(10), 342-356. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.033> (Шулятнікова Т.В.

імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

10. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Immunohistochemical analysis of the glial fibrillary acidic protein expression in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Morphologia*. 15(4), 96-105. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.96-105> (доступ:

<https://drive.google.com/file/d/1RtBOor4V-aXJU8yHqaJBqfi3QEpk4kxD/view>)

(Кат.Б) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз

результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

11. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain aquaporin-4 in the rat acute liver failure model. *Art of Medicine*, 1(21), 103-108. <https://doi.org/10.21802/artm.2022.1.21.103> (Кат.Б)

(Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

12. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskyi, V.O. (2022). Immunohistochemical study of the brain glutamine synthetase expression in the rat septic model. *Pathologia*. 19(1), 47-52. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.251248>

(WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

13. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Brain aquaporin-4 expression in the rat septic model (immunohistochemical study). *Medicni Perspektivi*. 27 (3), 39-43. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265827>

(WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

14. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2022). Key astroglial markers in human liver cirrhosis of different degree: immunohistochemical study. *Запорізький медичний журнал*. Т.24. №5(134). С.529-537. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.5.261327> (WoS, Q4, Кат.А).

(Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження).

15. Shulyatnikova, T., Tumanskyi, V., & Hayden, M. R. (2022). Reactive Microgliosis in Sepsis-Associated and Acute Hepatic Encephalopathies: An Ultrastructural Study. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 14455. <https://doi.org/10.3390/ijms232214455> (WoS, Scopus, Q1)

(Шулятнікова Т.В. електронномікроскопічне дослідження, аналіз результатів, написання

тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження; Мелвін Хайден аналіз, редакція, затвердження).

16. Erickson, M. A., Shulyatnikova, T., Banks, W. A., & Hayden, M. R. (2023). Ultrastructural Remodeling of the Blood-Brain Barrier and Neurovascular Unit by Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1640. <https://doi.org/10.3390/ijms24021640> (**WoS, Scopus, Q1**) (Шулятнікова Т.В. аналіз результатів, написання тексту, редагування; Мішель Еріксон електронномікроскопічне дослідження; Уільям Бенкс редагування, затвердження; Мелвін Хайден написання тексту, редагування, затвердження).

17. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes in the brain of deceased patients with liver cirrhosis of the varying degree. *Pathologia*. 20(1), 36-44. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.1.276453> (**WoS, Scopus, Q4, Кат.А**) (Шулятнікова Т.В. гістохімічне, дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

18. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Comparative analysis of postmortem cerebral ammonia level and Alzheimer type 2 astrocytes with intravital blood laboratory parameters of deceased patients with liver cirrhosis of varying degree. *Journal of Education, Health and Sport*. 13(4), 339-355. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.13.04.041> (Шулятнікова Т.В. гістохімічне, статистичне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

19. Shulyatnikova, T., & Hayden, M. R. (2023). Why Are Perivascular Spaces Important?. *Medicina* (Kaunas, Lithuania), 59(5), 917. <https://doi.org/10.3390/medicina59050917> (**WoS, Scopus, Q2**) (Шулятнікова Т.В. написання тексту; Мелвін Хайден написання тексту, затвердження).

20. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Immunohistochemical expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver

injury. *Art of Medicine*, 2(26), 138-145.

<http://dx.doi.org/10.21802/artm.2023.2.26.138> (кат. Б) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

21. Shulyatnikova, T. & Tumanskiy, V. (2023). Nestin, CD44, Ki-67, GS and AQP4 expression in the brain neurogenic niches of deceased patients with liver cirrhosis of different degree. *Pathologia*. 20(2), 108-117.

<http://dx.doi.org/10.14739/2310-1237.2023.2.286125> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

22. Shulyatnikova, T.V., Tumanskiy, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphology of severe grade 3-4 hepatic encephalopathy in decompensated cirrhosis patients with acute-on-chronic liver failure. *Medicni perspektivi*. 2024;29(2):62-71.

<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307482> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. редагування, затвердження).

23. Shulyatnikova, T.V. & Tumanska, L.M. (2024). Pathomorphological parameters of sepsis-associated encephalopathy in deceased septic patients without purulent lesions to the brain. *Modern medical technology*. 2024;16(2):77-85.

