

# Патологія



Том 14, № 3(41), вересень–грудень 2017 р.

## Редакційна колегія

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

проф. Т.М. Бойчук (Чернівці)  
проф. О.В. Ганчева (Запоріжжя)  
проф. С.Г. Гичка (Київ)  
проф. С. М. Завгородній (Запоріжжя)  
проф. Т.Д. Задорожна (Київ)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. Д.Д. Зербіно (Львів)  
проф. Ю.М. Колесник (Запоріжжя)  
проф. В.Д. Марковський (Харків)  
проф. Н.С. Михайловська (Запоріжжя)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. О.Г. Резніков (Київ)  
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. А.М. Романенко (Київ)  
проф. Г.Г. Скібо (Київ)  
чл.-кор. НАМН України, проф. В.І. Черній (Київ)  
проф. В.О. Шаврін (Запоріжжя)  
проф. Г.А. Шифрін (Запоріжжя)  
проф. І.С. Шпонька (Дніпро)

## Редакційна рада

проф. Самір С. Амр (Дахран, Саудівська Аравія)  
чл.-кор. РАМН, проф. Н.М. Анічков (Санкт-Петербург)  
проф. Я.Я. Боднар (Тернопіль)  
проф. Кристер Буш (Уппсала, Швеція)  
проф. О.С. Гавриш (Київ)  
проф. А.І. Гоженко (Одеса)  
проф. І.С. Давиденко (Чернівці)  
проф. О.О. Дядик (Київ)  
проф. Міхал Єлень (Вроцлав, Польща)  
проф. Френсіс Жубер (Париж, Франція)  
чл.-кор. РАМН, проф. Л.В. Кактурський (Москва, РФ)  
проф. О.М. Камишний (Запоріжжя)  
проф. М.О. Клименко (Миколаїв)  
проф. Джордж Контогеоргіс (Афіни, Греція)  
проф. Г.О. Леженко (Запоріжжя)  
проф. В.Ф. Мислицький (Чернівці)  
проф. І.О. Михайлюк (Івано-Франківськ)  
проф. Барат Натвані (Лос-Анджелес, США)  
проф. М.К. Недзьведь (Мінськ, Республіка Білорусь)  
академік РАМН, проф. М.А. Пальцев (Москва, РФ)  
проф. Ю.О. Поспішіль (Львів)  
проф. О.С. Решетнікова (Калінінград, РФ)  
проф. В.П. Сільченко (Київ)  
проф. І.В. Сорокіна (Харків)  
проф. В.П. Терещенко (Київ)  
проф. П.І. Червяк (Київ)  
проф. Шоджи Фукушіма (Канагава, Японія)

## Pathologia

Volume 14 No. 3 September–December 2017

Scientific Medical Journal. Established in October 2004  
Zaporizhzhia State Medical University  
Submit papers are peer-reviewed

© Патологія, 2017

## Editorial Board

Editor-in-Chief – V.A. Tumanskiy  
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov  
Executive secretary – S.I. Tertyshniy  
T.M. Boichuk (Chernivtsi, Ukraine)  
O.V. Gancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.I. Cherniy (Kyiv, Ukraine)  
S.G. Gichka (Kyiv, Ukraine)  
Yu.M. Kolesnik (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.D. Markovsky (Kharkiv, Ukraine)  
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)  
A.G. Reznikov (Kyiv, Ukraine)  
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)  
V.A. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
G.A. Shifrin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.S. Shpon'ka (Dnipro, Ukraine)  
G.G. Skibo (Kyiv, Ukraine)  
T.D. Zadorozhnaya (Kyiv, Ukraine)  
S.M. Zavorodniy (Zaporizhzhia, Ukraine)  
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

## Scientific Editorial Board

Samir S. Amr (Dhahran, Saudi Arabia)  
N.M. Anichkov (St. Petersburg, RF)  
Ya.Ya. Bodnar (Ternopil, Ukraine)  
Ch. Busch (Uppsala, Sweden)  
P.I. Cherviak (Kyiv, Ukraine)  
I.S. Davidenko (Chernivtsi, Ukraine)  
O.O. Dyadyk (Kyiv, Ukraine)  
Sh. Fukushima (Kanagawa, Japan)  
A.S. Gavrish (Kyiv, Ukraine)  
A.I. Gozhenko (Odessa, Ukraine)  
M. Jelen (Wroclaw, Poland)  
F. Joubert (Paris, France)  
L.V. Kaktursky (Moscow, RF)  
O.M. Kamyshny (Zaporizhzhia, Ukraine)  
M.O. Klimenko (Mykolaiv, Ukraine)  
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)  
G.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.O. Michailiuk (Ivano-Frankivsk, Ukraine)  
V.F. Mislitskiy (Chernivtsi, Ukraine)  
B. Nathwani (Los Angeles, USA)  
M.K. Nedz'ved' (Minsk, Belarus)  
M.A. Paltsev (Moscow, RF)  
Yu.A. Pospishil (Lviv, Ukraine)  
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)  
V.P. Silchenko (Kyiv, Ukraine)  
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)  
V.P. Tereschenko (Kyiv, Ukraine)

Mayakovsky Avenue, 26,  
Zaporizhzhia, 69035,  
UKRAINE  
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua  
http://pat.zsmu.edu.ua

## Науково-практичний медичний журнал Запорізького державного медичного університету

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

### Атестований

як наукове фахове видання,  
в якому можуть публікуватися  
результати дисертаційних робіт  
у галузі медичних наук  
(Наказ Міністерства освіти  
і науки України  
№ 1081 від 29.09.2014 р.)

