

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

**РЕФЕРАТ ДИСЕРТАЦІЇ**

**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

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**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 [EASL. Clinical Practice Guidelines on the management of hepatic encephalopathy, 2022]. 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 [Sonneville R. et al., 2023; Carter B. L., Underwood J., 2022]. САЕ може виникати як при септицемії, так і при септикопемії без гнійного враження ГМ [Singer B. H. et al., 2018]. 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 [Туманський В.О., 2015]. 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 [Hirode, G., Vittinghoff E., Wong R. J., 2019]. САЕ без гнійного ураження ГМ ускладнює до 70% випадків сепсису [Carter B. L., Underwood J., 2022] і підвищує ризик смерті на 10% [Singer M. et al., 2016].

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 [Butterworth R. F., 2019; Mazeraud A. et al., 2020]. 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 [McCandless D.W., 2009; Mullen K.D., Prakash R.K., 2012; . Baja,

J.S., 2018], 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 [Sobel R. A. et al., 1981; Thumburu K. K. et al., 2012; Lim C. G., Nahm M. H. & Lee, H. J., 2023; Al Jasser A. N. & Al Adwani N. I., 2018; Agarwal A. N. & Mais D. D., 2019; Popek M. et al., 2025].

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 НДР 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» (№ держреєстрації 0118U004253; 2018-2022 рр.), «Коморбідні стани, серцево-судинні та онкологічні захворювання в загальноклінічній практиці: розробка сучасних діагностичних та лікувальних заходів» (№ держреєстрації 0120U101587; 2020-2023 рр.), «Патогенез і патоморфологія ендокринних, церебро-васкулярних, пухлинних і непухлинних захворювань у пацієнтів та в експерименті» (№ держреєстрації 0125U002639; з 01.2025 р.), в яких дисертант була відповідальним виконавцем або співвиконавцем.

**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 вагомі 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-асоційованої енцефалопатії без гнійних уражень головного мозку.

*Об'єкт дослідження:* Морфогенез печінкової енцефалопатії при цирозі печінки та сепсис-асоційованої 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

обмовляють 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<sup>+</sup> 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 головного мозку

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, запустіння, 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<sup>+</sup>

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 слабо/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, патологоанатомічне відділення КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня», центр патологічної анатомії та цитоморфології клінічної лікарні «Феофанія» ДУС (м. Київ), патологоанатомічне 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 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.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал та методи дослідження.** Дисертація виконана на секційному матеріалі 160 померлих хворих: 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 експериментальних білих щурів лінії Вістар.

ПЕ досліджена у померлих хворих 46-83 рр з компенсованим ЦП (підгрупа «ЦПк», n=30), субкомпенсованим (підгрупа «ЦПс», n=30) та декомпенсованим ЦП (підгрупа «ЦПд», n=30) за шкалою Чайлд-П'ю. За даними історій хвороби ПЕ класифікована за шкалою West Haven на клінічно приховану (G0), легкого ступеня (G1-2) і важкого ступеня (G3-4). В історіях хвороби померлих хворих на ЦП проаналізовано 16 прижиттєвих лабораторних показників крові: рівні еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, тромбоцитів, протромбінового індексу, загального білка, альбуміну, загального білірубіну, АСТ, АЛТ, креатиніну, сечовини, натрію, калію, ШОЕ, лейкоцитарного індексу інтоксикації за Кальф-Каліфом (ЛП). З підгрупи «ЦПд» сформована додаткова підгрупа померлих хворих на ПЕ G3- G4 (n =21; 55-83 рр) з синдромом гострої-на-тлі-хронічної печінкової недостатності «ГХПечН» (за EASL-CLIF), у яких на тлі швидкого розвитку асцити і/або жовтяниці, гастроінтестинальної кровотечі, виникли ознаки поліорганної (печінкової, ниркової, циркуляторної, легеневої, коагуляційної) дисфункції/недостатності, а також системна запальна реакція.

САЕ досліджена в секційному матеріалі 40 померлих хворих 60-75 рр. (група «САЕ»), з абдомінальним сепсисом (55%) та септичним шоком (45%) з проявами СПОН, оціненими за шкалою SOFA, та летальним наслідком через 1-14 діб від початку сепсису. В 90% випадків спостерігалася септицемія, в 10% - септикопемія без гнійного ураження ГМ. Причинами абдомінального сепсису були ускладнення виразкової хвороби шлунку і 12-палої кишки (30%), запальних захворювань кишківника (35%) та панкреонекрозу (35%), що супроводжувались перитонітом. Проаналізовано 12 прижиттєвих показників крові померлих хворих: еритроцити, гемоглобін, лейкоцити, тромбоцити, протромбіновий індекс, загальний білірубін, АСТ, АЛТ, креатинін, сечовина, ШОЕ, ЛП. За рівнем загального білірубіну та патогістологічним дослідженням печінки виділено 2 підгрупи: померлі з САЕ та сепсис-асоційованим пошкодженням печінки – «САПП» (n = 20; 60-74 рр.) і померлі з САЕ без сепсис-асоційованого пошкодження печінки – «бСАПП» (n = 20; 61-75 рр.).

Групу умовного контролю склали 30 хворих 46-81 рр, померлих від гострої серцево-судинної недостатності без токсико-метаболічної патології.

Експериментальні дослідження проведені на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-300 г, отриманих від ПП «Біомодельсервіс», Київ, Україна, що утримувались 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, ПП «Біомодельсервіс», Київ, Україна). Всі експериментальні 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.

Патоморфологію гострої ПЕ вивчено у 10 щурів з гострою парацетамол (ацетамінофен)-індукованою печінковою недостатністю – AILF (McGill M.R. et al., 2012; Mossanen J.C. et al., 2015), які склали групу «AILF». «Парацетамол-Дарниця» (Україна) розчиняли у 0.9% розчині NaCl 15 мг/мл при  $30^{\circ}\text{C}$  на водяній бані та вводили охолоджений розчин в дозі 1.5 г/кг м. т.