<https://doi.org/10.14739/mmt.2024.2.305087> (Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. імуногістохімічне, гістохімічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманська Л.М. редагування, затвердження).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

24. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2017). Pathomorphological features of perifocal critical zones of brain infarction (penumbra) in the conditions of chronic hepatic encephalopathy. Materials of International research and practice conference «Innovative technology in medicine: Experience of Poland and Ukraine», Lublin, Republic of Poland, 28–29.04.2017, p. 104-107. (Шулятнікова Т.В.

патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

25. Shuliatnikova, T. (2019). Increased density and redistribution of multivesicular bodies into perivascular astrocytic endfeet in sepsis-associated encephalopathy. Abstracts (Wiley E-Only Supplement to *Glia*, SCOPUS (Elsevier Journal)), Materials of poster session, *XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease*, Porto, Portugal, 10-13.07.2019, *Glia*, 67 (S1), E527.

26. Shulyatnikova, T.V., & Shavrin, V.A. (2019). Intensification of astroglial endosomal machinery work in sepsis-associated encephalopathy. Матеріали третьої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 9-11.10.2019, Дніпро, с.152. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

27. Shulyatnikova, T.V. (2020). The specificity of CD68 expression in different brain regions in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 4-6.11.2020, Дніпро, с. 127-128.

28. Shulyatnikova, T.V. (2020). The ultrastructural features of cortical phagocytic microglia in the conditions of experimental sepsis-associated encephalopathy. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «Медична наука у практику охорони здоров'я», 27.11.20, Полтава, с. 30.

29. Shuliatnikova, T. (2021). Comparative analysis of brain cd68 expression in the experimental acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of the 8th International scientific and practical conference “*Fundamental and applied research in the modern world*” 17.03.2021, BioScience Publisher, Boston, USA, p.222-224.

30. Shuliatnikova, T. (2021). Phagocytosis activation in the rat brain in the conditions of acute somatogenic toxic encephalopathies. Abstracts of I International scientific and practical conference «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*», 19.03.2021, Cambridge, UK, p.12-13.

31. Shulyatnikova, T.V. (2021). Microglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. Матеріали Міжнародної науково-практичної онлайн-конференції «Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку» 22-23.04.2021, Kyiv, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 2 (123), p.44.
32. Shulyatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental sepsis-associated encephalopathy. Materialien der I internationalen wissenschaftlich-praktischen Konferenz “Grundlagen der modernen wissenschaftlichen Forschung” der Sammlung wissenschaftlicher Arbeiten «ΛΟΓΟΣ» zu den, Zürich, 10.09.2021. Zürich: BOLESWA Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform, p. 228-229.
33. Shulyatnikova, T.V., & Tumanskiy, V.O. (2021). Regional heterogeneity of GFAP expression in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. Матеріали П'ятої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології», 20-22.11.2021, Дніпро, с. 163. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).
34. Shulyatnikova, T.V. (2021). Region-dependent heterogeneity in GFAP expression in acute hepatic encephalopathy. *Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives*: collection of scientific papers with Proceedings of the II International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 2), 1.10.2021. Vilnius, Republic of Lithuania, с. 56-57.
35. Shulyatnikova, T.V. (2021). Astroglial reactivity in the experimental acute hepatic encephalopathy. *Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*: collection de papiers scientifiques avec des matériaux de la II conférence scientifique et pratique internationale (Vol. 2), Paris, 1.10.2021. Paris: La Fedeltà & Plateforme scientifique européenne, p. 41-42.
36. Shulyatnikova, T.V. (2022). Brain glutamine synthetase alterations during experimental acute liver failure. Матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів

«Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022», 17.05.2022, Запоріжжя, с. 60-61.

37. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain AQP4 during experimental acute liver failure. Proceedings of the III International Scientific and Practical Conference «*Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences*» (Vol. 16), Vienna, Austria, 17.06.2022, p. 559-561.

(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

38. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Immunohistochemical study of GFAP, GS and AQP4 levels in the postmortem brain of cirrhotic patients. Proceed. of the XXVII Internat. Scientific and Practical Conference «*Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice*», 12-15.07.2022. Prague, Czech Republic, p. 199-200.

(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

39. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Alterations of the brain glial fibrillary acidic protein during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*», 11.11.2022, Paris, France, p. 140-141.