### Журнал включений до

### WEB OF SCIENCE™

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

### Ліцензія Creative Commons



Редакція може публікувати  
матеріали, не поділяючи  
думки авторів.

### Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ  
протокол № 4 від 28.11.2017 р.  
Підписано до друку  
05.12.2017 р.

### Редакція:

Начальник редакційно-  
видавничого відділу  
В.М. Миклашевський  
Літературний редактор  
І.І. Гаркавцева  
Технічний редактор  
Ю.В. Полупан

### Адреса редакції і видавця:

69035, Україна,  
м. Запоріжжя,  
пр. Маяковського, 26, ЗДМУ,  
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua  
http://pat.zsmu.edu.ua

### Віддруковано

у друкарні ТОВ «Х-ПРЕСС»  
69068, м. Запоріжжя,  
вул. Кругова, 165/18,  
тел. (061) 220-42-29.  
Свідоцтво  
про державну реєстрацію  
АОО №198468 від 01.07.1999 р.  
Формат 60x84/8.  
© Папір крейдяний,  
безкислотний,  
Умов. друк. арк. 6.  
Тираж 200 прим.  
Зам. № 12/17.

## Оригінальні дослідження

**Туманский В. А., Фень С. В.**

Патоморфология фиброза печени в трепанобиоптатах больных стеатогепатитом: основные типы, источники развития, особенности прогрессирования

**Сиволап В. В., Новіков Є. В., Лисенко В. А., Богун А. О.**

Особенности оценивания геометрии левого шлуночка у больных на артериальную гипертензию

**Сиволап В. В., Візір-Тронова О. В.**

Влияние дополнительных факторов риска на антигипертензивную эффективность эпросартана та телмисартана у больных на гипертоничну хворобу

**Клименко В. М., Сиволап Д. В., Тertiшний С. І.**

Морфологические особенности большого дуоденального сосочка у больных на холелитиаз

**Иванько О. Г., Соляник А. В., Пашченко И. В.**

PIVKA-II в онтогенезе становления синтеза протромбина у детей первых месяцев жизни

**Товма А. В., Камышный А. М., Каменщик А. В., Иванько О. Г.**

Значение однонуклеотидных полиморфизмов генов семейства NFATC в развитии гипертрофии левого желудочка при первичной артериальной гипертензии у подростков

**Пославська О. В., Шпонька І. С., Гриценко П. О., Алексєєнко О. А.**

Морфометричний аналіз «панцитокератин-позитивних» неопластичних уражень лімфатичних вузлів ший

**Самура Б. Б.**

Прогностичне значення циркулюючого N-термінального фрагмента промозкового натрійуретичного пептиду в пацієнтів після лікування лімфами Ходжкіна (за результатами трирічного спостереження)

**Прыткова А. В.**

Нарушение резервной фильтрационной способности почек при раннем ревматоидном артрите

**Муквіч О. М., Задорожна Т. Д., Лавренчук О. В., Арчакова Т. М., Киликевич С. М.**

Імуногістохімічні особливості хронічних гастродуоденітів у дітей із дисплазією сполучної тканини

**Лещева Т. В.**

Кровоток яєчників у жінок репродуктивного віку та ехографічне оцінювання впливу на нього субтотальної гістеректомії

**Яременко Л. М., Грабовий О. М., Шепелєв С. Є.**

Експресія гліального фібрилярного кислого білка в сенсоримоторній корі великих півкуль при моделюванні транзиторної ішемії на тлі попередньої сенсibiliзації мозковим антигеном та імунокорекції

**Косей Н. В., Задорожна Т. Д., Захаренко Н. Ф., Педаченко Н. Ю., Ганжий І. Ю.**

Морфологічні та імуногістохімічні характеристики різних клініко-патогенетичних варіантів лейоміоми матки

**Кузнєцов А. А.**

Прогнозування виходу гострого періоду мозкового геморагічного супратенторіального інсульту на підставі оцінювання вираженості вторинного внутрішньшлуночкового крововиливу в дебюті захворювання

## Original research

**244 Tumanskiy V. A., Fen' S. V.**

Pathomorphology of liver fibrosis in trepanobiopitates of patients with steatohepatitis: main types, sources of development, features of progression

**257 Syvolap V. V., Novikov Ye. V., Lysenko V. A., Bogun A. O.**

Features of estimation of left ventricular geometry in patients with arterial hypertension

**263 Syvolap V. V., Vizir-Tronova O. V.**

Influence of additional risk factors on the antihypertensive efficacy of eprosartan and telmisartan in patients with essential hypertension

**271 Klimenko V. M., Syvolap D. V., Tertyshnyi S. I.**

Morphological features of the major duodenal papilla in patients with cholelithiasis