внутрішньоочеревинно (в/о). Щурам контрольної групи «AILF-C» (n = 5) в/о вводили 5 мл 0.9% NaCl. Після процедури AILF у щурів реєстрували зміни дихання та серцевого ритму, млявість, слабкість та коматозний стан (за відсутністю рогівкового рефлексу). На тлі коми шість щурів через 12-24 год від початку експерименту етаназовані в/о введенням розчину тіопенталу натрію (100 мг/мл; Тіопентал, «Артеріум», Україна) 60 мг/кг; вони склали летальну підгрупу «AILF-B» (n = 6). Нелетальну підгрупу «AILF-A» (n = 4) склали щури з помірними порушеннями дихання і серцевого ритму та млявістю, які через 24 год були виведені з експерименту в/о введенням тіопенталу натрію.

Патоморфологію САЕ вивчено у 20 щурів з експериментальним полімікробним абдомінальним сепсисом, модельованим перев'язкою та пункцією сліпої кишки (cesum ligation and punction, CLP) (Rittirsch D. et al., 2009), група «CLP» (n = 20). Контрольну групу склали хибно-оперовані щури («CLP-C», n = 5). Тварин знеболювали 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. Виконували поздовжню серединну лапаротомію 3 см, мобілізували і перев'язували сліпу кишку лігатурою 3.0 нижче ілеоцекального клапану зі співвідношенням перев'язаної до неушкодженої частини кишки 75%:25%. Перев'язану частину кишки перфоровали голкою 18 G і невелику кількість фекального вмісту виводили в черевну порожнину та зашивали черевну стінку. У контрольній групі проводили ті ж процедури, але без перев'язки та перфорації сліпої кишки. Усім щурам одразу після операції підшкірно вводили 37°C фізіологічний розчин (5 мл/100 г). Протягом 20-38 год після CLP-операції 9 щурів на тлі важких розладів дихання та непритомності виведені з експерименту шляхом в/о введення етаназійного розчину тіопенталу натрію (100 мг/мл; Тіопентал, «Артеріум», Україна) 60 мг/кг, вони склали летальну підгрупу «CLP-B» (n = 9). Одинадцять щурів, що вижили, нелетальної підгрупи «CLP-A» через 48 год виведені з експерименту аналогічним шляхом.

Щурів контрольної групи «AIF-C» і хибно-оперованих щурів контрольної групи «CLP-C» виводили з експерименту (через 24 год і через 48 год., відповідно) в/о введенням тіопенталу натрію

При розтині померлих хворих для ПГ дослідження забиралися зразки внутрішніх органів у обсязі, необхідному для постановки патологоанатомічного діагнозу. Для ПГ, ГХ і ІГХ дослідження ГМ вирізали шматочки тканини кори і підкіркової білої речовин лобової, тім'яної, скроневої та потиличної часток великих півкуль ГМ (ВПГМ); гіпокампу (для більшості досліджень - зубчасту звивину (ЗЗГ); таламусу; смугастого тіла: хвостатого ядра, блідої кулі і скорлупи; кори і білої речовини мозочка.

У експериментальних AIF- і CLP-щурів для ПГ дослідження забиралися зразки з усіх органів. Детальне ПГ і ІГХ дослідження проведено в корі і білій речовині ВПГМ, ЗЗГ, таламусі, хвостатому ядрі/скорлупі, мозочку. Методом ЕМ досліджені зразки сенсомоторної кори ГМ.

Шматочки ГМ і інших органів померлих хворих та експериментальних щурів фіксували в 10% забуференому формаліні і після стандартної проводки заливали в парафін. 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 гематоксиліном і еозином (Г-Е).

Кількість астроцитів Альцгеймера 2 типу (AA2) визначали в кожному випадку в 20 стандартизованих полях зору (СПЗ)  $\times 400$  (окуляр $\times 10$ , об'єктив $\times 40$ ) мікроскопу Scope A1 "Carl Zeiss" (Німеччина) в Г-Е препаратах кожного досліджуваного відділу ГМ. А2-астроцитоз градуювали в 4 ступеня: 0 ступінь (відсутній А2-астроцитоз) - 1-5 AA2/20 СПЗ; I ступінь (слабкий А2-астроцитоз) - 6-10 AA2/20 СПЗ; II ступінь (помірний А2-астроцитоз) - 11-20 AA2/20 СПЗ; III ступінь (виразний А2-астроцитоз) - від 21 і більше AA2/20 СПЗ.



Кількість амیلіодних тілець (АТ) рахували в кожному секційному випадку в 5 СПЗ x400 мікроскопу Scope A1 “Carl Zeiss” (Німеччина) в Г-Е препаратах з кожного відділу ГМ. Площу перицелюлярних (ПЦп) і периваскулярних (ПВп) просторів ( $\mu\text{m}^2$ ), обчислювали програмою цифрового аналізу Videotest-Morphology 5.2.0.158 (VideoTest) в 5 СПЗ x400 мікроскопу Scope A1 “Carl Zeiss” (Німеччина) в Г-Е препаратах з кожного відділу ГМ.

Експресію аміаку визначали ГХ в парафінових зрізах ГМ померлих хворих з використанням реактиву Неслера (дигідрат тетрайодомеркурату калію,  $\text{K}_2\text{HgI}_4 \cdot \text{KOH}$ , Chem-Lab, Бельгія) за методикою Gutiérrez-de-Juan V. et al. (2017). В кожному випадку в 6 відділах ГМ досліджували по 5 СПЗ при збільшенні x200 (окуляр×10, об’єктив×20) мікроскопу Scope A1 «Carl Zeiss» (Німеччина) з фотокамерою Jenoptik Progres Gryphax 60N-C1"1,0x426114 (Німеччина) та програмами Videotest-Morphology 5.2.0.158 (VideoTest) і ImageJ (НИН, США) з стандартним плагіном color deconvolution «H DAB». Рівень експресії аміаку в мікропрепаратах оцінювали в програмі ImageJ за оптичною щільністю його ГХ-позитивних тканинних преципітатів в умовних одиницях оптичної щільності (УООЩ). При значеннях УООЩ від 0 до 20 ГХ експресія аміаку розцінювалася як негативна («-»); від 21 до 50 – як слабка («+»); від 51 до 100 – як помірна («++»); від 101 і вище – сильна («+++»).