(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

40. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Expression of the water channel protein aquaporin-4 in the brain during human liver cirrhosis. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference «*Science of post-industrial society: globalization and transformation processes*», 25.11.2022, Vienna Austria, p.287-288.

(Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

41. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2022). Brain glutamine synthetase expression during human liver cirrhosis. Proceedings of the II International

Scientific and Practical Conference «Technologies and strategies for the implementation of scientific achievements», 18.11.2022, Stockholm, Sweden, p.187-188. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

42. Shulyatnikova, T., & Tumanskiy, V. (2023). Brain tissue ammonia and alzheimer type 2 astrocytosis in human liver cirrhosis. Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference «Theory and practice of modern science», 12.05.2023, Kraków, Republic of Poland, p. 161-162. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

43. Shulyatnikova, T.V. (2023). Expression of GFAP, GS, AQP4, Alzheimer-2-astrocytosis and brain ammonia levels in deceased septic patients without liver failure and those with sepsis-associated liver injury. Матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2023», 25-26.05.2023, Запоріжжя, с. 71. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження).

44. Шулятнікова, Т.В., Туманський, В.О., & Туманська, Л.М. (2023). Патологоанатомічна діагностика печінкової енцефалопатії при цирозі печінки за змінами астроглії та рівнем аміаку в головному мозку. Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «Актуальні проблеми патологічної анатомії», 05-06.10.2023 р., Київ, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 4 (143) 2023, с. 32-33. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

45. Shulyatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Neuronal caspase-3 expression in the brain of deceased patients with sepsis-associated encephalopathy. Current scientific goals, approaches and challenges: collection of

- scientific papers with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference, 22.03.2024, Riga, Republic of Latvia, p. 95-96. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)*
46. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Brain tissue ammonia in human sepsis-associated encephalopathy. *Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences: Proceedings of the VI International Scientific and Practical Conference, 29.03.2024, Cambridge, USA, p. 493-495. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)*
47. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of microglial CD68 in human sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Modernization of today's science: experience and trends: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, 29.03.2024, Singapore, Republic of Singapore, p. 60-61. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)*
48. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Regional alteration of astroglial GFAP in the brain of septic patients with sepsis-associated encephalopathy: postmortem study. *Scientific forum: theory and practice of research: collection of scientific papers with Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, 5.04.2024, Valencia, Kingdom of Spain, p. 52-53. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)*
49. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alzheimer type 2 astrocytosis in human sepsis-associated encephalopathy. *Proceedings of the II Correspondence International Scientific and Practical Conference «Open science*

- nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development», Vol. 38, 12.04.2024, Vienna, Austria, p. 410-411. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
50. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Eenlarged perivascular and extraperivascular (pericellular and neuropil) edematous spaces in the brain tissue during human sepsis-associated encephalopathy. Proceedings of the VI International Scientific and Theoretical Conference «*Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation*», 26.04.2024, Pisa, Italian Republic, p. 157-158. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
51. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2024). Alteration of AQP4 expression in the brain of deceased septic patients with sepsis-associated encephalopathy. *Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche*: Raccolta di articoli scientifici con gli atti della V Conferenza scientifica e pratica internazionale, 26.04.2024, Bologna, Italian Republic, p. 393-395. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
52. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Prognostic value of thalamic ammonia level in postmortem brain of patients with liver cirrhosis for the presence of intravitaly overt hepatic encephalopathy. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*», 23.05.2025, Vienna, Austria, p. 1072-1074. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)
53. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive value of the cerebellar ammonia level in the deceased cirrhotic patients for

probability of intravital hepatic encephalopathy. Матеріали XX Міжнародна науково-практична конференція «*Innovative scientific research: latest theories, modern methods and practices*», 20-23.05.2025, Seville, Spain, p. 283-284. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