**276 Ivanko O. G., Solianik A. V., Pashchenko I. V.**

Ontogenetic view on PIVKA-II in the development of prothrombin synthesis in infants

**282 Tovma A. V., Kamyshnyi A. M., Kamenshchik A. V., Ivanko O. G.**

The role of single nucleotide polymorphisms of NFATC genes in the development of left ventricular hypertrophy in primary arterial hypertensive adolescents

**287 Poslavskaya O. V., Shponka I. S., Hritsenko P. A., Alekseenko O. A.**

Morphometric analysis of "pancytokeratin-positive" neoplastic lesions of the lymph nodes of the neck

**293 Samura B. B.**

Predictive value of circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients after treatment of Hodgkin lymphoma (a 3-year prospective study)

**298 Prytkova A. V.**

Violation of reserve filtration capacity of kidneys in patients with early rheumatoid arthritis

**305 Mukvich O. M., Zadorozhnaya T. D., Lavrenchuk O. V., Archakova T. N., Kilyhevych S. M.**

Immuno-histochemical features of chronic gastro-duodenitis in children with connective tissue dysplasia

**310 Leshcheva T. V.**

Ovarian blood supply in women of reproductive age and echo-graphic evaluation of influence of subtotal hysterectomy on it

**314 Yaremenko L. M., Grabovoy A. N., Shepelev S. E.**

Expression of glial fibrillar acidic protein in the sensorimotor cortex of the cerebral hemispheres in the modeling of transient ischemia against the background of previous sensitization by brain antigen and immunocorrection

**319 Kosey N. V., Zadorozhnaya T. D., Zakharenko N. F., Pedachenko N. Yu., Ganzhiy I. Yu.**

Morphofunctional and immunohistochemical characteristics of different clinical-pathogenetic types of leiomyoma

**326 Kuznietsov A. A.**

Prediction of cerebral hemorrhagic supratentorial stroke acute period outcome on the basis of the assessment of secondary intraventricular hemorrhage severity in the onset of the disease

## Оригінальні дослідження

Сиволап В. В., Жеманюк С. П.

Фактори ризику ішемічного інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу

Лискина И. В., Мельник О. А., Загаба Л. М., Кузовкова С. Д., Куц В. В.

Сравнительная характеристика иммуногистохимического выявления антигенов *M. tuberculosis* и микобактерий методом Циля–Нильсена в легочной ткани с туберкулезом на фоне прогрессирующего течения туберкулеза

Сюсюка В. Г.

Рівень біогенних амінів у вагітних із психоемоційними порушеннями, що зумовлені тривожністю

Волошин М. А., Аравіцький Є. О., Куц О. Г.

Дослідження динаміки кількості та топографії LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у тимусі щурів у ранньому післянатальному періоді в нормі та після пренатального введення дексаметазону

Гарাপко Т. В., Головацький А. С.

Субмікроскопічні зміни структурних компонентів тимуса при дії на організм налбуфіну

Григор'єва О. А., Апт О. А.

Особливості еміграції лімфоцитів із тимуса

## Сучасні технології наукових досліджень

Колесник Ю. М., Ганчева О. В., Абрамов А. В., Колесник М. Ю., Іваненко Т. В., Тищенко С. В., Данукало М. В., Федотова М. І.

Современные подходы и новые методические возможности в оценке функционального состояния мелких лабораторных животных

## Огляди

Шулятнікова Т. В., Шаврін В. О.

Сучасний погляд на печінкову енцефалопатію: основні поняття та концепції патогенезу

## Original research

330 Syvolap V. V., Zhemanyuk S. P.

Risk factors of ischemic stroke in hypertensive patients

337 Liskina I. V., Melnyk O. A., Zahaba L. M., Kuzovkova S. D., Kuts V. V.

Comparative characteristics of immunohistochemical detection of *M. tuberculosis* antigens and mycobacteria by Ziehl–Neelsen method in lung tissue with tuberculoma during progressive course of tuberculosis

344 Syusyuka V. G.

Level of biogenic amines in pregnant women with psycho-emotional disorders stipulated by anxiety

348 Voloshyn M. A., Aravitskiy Ye. O., Kushch O. G.

Determination of the quantity and topography dynamics of the LCA<sup>+</sup>-dendritic cells in rat thymus in early postnatal period in norm and after the prenatal administration of the dexamethasone

353 Harapko T. V., Holovatskiy A. S.

Submicroscopic changes in the structural components of thymus under the action of nalbuphine on the body

358 Grygorieva O. A., Apt O. A.

Peculiarities of lymphocytes emigration from newborn thymus

## Modern technologies of scientific research

364 Kolesnyk Yu. M., Hancheva O. V., Abramov A. V., Kolesnyk M. Yu., Ivanenko T. V., Tishchenko S. V., Danukalo M. V., Fedotova M. I.