ГХ дослідження 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), візуалізацію ІГХ-реакції виконували з використанням системи детекції 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 програмами Videotest-Morphology 5.2.0.158 (VideoTest) і ImageJ (NIH, США).

Експресію GFAP, GS, AQP4, позасудинного CD68 оцінювали у 5 СПЗ x200 кожного відділу ГМ і виражали у відносній площі (Srel., %) імунопозитивного матеріалу до загальної площі СПЗ. Відсоток CD68<sup>+</sup> амебоїдних мікрогліоцитів визначали у 5 СПЗ x400 кожного з досліджених відділів ГМ. Відсоток caspase-3<sup>+</sup> нейронів визначали у 5 СПЗ (x200) кожного відділу ГМ. Експресію синаптофізину оцінювали у 5 СПЗ (x200) програмою ImageJ зі стандартним плагіном color deconvolution «H DAB» і виражали в УООЩ. 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 («+++»).

Для ЕМ дослідження ГМ щурів поміщали перед взяттям зразків тканини до 5 хв при 25°C у фіксуєчий розчин 2,5% глутаральдегіду (Alfa Aesar, Thermo Fisher Scientific, A17876) на 0.1 М фосфатному буфері, рН = 7.4. Із сенсомоторної кори лобової частки лівої півкулі ГМ вирізали блоки тканини 1x1x1 мм, послідовно фіксували їх по 2 год при 4°C у 2,5% глутаральдегіді з сахарозою і у 1% OsO<sub>4</sub> на фосфатному буфері рН = 7.4 та зневоднювали етанолом висхідної концентрації (до 100%) і контрастували 2,5% спиртовим розчином уранілацетату 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 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 Boeckeler (США) і контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом (30 хв,  $t = 25^{\circ}\text{C}$ ). Ультратонкі зрізи досліджували в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 («Selmi», Суми, Україна) при 65 кВ. Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім і основним фуксином.

Астроцитарні мультивезикулярні тільця (МВТ) рахували в кожному четвертому ступінчастому ультратонкому зрізі площею  $3500 \text{ мкм}^2$  з сенсомоторної кори ГМ кожного щура (у кожного щура - в тридцяти астроцитарних профілях: перикаріоні, нейропільних і перикапілярних відростках). Для визначення морфотипів мікроглії в сенсомоторній корі ГМ у кожної тварини рандомно відібрано по 5 мікрогліоцитів (загалом - 125 мікрогліоцитів в моделі CLP і 75 мікрогліоцитів в моделі AILF).

Статистичну обробку результатів проводили в програмі Statistica® для Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Відповідність показників закону нормального розподілу визначали тестом Шапіро-Уїлка. Результати розрахунків виражали в Me (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  $\chi^2$ . Для встановлення прогностичної значущості показників використано логістично-регресивний аналіз з побудовою ROC-кривих із визначенням точки відсічення. Кореляційний аналіз розраховували з використанням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r). Результати вважали достовірно значущими на рівні 95 % ( $p < 0.05$ ).

### **Результати дослідження**

Ретроспективний аналіз історій хвороби померлих хворих на ЦП різного ступеню тяжкості показав, що при компенсованому ЦП в історіях хвороби були описані деякі клінічні прояви ПЕ (тобто мала місце клінічно прихована ПЕ G0). У померлих хворих на субкомпенсований ЦП за життя були ознаки легкої ПЕ G1-2, у померлих хворих на декомпенсований ЦП – ознаки важкої ПЕ G3 (у 23 осіб) та важкої ПЕ G4 з комою – у 7 осіб.

При ЦП печінкова енцефалопатія розвивалася на тлі печінкової або поліорганної дисфункції/недостатності і її тяжкість зростала з декомпенсацією ЦП. У хворих з синдромом ГХПечН ПЕ розвивалася у складі СПОН та системного запалення. За шкалою CLIF-C OF консорціуму CANONIC у 100% померлих хворих з декомпенсованим ЦП за життя спостерігалася ПЕ G3-G4 з мозковою недостатністю. З прогресуванням ЦП і ПЕ у хворих підвищувалися рівні загального білірубіну, АСТ і АЛТ, прогресували гіпопротейнемія, гіпоальбумінемія, анемія, тромбоцитопенія, коагулопатія, гіпонатріємія, гіпокаліємія, лейкоцитоз, зростав лейкоцитарний індекс інтоксикації та ШОЕ, підвищувалися рівні креатиніну і сечовини плазми крові.

При важкій ПЕ G3-4 визначаються найбільш виразні макроскопічні зміни ГМ: набряк або набряк-набухання ГМ з наявністю у нижніх мигдаликах мозочку странгуляційної борозни різної глибини, вага ГМ на 14.03% перевищує контрольні значення; тканина ГМ м'якої консистенції, волога на розрізах, з кров'яними точками, що розпливаються, на їх поверхні; з діapedезними крововиливами в корі і білій речовині ВПГМ, мозочку і таламусі у 23% померлих. У 16% померлих з ПЕ G1-2 та у 36% померлих з ПЕ G3-4 в корі ВПГМ і білій речовині ВПГМ, таламусі, головці хвостатого ядра та мозочку визначається запусіння мікросудин, асоційоване з дрібними фокусами периваскулярного енцефалолізису.

Найбільш суттєвою мікроскопічною ознакою ПЕ є наявність в ГМ тканинних дрібнозернистих преципітатів аміаку, що виявляються ГХ і мають різну оптичну щільність в залежності від тяжкості ПЕ. Підвищена експресія аміаку виявляється в таламусі, смугастому тілі, мозочку та корі ВПГМ померлих хворих з клінічно прихованою ПЕ G0 і сягає максимуму в усіх 6-ти досліджених відділах ГМ при важкій ПЕ G3-4, при якій оптична щільність амонійних преципітатів значно перевищують показники 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, в білій речовині ВПГМ – в 1.9 рази.