54. Shuliatnikova, T.V., Tumanskyi, V.O., & Tumanska, L.M. (2025). Predictive capacity of the ammonia level in the postmortem brain cortical tissue for intravital hepatic encephalopathy type C. Materials of the I-st International Scientific and Theoretical Conference «*Modern science and innovation: trends, challenges, and breakthroughs*», 3.05.2025, NY, USA, p. 351-352. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. International research and practice conference «*Innovative technology in medicine: Experience of Poland and Ukraine*» (Lublin, Republic of Poland, 28-29.04.2017) (публікація тез).
2. Poster session, *XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease*, Porto, Portugal, July 10-13, 2019. (публікація тез, виступ з доповіддю)
3. III всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «*Теорія та практика сучасної морфології*» (9-11.10.2019, Дніпро) (публікація тез).
4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «*Теорія та практика сучасної морфології*» (4-6.11.20, Дніпро) (публікація тез)
5. Всеукраїнська науково-практична конференція «*Медицина наука у практику охорони здоров'я*» (27.11.20, Полтава) (публікація тез).
6. 8th International scientific and practical conference “*Fundamental and applied research in the modern world*” (17-19.03.21, Boston, USA) (публікація тез)
7. I International scientific and practical conference «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*» (19.03.2021, Cambridge, UK) (публікація тез)
8. Міжнародна науково-практична онлайн-конференція «*Наукові дослідження патологоанатомів України: досягнення та перспективи розвитку*» (22-23.04.2021, Київ) (публікація тез)
9. I internationalen wissenschaftlich-praktischen Konferenz “*Grundlagen der modernen wissenschaftlichen Forschung*” der Sammlung wissenschaftlicher Arbeiten «ΛΟΓΟΣ» zu den (Zürich, 10.09.21) (публікація тез)
10. П'ятої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «*Теорія та практика сучасної морфології*» (20-22.11.21, Дніпро) (публікація тез)

11. *Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives*: collection of scientific papers with Proceedings of the II International Scientific and Theoretical Conference (1.10.21. Vilnius, Republic of Lithuania) (публікація тез)
12. *Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*: collection de papiers scientifiques avec des matériaux de la II conférence scientifique et pratique internationale (Paris, 1.10.21) (публікація тез)
13. 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2022» (17.05.22, Запоріжжя) (публікація тез, виступ)
14. III International Scientific and Practical Conference «*Globalization of scientific knowledge: international cooperation and integration of sciences*» (Vienna, 17.06.22) (публікація тез)
15. XXVII Scientific-Practical Conference «*Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice*» (12-15.07.22, Prague) (публікація тез)
16. IV International Scientific and Practical Conference «*Débats scientifiques et orientations prospectives du développement scientifique*» (11.11.22, Paris) (публікація тез)
17. IV International Scientific and Practical Conference «*Science of post-industrial society: globalization and transformation processes*» (25.11.22; Vienna) (публікація тез)
18. II Scientific-Practical Conference «*Technologies and strategies for the implementation of scientific achievements*» (18.11.22; Stockholm) (публікація тез)
19. V International Scientific and Practical Conference «*Theory and practice of modern science*» (May 12, 2023; Kraków) (публікація тез)
20. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2023» (25-26.05.23., Запоріжжя) (публікація тез)
21. Науково-практична конференція, присвячена 30-річчю заснування Асоціації патологоанатомів України «Актуальні проблеми патологічної анатомії» (05-06.10.23, Київ) (публікація тез, виступ з доповіддю)

22. «*Current scientific goals, approaches and challenges*»: I International Scientific and Theoretical Conference (22.03.24; Riga) (публікація тез)
23. «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*»: VI International Scientific and Practical Conference (29.03.24, Cambridge) (публікація тез)
24. «*Modernization of today's science: experience and trends*»: V International Scientific and Theoretical Conference, (29.03.24, Singapore) (публікація тез)
25. «*Scientific forum: theory and practice of research*»: V International Scientific and Theoretical Conference (5.04.24, Valencia) (публікація тез)
26. II Correspondence International Scientific and Practical Conference «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*» (12.04.24, Vienna) (публікація тез)
27. VI International Scientific and Theoretical Conference «*Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation*» (26.04.24, Pisa) (публікація тез)
28. «*Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realtà domestiche*»: V Conferenza scientifica e pratica internazionale (26.04.24, Bologna) (публікація тез)
29. IV Міжнародна науково-практична конференція «*Open science nowadays: main mission, trends and instruments, path and its development*» (23.05.25, Vienna) (публікація тез)
30. XX Міжнародна науково-практична конференція «*Innovative scientific research: latest theories, modern methods and practices*» (20-23.05.25, Seville) (публікація тез)
31. Ist International Scientific Conference «*Modern science and innovation: trends, challenges, and breakthroughs*» (3.05.25, NY) (публікація тез)