Modern approaches and new methodological possibilities in the functional state of small laboratory animals assessing

## Review

371 Shulyatnikova T. V., Shavrin V. A.

Modern view on hepatic encephalopathy: basic terms and concepts of pathogenesis

## Міжнародна індексація журналу / Indexing

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

Ulrich's Periodicals Directory (США)

WorldCat (США): [http://www.worldcat.org/title/pathologia/oclc/260006269&referer=brief\\_results](http://www.worldcat.org/title/pathologia/oclc/260006269&referer=brief_results)The National Library of Medicine (США): [http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search\\_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItxUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3](http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItxUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3)The National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101470944>WORLDWIDE ELIBRARY(США): <http://www.sciary.com/journal-scientific-pathologia-article-77962>getCITED (США): <http://www.getcited.org/pub/103524559>BASE (Bielefeld Academic Search Engine) (ФРН): <http://www.base-search.net/Search/Results?lookfor=%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F&type=all&oaboost=1&ling=1&name=&thes=&refid=dcesde&newsearch=1>JournalTOCs (Великобританія): [http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&pageb=1&userQueryID=&sort=&local\\_page=1&sortType=&sortCol=1](http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&pageb=1&userQueryID=&sort=&local_page=1&sortType=&sortCol=1)CiteFactor (США): [http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd\\_smg](http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd_smg)Index Copernicus (Польща): <http://www.journals.indexcopernicus.com/Pathologia,p5665,3.html>Google Scholar (Академія): [http://scholar.google.com.ua/scholar?q=%D0%B6%D1%83%D1%80%D0%BD%D0%B0%D0%BB+%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%2C+Pathologia&btnG=&hl=ru&as\\_sdt=1%2C5&as\\_ylo=2014&as\\_vis=1](http://scholar.google.com.ua/scholar?q=%D0%B6%D1%83%D1%80%D0%BD%D0%B0%D0%BB+%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%2C+Pathologia&btnG=&hl=ru&as_sdt=1%2C5&as_ylo=2014&as_vis=1)DOAJ (Великобританія): <https://doaj.org/toc/2310-1237>

## Патоморфология фиброза печени в трепанобиоптатах больных стеатогепатитом: основные типы, источники развития, особенности прогрессирования

В. А. Туманский, С. В. Фень

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

**Ключевые слова:** стеатогепатит, звёздчатые клетки, фибробласты, цирроз печени, биопсия.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 244–256

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118299

**E-mail:**  
Alchimik1989@  
gmail.com.

До последнего времени среди патологов, гепатологов и гастроэнтерологов продолжается дискуссия по морфогенезу и градации фиброза печени у больных неалкогольным (НАСГ) и алкогольным стеатогепатитом (АСГ).

**Цель работы** – изучить основные типы и источники фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом, обосновать градацию степени его тяжести с учетом количественной динамики фиброгенных клеток-продуцентов, относительной площади фиброза и депонирования коллагена I, III и IV типа в печени.

**Материалы и методы.** Гистологическое и гистохимическое исследование фиброза печени проведено у 198 больных НАСГ 18–79 лет и у 79 больных АСГ 47–63 лет. Иммуногистохимическое исследование с измерением площади экспрессии активированных  $\alpha$ SMA+ перисинусоидальных звездчатых клеток и  $\alpha$ SMA+ портальных миофибробластов при F1 (легком), F2 (умеренном), F3 (тяжелом) фиброзе и F4 фиброзе/циррозе печени проведено в 80 трепанобиоптатах больных НАСГ (по 20 случаев в каждой группе), электронно-микроскопическое исследование печени – у 10 умерших больных, страдавших НАСГ.

**Результаты.** У больных НАСГ и АСГ прогрессируют два основных типа фиброза печени: перисинусоидально-перичеллюлярный и портально-Z3перисинусоидальный фиброз, источником развития которых являются новые поколения  $\alpha$ SMA+ звездчатых клеток и  $\alpha$ SMA+ портальных миофибробластов фиброгенного иммунофенотипа, с коэкспрессией ними фасцина, виментина и отсутствием экспрессии десмина. По мере прогрессирования перисинусоидально-перичеллюлярного фиброза от легкой F1 степени к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу перичеллюлярного типа в печени достоверно возрастает площадь Массон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнуистого матрикса ( $H = 88,70$ ;  $p = 0,05$ ) и площадь  $\alpha$ SMA+ коллаген-продуцирующих звездчатых клеток перисинусоидально-перичеллюлярной локализации ( $H = 45,12$ ;  $p = 0,05$ ). По данным фотоцифровой морфометрии, при возрастании степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени от F1 к F4 в зонах фиброза достоверно возрастает площадь Массон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнуистого матрикса ( $H = 76,56$ ;  $p = 0,05$ ), а также площадь активированных  $\alpha$ SMA+ коллаген-продуцирующих портальных миофибробластов и перисинусоидальных звездчатых клеток Z3 зон печеночных долек ( $H = 43,18$ ;  $p = 0,05$ ). Активация и увеличения числа CD-68+ макрофагов в очагах интенсивного стеатоза гепатоцитов, а также появление S100 (A4)+ макрофагов, которые активируют звездчатые клетки, дает основание предполагать, что феномен перичеллюлярности фиброза печени при НАСГ и АСГ обусловлен экзосомальным привлечением макрофагов в зоны баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокиновой активацией перисинусоидальных звездчатых клеток фиброгенного типа.