Підвищення рівня експресії аміаку в ГМ асоційовано з морфологічними змінами компонентів ГНБК вже зі стадії ПЕ G0. Складне адаптивне ремоделювання астроглії перш за все проявляється появою Альцгеймер2-астроцитозу (A2-астроцитоз) в досліджених відділах ГМ. На відміну від померлих групи контролю, в ГМ яких спостерігаються одиничні A2-астроцити (нульовий «0» ступінь A2-астроцитозу), у померлих хворих з ПЕ G0 визначається слабкий A2-астроцитоз I ступеня в таламусі, смугастому тілі та мозочку. У померлих хворих з ПЕ G1-2 визначається 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 визначається максимальний (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.

Починаючи з ПЕ G0 зменшується відносно контролю площа експресії гліофібрилярного астроцитарного білку GFAP в усіх досліджених відділах ГМ через зниження кількості GFAP<sup>+</sup> астроцитів та укорочення та витончення їх відростків: від 1.4 разів в смугастому тілі до 2.2 разів в таламусі. При G1-2 ПЕ визначається зниження площі експресії GFAP в 2.2-5 разів, при G3-4 ПЕ – максимальне зниження експресії GFAP в 3-6.7 разів.

Разом з цим площа ІГХ експресії астроцитарної GS збільшується з прогресуванням ПЕ через більшу розповсюдженість GS<sup>+</sup> астроцитів в усіх досліджених відділах ГМ: при ПЕ G0 – площа збільшена від 1.39 разів в білій речовині ВПГМ до 2.36 разів в корі ВПГМ; при ПЕ G1-2 – збільшена в 2.08-3.62 разів; при ПЕ G3-4 – максимально збільшена в 2.95-4.34 разів.

З прогресуванням ПЕ також збільшується площа експресії AQP4 за рахунок зростання числа аквапоринів в плазмолемі астроцитів та збільшення кількості AQP4<sup>+</sup> астроцитів і їх відростків в усіх досліджених відділах ГМ: при ПЕ G0 площа експресії AQP4 вища від 1.66 разів в мозочку до 2.62 разів смугастому тілі; при ПЕ G1-2 – збільшена в 2.58-3.73 разів; при ПЕ G3-4 – максимально збільшена в 2.91-4.34 разів.

Гіперекспресія AQP4 та GS призводить до набряку периваскулярних і перицелюлярних відростків астроцитів, що проявляється розширенням ПВп і ПЦп відносно контрольних показників в усіх досліджених відділах ГМ. При ПЕ G1-2 площа розширених ПВп і ПЦп від 2.5 разів в гіпокампі до 4 разів у мозочку, при ПЕ G3-4 ПВп і ПЦп максимально збільшена в 7.7-10 разів (переважно через зростання площі перицелюлярних просторів).

Астроцитарна недостатність проявляється в накопиченні АТ у периваскулярних, субвентрикулярних і субпіальних ділянках гіпокампу, таламусу, смугастого тіла, кори ВПГМ та мозочка, починаючи з ПЕ G1-2 навіть у померлих хворих молодше 60 р. Максимально збільшена кількість АТ при ПЕ G3-4: 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.

При мікроскопії в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, смугастому тілі та мозочку виявляються набряклі нейрони з каріопікнозом, гіперхромні і апоптотичні нейрони, нейрони з перинейрональним гліальним сателітозом, а у хворих, що померли в комі, в корі ВПГМ також спостерігаються вогнища ламінарного селективного некрозу нейронів. При ПЕ G1-2 в ГМ визначається підвищений відносно контролю відсоток Casp3<sup>+</sup>-нейронів: від 1.4 разів в смугастому тілі до 2.4 разів в гіпокампі; при ПЕ G3-4 відсоток Casp3<sup>+</sup>-нейронів максимально збільшений від 2.3 разів у мозочку до 4.1 разів в таламусі.

При ПЕ G1-2 знижується до низького рівня міжнейронна синаптична передача (за експресією Synaptophysin) в усіх досліджених відділах ГМ (від 1.15 разів в мозочку до 1.36 разів в гіпокампі). При ПЕ G3-4 експресія Synaptophysin знижена максимально (від 1.33 разів у мозочку до 1.93 разів в таламусі) і в багаточисельних ділянках ГМ не визначається зовсім.

Позасудинна експресія CD68 в ГМ виявляється в наглядних, реактивних амебоїдних та гіпертрофічно-подібних мікрогліюцитах. При ПЕ G0 площа позасудинної CD68<sup>+</sup> мікроглії підвищена відносно контролю у білій речовині ВПГМ, в таламусі та в смугастому тілі; а в білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі і мозочку визначається підвищений відсоток

амебоїдних CD68<sup>+</sup> мікрогліоцитів. При ПЕ G1-2 реєструється подальше збільшення площі CD68<sup>+</sup> мікрогліоцитів 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. При ПЕ G3-4 площа позасудинної CD68<sup>+</sup> мікроглії і відсоток амебоїдних форм у всіх досліджених відділах ГМ також перевищує показники контролю, але в таламусі і смугастому тілі ці параметри нижчі ніж при ПЕ G1-2.

У померлих хворих з ПЕ G3-4 та з синдромом ГХПечН, у яких печінкова недостатність була поєднана з циркуляторною, легеневою та нирковою дисфункцією/недостатністю, патоморфологічні прояви ПЕ максимальні. Вага ГМ через набряк на 15.78% перевищує контрольні показники. Частіше (за  $\chi^2$ ) порівняно з контролем спостерігаються запустілі судини МЦР в корі ВПГМ з більшим в 4 рази відсотком запустілих судин МЦР/ СПЗ мікроскопу; визначається більша частота (за  $\chi^2$ ) мікрокрововиливів і дрібних фокусів енцефалолізису в корі та білій речовині ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку. У ГМ до 6 разів підвищений рівень тканинного аміаку, до 3.2 разів – кількість Casp3<sup>+</sup> нейронів та знижена до 2.2 разів експресія Syn, підвищена до 3.5 разів експресія GS і до 5.8 разів – експресія AQP4, знижена до 3.9 разів експресія GFAP, до 11 разів підвищена кількість AA2, до 9.9 разів розширені ПВп і ПЦп, підвищена до 5 разів кількість АТ, збільшені до 2.14 разів площа CD68<sup>+</sup> мікрогліоцитів та до 1.71 разів – відсоток 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, зростання яких обумовлюють тяжкість ПЕ. Психоневрологічні прояви ПЕ G1-4 обумовлені аміак-асоційованими набряком ГМ, зниженням синаптичної передачі, апоптозом нейронів з реактивацією CD68<sup>+</sup> мікроглії на тлі ремоделювання астроцитів з гіперекспресією GS та AQP4, зниженням експресії GFAP, дисфункцією глімфатичної системи з накопиченням АТ.