**Выводы.** По мере прогрессии фиброза от F1 до F4 степени в печени достоверно увеличивается площадь активированных  $\alpha$ SMA+ фибробластов, а также площадь депонирования коллагена I, III и IV типа перисинусоидально-перичеллюлярной или портально-Z3перисинусоидальной локализации.

**Ключові слова:** стеатогепатит, зірчасті клітини, фібробласти, цироз печінки, біопсія.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 244–256

## Патоморфологія фіброзу печінки в трепанобіоптатах хворих на стеатогепатит: основні типи, джерела розвитку, особливості прогресування

В. О. Туманський, С. В. Фень

До останнього часу серед патологів, гепатологів і гастроентерологів триває дискусія щодо морфогенезу та градації фіброзу печінки у хворих на неалкогольний (НАСГ) та алкогольний стеатогепатит (АСГ).

**Мета роботи** – вивчити основні типи та джерела фіброзу печінки у хворих на неалкогольний та алкогольний стеатогепатит, обґрунтувати градацію ступеня його тяжкості з урахуванням кількісної динаміки фіброгенних клітин-продуцентів, відносної площі фіброзу та депонування колагену I, III та IV типу в печінці.

**Матеріали та методи.** Гістологічне та гістохімічне дослідження фіброзу печінки здійснили у 198 хворих на НАСГ віком 18–79 років та у 79 хворих на АСГ віком 47–63 роки. Імуногістохімічне дослідження з вимірюванням площі експресії активованих  $\alpha$ SMA+ перисинусоїдальних зірчастих клітин та  $\alpha$ SMA+ портальних міофібробластів при F1 (легкому), F2 (помірному), F3 (важкому) фіброзі та F4 фіброзі/циррозі печінки здійснили у 80 трепанобіоптатах хворих на НАСГ (по 20 випадків у кожній групі), електронно-мікроскопічне дослідження печінки – в 10 померлих хворих, які страждали на НАСГ.

**Результати.** У хворих на НАСГ та АСГ прогресують два основні типи фіброзу печінки: перисинусоїдально-перичеллюлярний і портально-Z3перисинусоїдальний фіброз, джерелом розвитку яких є нові покоління  $\alpha$ SMA+ зірчастих клітин та  $\alpha$ SMA+ портальних міофібробластів фіброгенного імунофенотипу з коекспресією ними фасцина, виментина та відсутністю експресії десмину. З прогресуванням перисинусоїдально-перичеллюлярного фіброзу від легкого F1 ступеня до важкого F3 фіброзу та до край важкого F4 фіброзу/циррозу перичеллюлярного типу в печінці вірогідно зростає площа Массон-



позитивного позаклітинного молекулярно-волоконистого матриксу ( $H = 88,70$ ;  $p = 0,05$ ) і площа  $\alpha$ SMA+ колаген-продукуючих зірчастих клітин перисинусоїдально-перичелюлярної локалізації ( $H = 45,12$ ;  $p = 0,05$ ). За даними фотоцифрової морфометрії, при зростанні ступеня тяжкості портально-ЗЗперисинусоїдального фіброзу печінки від F1 до F4 в зонах фіброзу вірогідно зростає площа Массон-позитивного позаклітинного молекулярно-волоконистого матриксу ( $H = 76,56$ ;  $p = 0,05$ ), а також площа активованих  $\alpha$ SMA+ колаген-продукуючих портальних міофібробластів і перисинусоїдальних зірчастих клітин ЗЗ зон печінкових дольок ( $H = 43,18$ ;  $p = 0,05$ ). Активація та збільшення числа CD-68+ макрофагів у вогнищах інтенсивного стеатоза гепатоцитів, а також поява S100 (A4)+ макрофагів, що активують зірчасті клітини, дає підставу припускати: феномен перичелюлярного фіброзу печінки при НАСГ та АСГ зумовлений екзосомальним залученням макрофагів до зон балонного стеатонекрозу та некроптозу гепатоцитів, а також локальною екзосомально-цитокіновою активацією перисинусоїдальних зірчастих клітин фіброгенного типу.

**Висновки.** З прогресією фіброзу від F1 до F4 ступеня в печінці вірогідно збільшується площа активованих  $\alpha$ SMA+ фібробластів, а також площа депонування колагену I, III та IV типу перисинусоїдально-перичелюлярної або портально-ЗЗперисинусоїдальної локалізації.

## Pathomorphology of liver fibrosis in trepanbiopsates of patients with steatohepatitis: main types, sources of development, features of progression

V. A. Tumanskiy, S. V. Fen'

Until recently, among the pathologists, hepatologists and gastroenterologists, a discussion continues on the morphogenesis and gradation of liver fibrosis in non-alcoholic patients (NASH) and alcoholic steatohepatitis (ASH).

**Purpose of the study.** Studying the main types and sources of liver fibrosis in patients with nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis, justifying the gradation of its severity, taking into account the quantitative dynamics of fibrogenic producer cells, the relative area of fibrosis and the deposition of type I, III and IV collagen in the liver.