Кореляційний аналіз показав наявність взаємозв'язків між підвищеним рівнем тканинного аміаку та усіма ключовими мікроскопічними та ІГХ змінами ГНБК померлих хворих; достовірність і сила цих взаємозв'язків залежать від тяжкості ПЕ та відділу ГМ. Вже зі стадії ПЕ G0 встановлено прямий зв'язок між показниками експресії аміаку та кількістю AA2 в усіх досліджених відділах ГМ. Одночасно, прямий зв'язок спостерігається між площами експресії GS vs AQP4 і навпаки, негативний зв'язок – між площами експресії GS vs GFAP, AQP4 vs GFAP, що вказує на важливе морфогенетичне значення підвищення тканинного аміаку, Альцгеймер-2 астроцитозу, аміак-асоційованої зміни експресії GFAP, GS, AQP4 вже на доклінічних стадіях ПЕ.

Рівень тканинного аміаку, виразність A2-астроцитозу та кількість АТ достовірно прямо корелюють з експресією GS та AQP4 і зворотно – з експресією GFAP вже на стадії ПЕ G0 переважно в таламусі, смугастому тілі та мозочку. Достовірні взаємозв'язки між іншими параметрами ГНБК визначаються в усіх досліджених відділах ГМ, починаючи з ПЕ G1-2. Прямі зв'язки різної сили встановлено між площею розширених ПВп і ПЦп з одного боку та рівнем тканинного аміаку, виразністю A2-астроцитозу, експресією AQP4, кількістю АТ – з іншого. Також прямі взаємозв'язки знайдено між зростанням рівня тканинного аміаку, кількості AA2, експресії AQP4 з одного боку та накопиченням АТ – з іншого. Все це разом це підтверджує асоціацію набрякових змін ГМ з аміак-обумовленою астроцитарною дистрофією та дисфункцією глімфатичної системи при ПЕ.

При ПЕ G1-2 підвищений рівень тканинного аміаку позитивно корелює з площею позасудинної CD68<sup>+</sup> мікроглії і відсотком CD68<sup>+</sup> амебоїдних форм, але при ПЕ G3-4 взаємозв'язки між цими показниками стають зворотніми, що вказує на пригнічувальний вплив більш високих рівнів аміаку на реактивність мікроглії та її спроможність до фагоцитозу.

Зміни прижиттєвих лабораторних показників крові померлих хворих з ПЕ G0-4 корелюють з рівнем експресії аміаку, виразністю AA2-астроцитозу, кількістю АТ, ІГХ експресією GFAP, GS, AQP4, CD68, Casp-3, синаптофізину



в посмертній тканині їх ГМ. Кількість і сила цих взаємозв'язків збільшується з прогресуванням ПЕ. 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 білою речовиною ВПГМ та гіпокампом, починаючи зі стадії ПЕ G0. Найбільша кількість таких зв'язків характерна для ПЕ G3-4 на тлі максимальних змін крові і структур ГНБК. Найбільш ранніми і постійними для всіх стадій ПЕ є взаємозв'язки між лабораторними показниками печінкової дисфункції/недостатності (загальний білірубін, АСТ, АЛТ) та рівнем тканинного аміаку і ознаками астроцитарної дисфункції (підвищенням експресії GS, AQP4, кількості AA2 і AT та зниженням експресії GFAP). На стадіях ПЕ G1-2 і G3-4, що часто супроводжуються нирковою дисфункцією/недостатністю та системною запальною реакцією, додаються взаємозв'язки між рівнем креатиніну, лейкоцитозом, ЛП, ШОЕ та відсотком апоптотичних нейронів, синаптичною дисфункцією і реактивацією мікроглії.

Показники експресії аміаку в ГМ 90 померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс», «ЦПд» проаналізовано щодо наявності в історіях хвороби симптомів або діагнозу ПЕ G1-4. Згідно ROC-кривих посмертні рівні аміаку в наступних відділах ГМ вказують на високу ймовірність ПЕ G1-4 за життя цих хворих: 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, ці відділи ГМ є регіонами з постійним і найбільш підвищеним рівнем аміаку при явній ПЕ і асоційовані морфологічні зміни структур ГНБК в них є найбільш цінними для патологоанатомічної діагностики ПЕ.

Враховуючи те, що серед досліджених відділів ГМ в таламусі визначено найвищі рівні тканинного аміаку і найсуттєвіші аміак-асоційовані зміни ГНБК, а також виявлені постійні і достовірні кореляційні зв'язки цих змін з лабораторними показниками печінкової недостатності, цей відділ ГМ використано в логістично-регресійному аналізі як той, що містить найбільш

значущі морфологічні прояви ПЕ. Згідно ROC-кривих, серед 16 залучених до ROC-аналізу показників крові 90 померлих хворих підгруп «ЦПк», «ЦПс» і «ЦПд», рівні шести показників крові вказують на достовірну ймовірність підвищеної експресії аміаку в таламусі: 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. Комплекс таких змін показників крові в історії хвороби померлого хворого на ЦП може бути підґрунтям для визначення при патологоанатомічному розтині експресії аміаку в ГМ та діагностики ПЕ за її відсутності в клінічному діагнозі.

За результатами аналізу історій хвороби у 40 померлих хворих на абдомінальний сепсис групи «САЕ» за 1-12 діб до смерті спостерігалися ознаки САЕ: 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). Окрім САЕ у всіх хворих визначалися клінічні прояви СПОН за шкалою SOFA: у 50% померлих – печінкова дисфункція/недостатність (за рівнем білірубіну, АСТ, АЛТ); у 63% – ниркова дисфункція/недостатність (за рівнем 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 визначаються ознаки помірного набряку або набряку-набухання ГМ, у 66% осіб в мигдаликах мозочку виявлено неглибоку симетричну странгуляційну борозну. Вага ГМ померлих з «САЕ» на 10.27% перевищує значення групи контролю. При мікроскопії набряк ГМ представлений розширенням ПВп і ПЦп, площа яких перевищує показники контролю від 8.84 разів в гіпокампі до 10.47 разів в таламусі. В досліджених

відділах ГМ визначається помірно повнокрів'я, тромбоз деяких мікросудин та у 65% померлих хворих – петехіальні мікрокрововиливи, спадіння і запусніння мікросудин, асоційовані з одиничними дрібними фокусами енцефалолізису, в корі і білій речовині ВПГМ, гіпокампі, мозочку.

Порушення гемомікроциркуляції асоційовані з наявністю ішемічно-зморщених та апоптотичних нейронів і в меншій кількості – набряклих нейронів, нейронів в стані каріоцитолізису та клітин-тіней в корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі і мозочку. Відсоток Casp3<sup>+</sup> нейронів вищий за контроль: 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. Експресія синаптофізину має тенденцію до зниження відносно контролю.

Реактивні зміни астроцитів при САЕ характеризується значно підвищеною відносно контролю експресією GFAP – найбільшою в корі і білій речовині ВПГМ (збільшення в 2.92 рази і в 2.81 рази, відповідно); найменшою – в таламусі (збільшення в 1.83 рази); підвищеною експресією GS: найвища в таламусі – в 2.34 рази; найменша – в корі ВПГМ і в мозочку (в 1.91 рази і в 1.92 рази, відповідно); підвищеною експресією AQP4 (від 2.96 разів в гіпокампі до 5 разів в білій речовині ВПГМ). Частим є перинейрональний гліальний сателітоз, а інколи – мікрогліальна нейронофагія. Площа позасудинних CD68<sup>+</sup> мікрогліоцитів значно (від 2.30 разів в таламусі до 5.79 разів в білій речовині ВПГМ) перевищує показники контролю. Відсоток CD68<sup>+</sup> амебоїдної мікроглії підвищений від 3.69 разів в таламусі до 4.74 разів в корі ВПГМ.

У 53% померлих з САЕ в ГМ визначено підвищену експресію тканинного аміаку: слабку I ступеню (в корі ВПГМ, в гіпокампі) та помірну II ступеню (в таламусі, мозочку), що перевищує показники «негативної» експресії групи контролю. У 58% померлих хворих групи «САЕ» виявлено A2-астроцитоз: в корі ВПГМ (слабкий, «+»), в таламусі, смугастому тілі та мозочку (помірний, «++») з підвищенням кількості A2-астроцитів відносно контролю: в корі ВПГМ – в 2.66 рази; в таламусі – в 3 рази; в мозочку – в 3.66 рази. В таламусі, смугастому тілі та мозочку визначається підвищення до 2

разів відносно контролю кількості АТ. Підвищена експресія аміаку в ГМ померлих з САЕ в 95% випадків асоційована з сепсис-асоційованим пошкодженням печінки (вогнищевою лімфогістіоцитарною інфільтрацією портальних трактів, жировою дистрофією гепатоцитів, дрібновогнищевими централобулярними некрозами, вогнищевими холестазами). У померлих підгрупи «САПП» помірна і слабка експресія аміаку та А2-астроцитоз в усіх досліджених відділах ГМ перевищує і показники контролю, і підгрупи «бСАПП». У померлих хворих підгрупи «бСАПП» слабке підвищення експресії аміаку визначається лише в таламусі, смугастому тілі та мозочку, а слабкий А2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ і таламусі. Експресія GFAP у померлих підгрупи «САПП» слабша порівняно з підгрупою «бСАПП», а рівні експресії GS і AQP4, навпаки, перевищують показники підгрупи «бСАПП» і контролю, що вказує на зв'язок аміак-асоційованих змін астроглії з САПП.

При САЕ (в порівнянні з ПЕ G3-4 при ГХПечН) 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 вищий відсоток Casp3<sup>+</sup> апоптотичних нейронів, більша площа CD68<sup>+</sup> позасудинних мікрогліоцитів та відсоткова частка CD68<sup>+</sup> амебоїдних мікрогліоцитів, вища експресія GFAP та синаптофізину. При ПЕ G3-4 у складі ГХПечН визначається вища (в порівнянні з САЕ) частота підвищеного рівня тканинного аміаку ( $\chi^2=6.59$ ;  $p = 0.0158$ ) та А2-астроцитозу ( $\chi^2=6.98$ ;  $p = 0.0123$ ) в таламусі та вища експресія аміаку, GS, більша кількість AA2 та АТ у всіх досліджених відділах ГМ.

У експериментальних AILF-щурів зміни печінки представлені каріо- і цитолізом гепатоцитів більшості часточок, вогнищевим ареактивним руйнуванням гепатоцитів з помірною лімфоцитарною інфільтрацією портальних трактів. За результатами ЕМ і ІГХ досліджень в ГМ щурів протягом першої доби експерименту визначаються незначні деструктивні зміни нейронів та ознаки суттєвої активації астроглії та мікроглії. В корі ВПГМ, гіпокампі, таламусі, стріатумі та мозочку виявляються групи нейронів

з помірним набряком, вакуолізацією цитоплазми, набуханням просвітлених ядер; поодинокі ущільнені нейрони з нормальними ядрами та ядрами з каріопікнозом. В цитоплазмі змінених нейронів – набряклі мітохондрії з частковим кристолізом, або мітохондрії з надмірно електроннощільним матриксом; в поодиноких дендритах – помірний набряк дендроплазми, мітохондрії з набряком матриксу і частковим кристолізом. Ці зміни більш притаманні «AILF-B»-щурів порівняно з підгрупою «AILF-A». В корі ГМ AILF-щурів – спадіння просвіту окремих капілярів; значний асиметричний набряк астроцитарних периваскулярних ніжок; ущільнення або набряк ендотелію; вогнищеве потовщення базальних мембран.