**Material and methods.** Histological and histochemical examination of liver fibrosis was performed in 198 patients with NASH of 18–79 years and in 79 patients with ASH of 47–63 years. Immunohistochemical study with measurement of the area of expression of activated  $\alpha$ SMA+ perisinusoidal stellate cells and  $\alpha$ SMA+ portal myofibroblasts with F1 (mild), F2 (moderate), F3 (severe) fibrosis and F4 fibrosis/cirrhosis was performed in 80 trepanbiopsates of patients with NASH (20 cases in each group), electron microscopic examination of the liver – in 10 deceased patients suffering from NASH.

**Results.** In patients with NASH and ASH, there are two major types of liver fibrosis progress: the perisinusoidal pericellular and portal-Z3 perisinusoidal fibrosis, the development of which is the new generation of  $\alpha$ SMA+ star cells and  $\alpha$ SMA+ portal myofibroblasts of the fibrogenic immunophenotype, with co-expression of fascin and vimentin and absence of desmine expression. As the perisinusoidal pericellular fibrosis progresses from the mild F1 degree, to the severe F3 fibrosis and to the extremely severe F4 fibrosis/cirrhosis of the pericellular type, the area of the Mason-positive extracellular molecular-fibrous matrix ( $H = 88,70$ ;  $P = 0,05$ ) and the area of  $\alpha$ SMA+ collagen-producing stellate cells of perisinusoidal-pericellular localization ( $H = 45,12$ ;  $P = 0,05$ ). According to the data of photometric morphometry, with increasing severity of portal-Z3 perisinusoidal hepatic fibrosis from F1 to F4, the area of the Mason-positive extracellular molecular-fibrous matrix ( $N = 76,56$ ;  $P = 0,05$ ) in areas fibrofacitiously increases, as well as the area of activated  $\alpha$ SMA+ collagen-producing portal myofibroblasts and perisinusoid stellate cells of Z3 zones of hepatic lobules ( $H = 43,18$ ,  $P = 0,05$ ). Activation and increase in the number of CD-68+ macrophages in the centers of intensive hepatocyte steatosis, as well as the appearance of S100 (A4)+ macrophages that activate stellate cells, suggests that the phenomenon of pericellularity of liver fibrosis in NASH and ASH is due to exosomal macrophage involvement in zone of balloon steatonecrosis and necroptosis of hepatocytes, as well as local exosomal-cytokine activation of perisinusoid stellate cells of fibrogenic type.

**Conclusion.** As the progression of fibrosis from F1 to F4 degree in the liver the area of activated  $\alpha$ SMA+ fibroblasts, and the area of deposition of collagen I, III and IV type perisinusoidal pericellular or portal-Z3 perisinusoidal localization significantly increase.

Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) і алкогольний стеатогепатит (АСГ) вместе с вирусными гепатитами В и С (ХВГВ, ХВГС), являются основными хроническими заболеваниями, неизбежно осложняющимися фиброзом печени [1]. До настоящего времени среди патологов, гепатологов и гастроэнтерологов продолжается дискуссия по морфогенезу и градации фиброза печени у больных НАСГ и АСГ. Мощным стимулом такой дискуссии стало стремление к молекулярно-клеточному обоснованию обратимости фиброза печени, а также разработка его таргетной терапии у больных стеатогепатитом [2–4]. Результаты исследований последних лет, суммированные в обзорах Ch. Trautwein et al., A. Takaki et al., F. Stickel et al. [2,5,6], показали, что развивающийся в гепатоцитах окислительный стресс, дисфункция митохондрий, стресс эндоплаз-

матической сети с внутриклеточным накоплением липидов (при НАСГ – из-за снижения эффективности антиоксидантной защиты, при АСГ – из-за токсического эффекта алкоголя и ацетальдегида) ведут к некроптозу и некрозу гепатоцитов с высвобождением свободных перекисных радикалов, продуктов перекисного окисления липидов и фрагментов ДНК в межклеточное пространство. Эти молекулы клеточного повреждения с участием провоспалительных цитокинов, выделяемых лимфоцитами, активированными макрофагами Купфера и моноцитарными макрофагами, вызывают трансформацию перисинусоидальных звездчатых клеток (ПЗК) и портальных фибробластов в фиброгенные миофибробласты (МФБ) печени, синтезирующие избыток коллагенов, нековалентных гликопротеинов, протеогликанов и гликозаминогликанов. В активации

### Key words:

steatohepatitis, hepatic stellate cells, fibroblasts, liver cirrhosis, biopsy.

### Pathologia

2017; 14 (3), 244–256

ПЗК также участвуют патогенные молекулы, поступающие из кишечника при его повышенной проницаемости [7] или при изменении микробиома у больных НАСГ и АСГ [8]. Допускается участие в развитии фиброза печени циркулирующих костномозговых фиброцитов [9].

Разработанные ранее патоморфологические классификации и градации фиброза печени при стеатогепатите, учитывающие зональную локализацию фиброза в дольках печени [10,11], не полностью приемлемы для патоморфологической диагностики трепанобиоптатов печени, которая в сравнении с диагностикой операционного и аутопсийного материала отличается ограниченным числом неупорядоченно ориентированных долек в срезах биоптата, а также значительным дефицитом клинических и лабораторных данных, уточняющих генез стеатогепатита. Поэтому некоторые патологи [12] градуируют фиброз печени при стеатогепатите на 4 степени тяжести (F1 – минимальный, F2 – умеренный, F3 – тяжелый и F4 – цирроз печени), по аналогии с давно применяющейся в патоморфологической практике градацией гепатофиброза METAVIR для хронического вирусного гепатита.