У всіх досліджених відділах ГМ щурів обидвох AILF-підгруп визначається підвищена експресія AQP4 в астрогліальних судинних ніжках, нейропільних відростках, в термінальній субпіяльній астроглії, а також експресія GS в цитоплазмі і відростках астроцитів; реєструється виразно знижена експресія GFAP. Зниження експресії GFAP за часом співпадає з наростанням набряку і розширенням астроцитарних периваскулярних, нейропільних та перинейрональних відростків, що підтверджується зростанням площі ПВп і ПЦп у всіх досліджених відділах ГМ щурів обох AILF-підгруп відносно контролю. Набрякові зміни астроцитів представлені набуханням каріоплазми і перикаріону зі збільшенням ядра і цитоплазми, набряком матриксу і частковим кристолізом мітохондрій, появою чисельних вакуолей, частковою дезінтеграцією рибосом та мембран інших органел.

На 18 годину експерименту в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку «AILF-B»-щурів визначаються AA2, кількість яких максимальна у всіх відділах ГМ на 24 год експерименту. У «AILF-A»-щурів кількість AA2 також перевищує контрольні значення, але є тенденція до менш виразного A2-астроцитозу. Ультраструктурними особливостями AA2 є округле, збільшене ядро з дрібними глибками хроматину в каріоплазмі, які концентруються біля каріолеми і утворюють вузький електроннощільний обідок біля внутрішньої ядерної мембрани, а також вузька цитоплазма з вогнищевим набуханням

цитозолу, вакуолізацією і розширенням цистерн ЕР. У корі ВПГМ «AILF-A»-щурів визначається функціональна активація частини астроцитів у вигляді підсиленого ендо-, транс- та екзоцитозу з достовірним підвищенням кількості MBT і їх перерозподілом в астроцитарні капілярні ніжки.

Має місце помірна активація мікроглії: на 18 год експерименту в білій речовині ВПГМ та смугастому тілі ГМ «AILF-B»-щурів і на 24 год у «AILF-A»-щурів визначається збільшена площа позасудинної CD68<sup>+</sup> мікроглії. За результатами ЕМ в корі ВПГМ AILF-щурів визначається 3 морфотипи реактивної мікроглії: амебоїдний (більш розповсюджений), паличкоподібний та гіпертрофічно-подібний. ІГХ підтверджено достовірне зростання відсотку амебоїдних форм лише у «AILF-B»-щурів (в корі та білій речовині ВПГМ, гіпокампі і смугастому тілі) на 16 год після введення парацетамолу. Амебоїдна мікроглія найбільш часто контактує з астроцитарними профілями, а рідкісні гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити без ознак фагоцитарної активності тісно контактують з мікросудинами та нейронами.

У щурів нелетальної «CLP-A» і летальної «CLP-B» підгруп при експериментальному абдомінальному сепсисі в тканині печінки спостерігається вогнищевий лізис цитоплазми та некроз окремих гепатоцитів, дрібновогнищева слабка лейкоцитарна інфільтрація печінкових часточок. Каловий перитоніт мікроскопічно проявляється вогнищевою лейкоцитарною інфільтрацією очеревини біля калових мас, переважно в складках кишки.

В ГМ щурів протягом перших 48 год після операції відсутні ознаки гнійного запалення. ЕМ і ІГХ дослідження довели наявність помірних деструктивних змін в нейронах з перинейрональним гліальним сателітозом та реактивних змін і ремоделювання астроглії та мікроглії. В МЦР кори ГМ виявляються ознаки оборотної зупинки кровотоку: конденсація плазми крові, складжування еритроцитів, сегментарна паретична дилатація капілярів. Визначається ущільнення цитоплазми та апоптоз окремих ендотеліоцитів і перицитів, локуси помірного розширення базальних мембран капілярів; навколо мікросудин виявляються розширені набрякові астроцитарні ніжки.

Площа ПВп і ПЦп в усіх шести досліджених відділах ГМ «CLP-B»-щурів значно перевищує показники контролю (переважно за рахунок площі периваскулярних астроцитарних відростків). У «CLP-A»-щурів розширення ПВп і ПЦп виявляється лише в корі і білій речовині ВПГМ та в мозочку.

Суттєва частка нейронів кори ВПГМ CLP-щурів з електронно-щільною цитоплазмою, помірним каріопікнозом, з набряклими або ущільненими мітохондріями, з розширенням цистерн ЕР та перинейрональним гліальним сателітозом. Визначаються групи нейронів з незначним набряком цитоплазми і помірним набуханням просвітлених ядер та поодинокі гіперхромні нейрони з нормальними ядрами. У «CLP-B»-щурів патологічно змінені нейрони більш розповсюджені; у окремих тварин на кордоні кори ВПГМ і білої речовини визначаються нечисленні дрібні вогнища енцефалолізису.

Ультраструктурні зміни астроцитів ГМ «CLP-B»-щурів на 20 год після операції проявляються набряком і розширенням периваскулярних і в меншій мірі – перинейрональних відростків. В ГМ «CLP-B»-щурів спостерігаються більш виразні ознаки гіпергідратації і вакуолізації гіалоплазми, вогнищевого розпаду астроцитарних органел в глибоких шарах кори ВПГМ. В астроцитах «CLP-A»-щурів помірно набрякає гіалоплазма з розширенням цитокавітальної мережі та відносною збереженістю клітинних органел, а також збільшується до 4.5 разів кількість MBT з перерозподілом їх в капілярні ніжки. В астроцитах «CLP-B»-щурів накопичення і перерозподіл MBT в капілярні ніжки менш виразне. На 30 год після операції в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі та мозочку «CLP-B»-щурів визначається підвищена кількість AA2, що сягає максимуму на 38 год експерименту.

У корі, гіпокампі, таламусі та мозочку CLP-щурів виявляється збільшена експресія GS в цитоплазмі і відростках астроцитів та підвищена експресія AQP4 в астрогліальних судинних ніжках, нейропільних відростках і відростках субпіальної астроглії в усіх досліджених відділах ГМ. В усіх досліджених відділах (окрім таламусу) ГМ CLP-щурів значно підвищена

експресія GFAP, більш виразна в зонах анізоморфного астрогліозу навколо вогнищ енцефалолізису.