Учитывая определенные ограничения инвазивной биопсийной диагностики и градации фиброза печени (невозможность точного установления этиологии фиброза и его реальной распространенности в печени, редкость повторных инвазивных биопсий для оценки динамики фиброза), в последние годы широкое распространение получили неинвазивные методы: плазменные биомаркеры фиброза печени, дименсиональная ультразвуковая эластография с контролируемым сдвигом волн, 3-D магнитно-резонансная эластография, позитронно-эмиссионная визуализация специфических для фиброза клеток или рецепторов [2,13]. Однако в совместных рекомендациях Американской ассоциации по изучению печени и Американской гастроэнтерологической ассоциации 2012 года [14], а также в практическом руководстве Европейской и Латиноамериканской ассоциаций по изучению печени 2015 года [13] рекомендуется использовать как неинвазивные методы – для интегральной градации фиброза печени и оценки его динамики, так и трепанобиопсию печени – для выявления патологом морфологических признаков активности и прогностических перспектив этиологически определенного хронического заболевания печени, для градации фиброза печени и определения возможных мишеней его таргетной терапии, а также для раннего выявления карциномы печени.

### Цель работы

Изучить основные типы и источники фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом, обосновать градацию степени его тяжести с учетом количественной динамики фиброгенных клеток-продуцентов, относительной площади фиброза и накопления в печени коллагена I, III и IV типа.

### Материалы и методы исследования

Проведено гистологическое и гистохимическое исследование НАСГ в трепанобиоптатах печени 173 боль-

ных и в секционном материале 25 умерших больных (всего 198 больных НАСГ в возрасте от 18 до 79 лет), а также АСГ в трепанобиоптатах печени 12 больных и в секционном материале 67 умерших больных (всего 79 больных АСГ в возрасте от 47 до 63 лет). При АСГ легкий F1 фиброз печени диагностирован в 19 наблюдениях, умеренный F2 фиброз – в 20 случаях, тяжелый F3 фиброз – в 9 наблюдениях, F4 фиброз/цирроз печени выявлен в 31 наблюдении. При НАСГ F0 отсутствие фиброза выявлено в 24 случаях, легкий F1 фиброз печени диагностирован в 25 наблюдениях, умеренный F2 фиброз – в 49 случаях, тяжелый F3 фиброз – в 22 наблюдениях, F4 фиброз/цирроз печени выявлен в 53 наблюдениях. Выполнен ретроспективный анализ микроскопических и ГХ особенностей F1-F4 фиброза печени в биоптатах 154 больных ХВГС и 26 больных ХВГВ.

Для патоморфологического исследования биопсийный и секционный материал печени фиксировали в забуференном 10 % формалине и заливали в парафин. В парафиновых срезах, окрашенных методом Ван-Гизона и Массон-трихром, в соответствии с модифицированной градацией E. M. Brunt et al. [15] определяли преобладающий тип фиброза печени (перисинусоидально-periцеллюлярный, портально-Z3перисинусоидальный), а также степень его тяжести: легкий F1 фиброз, умеренный F2 фиброз, тяжелый F3 фиброз и крайне тяжелый F4 фиброз/цирроз печени (микрондулярного или periцеллюлярного типа).

Параллельное ГХ и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проведено в 80 трепанобиоптатах больных НАСГ: в группе 40 наблюдений перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза (10 случаев – с F1 легким фиброзом; 10 случаев – с F2 умеренным фиброзом; 10 случаев – с F3 тяжелым фиброзом, 10 случаев – с F4 фиброзом/циррозом печени), а также в группе 40 наблюдений портально-Z3перисинусоидального фиброза (10 случаев – с F1 легким фиброзом; 10 случаев – с F2 умеренным фиброзом; 10 случаев – с тяжелым F3 фиброзом и 10 случаев – с F4 фиброзом/циррозом печени). Группу условного контроля составили 10 трепанобиоптатов печени больных, не страдавших НАСГ и не имевших гистологических признаков фиброза и стеатоза печени.

ИГХ исследование проведено в парафиновых срезах печени непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител и системы визуализации DAKO EnVision+ с диамибензидином («DAKO», Дания). Для выявления активированных коллаген-продуцирующих клеток использованы моноклональные антитела Mo a-Hu Alpha Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -SMA), *Clone 1A4* («DAKO», Дания), Mo a-Hu Vimentin, *Clone V9, RTU* («DAKO», Дания), Mo a-Hu Desmin, *Clone D33, RTU* («DAKO», Дания); для выявления клеток Купфера и моноцитарных макрофагов применены моноклональные антитела Mo a-Hu CD68, *Clone PG-M1* («DAKO», Дания) и Rb a-Hu S100, *Clone A4* («NeoMarkers», США); для идентификации молекулярно-волоконистых компонентов фиброза печени использованы поликлональные антитела Rb Fibronectin, *RTU* («DAKO», Дания) и моноклональные антитела Mo a-Hu Fascin Ab1, *Clone FCN01* («NeoMarkers», США),

а также моноклональные антитела к коллагену I типа – Rb a-Hu Collagen type I, *clone RAH C11-0,1* («Имтек», Российская Федерация), к коллагену III типа – Rb a-Hu Collagen type III, *clone RAH C33* («Имтек», Российская Федерация) и к коллагену IV типа – Mo a-Hu Collagen type IV Ab-3, *clone CIV 22 + PHM 12* («Thermo Seientific», США).