Реактивне ремоделювання мікроглії проявляється підвищеною площею позасудинної експресії CD68 в корі, білій речовині ВПГМ, гіпокампі та смугастому тілі ГМ CLP-щурів (з більш високими показниками у «CLP-B»-щурів). При ЕМ виявлено 3 морфотипи реактивної CLP-мікроглії з ознаками фагоцитарної активності: амебоїдний (більш розповсюджений), гіпертрофічно-подібний та градчастий. ІГХ дослідження підтвердило зростання відсотку CD68<sup>+</sup> амебоїдної мікроглії в корі та гіпокампі «CLP-B»-щурів на 20 год після операції. Амебоїдна мікроглія найбільш часто контактує з ущільненими нейронами з більшою збереженістю органел, порівняно з нейронами без мікрогліальних супутників. Гіпертрофічно-подібні мікрогліоцити, навантажені фагоцитованим матеріалом, контактують з мікросудинами та з нейронами. Градчасті мікрогліоцити визначаються в набряклому нейропілі поблизу частково зруйнованих мієлінізованих аксонів; їх цитоплазма заповнена лізосомами, фагосомами з фагоцитованим тканинним детритом, ліпідними краплями, пластинчастими включеннями, залишковими тільцями та гранулами ліпофусцину, що вказує на їх активну фагоцитарну активність поблизу дрібних фокусів енцефалолізису.

## 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<sup>+</sup>-апоптотичних нейронів; 4) з реактивацією мікроглії (гіперекспресія CD68 позасудинною мікроглією та зростання частки CD68<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> мікроглії та до 2.32 разів відсоток амебоїдної CD68<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>-нейронів та знижена до 1.36 разів експресія синаптофізину; збільшені до 2.22 разів площа позасудинної CD68<sup>+</sup> мікроглії та до 2.35 разів відсоток амебоїдної CD68<sup>+</sup> 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 білірубину, 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<sup>+</sup>-нейронів та знижена до 1.93 разів експресія синаптофізину; помірно збільшені площа позасудинної CD68<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>-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<sup>+</sup> 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 запусіння 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 запусілі 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<sup>+</sup>-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<sup>+</sup> мікроглії та відсотку амебоїдної CD68<sup>+</sup> 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 A2-астроцитоз (слабкий – в білій речовині ВПГМ, гіпокампі; помірний – в корі ВПГМ, таламусі, смугастому тілі, мозочку,  $p<0.05$ ). Рівні тканинного аміаку, A2-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 A2-астроцитоз – тільки в корі ВПГМ і в таламусі.

12. При сепсис-асоційованій енцефалопатії на тлі CLP-модельованого абдомінального сепсису в ГМ щурів визначаються вогнища запусітіння 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 білірубіну 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 амілоїдних 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<sup>+</sup> апоптотичних нейронів, більша площа CD68<sup>+</sup> позасудинних мікрогліоцитів та відсоткова частка CD68<sup>+</sup> амебоїдних мікрогліоцитів, вища експресія GFAP та синаптофізину.



## 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. редагування, 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. ЕМ 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. ЕМ 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. ЕМ, ІГХ 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. ІГХ дослідження, 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. ІГХ, написання тексту; Туманський В.О. 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> (доступно з <https://drive.google.com/file/d/1RtBOor4V-aXJU8yHqaJBqfi3QEрK4kxD/view>) (Кат.Б) (Шулятнікова Т.В. ІГХ дослідження, 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. ІГХ, написання тексту; Туманський В.О. 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. ІГХ 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 (ESCI), Scopus, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. ІГХ 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. ІГХ дослідження, написання тексту; Туманський В.О. 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. ЕМ дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. аналіз, редагування, затвердження; Мелвін Хайден 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. ЕМ, аналіз результатів, написання тексту, редагування; Мішель Еріксон ЕМ дослідження; Уільям Бенкс редагування; 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. ГХ, 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. ГХ, 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. ІГХ, ГХ, 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. ІГХ, 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. ІГХ, ГХ 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> (WoS, Scopus, Q4, Кат.А) (Шулятнікова Т.В. ІГХ, ГХ 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, 28–29.04.17, p. 104-107. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Шаврін В.О. редагування, затвердження).

25. 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, 10-13.07.19, 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*», 9-11.10.19, 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», 4-6.11.20, 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 «Медицина наука у практику охорони здоров'я», 27.11.20, Полтава, с. 30.

29. 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*” (17-19.03.21) BSP, Boston, 2021, p. 222-224.

30. Shulyatnikova, 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*», 19.03.21, 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*» 22-23.04.21, 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, 10.09.21. 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», 20-22.11.21, Дніпро, с. 163. (Шулятнікова Т.В. ПП, написання тексту; Туманський В.О. редагування).

34. 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 Int. Scientific and Theoretical Conference (Vol. 2), 1.10.21. Vilnius, p. 56-57.
35. 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, 1.10.21. 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», 17.05.22, 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, 17.06.22, 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 Int. Scientific and Practical Conference «*Multidisciplinary Academic Notes. Theory, Methodology And Practice*», 12–15.07.22. Prague, 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*» (11.11.22; Paris), 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*» (25.11.22; Vienna), 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*» (18.11.22; Stockholm), 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*» (12.05.23; Kraków), p. 161-162. (Шулятнікова Т.В. ПГ, 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*», 25-26.05.23, Запоріжжя, с. 71. (Шулятнікова Т.В. ПГ дослідження, 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., м. Київ, Ukrainian scientific medical youth journal, Supplement № 4 (143), с. 32-33. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)

45. 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* (22.03.24; Riga), 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*, (29.03.24; Cambridge), p. 493-495. (Шулятнікова Т.В. ПГ дослідження, 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*, (29.03.24; 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* (5.04.24; Valencia), 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 (12.04.24; Vienna), 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*» (26.04.24; Pisa), 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 (26.04.24; Bologna), p. 393-395. *(Шулятнікова Т.В. ПГ дослідження, 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*» (23.05.25, Vienna), 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»* (20-23.05.25, Seville), 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»* (3.05.25, NY), p. 351-352. (Шулятнікова Т.В. патоморфологічне дослідження, аналіз результатів, написання тексту; Туманський В.О. редагування, затвердження; Туманська Л.М. затвердження)