Электронная микроскопия (ЭМ) выполнена в кусочках печени 10 умерших больных, страдавших НАСГ. Мелкие кусочки печени, взятые через час после смерти больных, фиксировали в 2,5 % глутаральдегиде на фосфатном буфере (pH 7,3) и в 1 %  $\text{OsO}_4$ , обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации с дополнительным контрастированием 2,5 % уранилацетатом и 1 % раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты по Хэмптону, пропитывали и заливали в эпон-аралдитный компаунд. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме Reichert Om43, дополнительно контрастировали азотнокислым свинцом по Рейнольдсу, анализировали и фотографировали в электронном микроскопе ПЭМ-100-01 при ускоряющем напряжении 75 кВ.

В биоптатах печени больных НАСГ методом фотоцифровой морфометрии (ФЦММ) измеряли площадь экспрессии активированных  $\alpha\text{SMA}+$  ПЗК,  $\alpha\text{SMA}+$  портальных МФБ, коллаген I, III, IV типа при F1–F3 фиброзе и при F4 циррозе в стандартизованной площади гистологического среза печени (СПГСП), которой являлось фотоцифровое изображение среза печени в фотокамере «Olympus 3040» (Япония), сфотографированное в микроскопе Axioplan 2 «Carl Zeiss» (ФРГ) при увеличении  $\times 200$ . В каждом стекле фотографировали по 5 полей зрения с наличием в нем печеночной дольки и портального тракта. В программе ImageJ определяли площадь соответствующих иммунопозитивных клеток, которые представляли собой процентное соотношение числа пикселей цифрового изображения иммунопозитивного материала к общему числу пикселей в изображении.

Результаты количественных измерений оценивали с помощью статистического пакета Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., лицензия № AXXR712D833214FAN5), вычисляли медиану, нижний и верхний квартили, данные представляли в форме Me (Q1, Q3). Площадь экспрессии активированных  $\alpha\text{SMA}+$  перисинусоидальных звездчатых клеток и  $\alpha\text{SMA}+$  портальных миофибробластов при F1–F3 фиброзе и F4 циррозе печени у больных НАСГ сравнивали с применением непараметрического критерия Краскела–Уоллиса (H). Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и их обсуждение

Микроскопические, ГХ и ИГХ исследования 277 биоптатов печени и печени 92 умерших больных показали, что у больных НАСГ и АСГ развивается один из двух основных типов фиброза печени: или перисинусоидально-periцеллюлярный или портально-перисинусоидальный фиброз Z3 зон печеночных долек (портально-Z3перисинусоидальный фиброз). Установлено, что у больных НАСГ и АСГ перисинусо-

идально-periцеллюлярный и портально-Z3перисинусоидальный фиброз печени прогрессируют от легкой F1 степени, через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу печени periцеллюлярного типа. В какой-то мере сходная градация фиброза у больных неалкогольной жировой болезнью печени предложена в 2011 году E. M. Brunt et al. [15], которые выделяли фиброз 3 зоны печеночных долек, перисинусоидальный и портально-перисинусоидальный фиброз в нарастающих стадиях 1, 2, 3 и 4 (цирроз печени). В соответствии с примененной нами градацией прогрессии фиброза печени установлено, что по мере увеличения площади фиброза, определяемой в гепатотрениоптатах методом Масон-триколор, в печени возрастает площадь распространения  $\alpha\text{SMA}$ -позитивных фиброгенных клеток, а также площадь коллагена I, III и IV типа, депонированного в зонах фиброза.

При перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе легкой F1 степени в некоторых перисинусоидальных пространствах печеночных долек при окраске Масон-триколор обнаруживаются короткие линейные фрагменты фиброза, которые в виде перпендикулярных коротких «зазубрин» кое-где проникают в базальные межклеточные пространства между гепатоцитами со стеатозом. Площадь перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза легкой F1 степени более чем в 10 раз превышает площадь фрагментарного фиброза, определяемого в перисинусоидальных пространствах печени у пациентов контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом. По данным ФЦММ, медиана площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза легкой F1 степени составляет 12,05 (11,01; 13,97) % СПГСП (рис. 1). При умеренном F2 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе фрагменты фиброза имеют большую длину и обнаруживаются ориентировочно в 20–30 % перисинусоидальных пространств. Они напоминают изогнутые «проволочные» нити разной толщины и перпендикулярно проникают в пространства между гепатоцитами со стеатозом. Медиана площади умеренного F2 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 17,50 (16,00; 20,65) % СПГСП (рис. 1). При тяжелом F3 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе в печеночных дольках обнаруживаются неправильной формы и разной площади островки фиброза, охватывающего фрагментарно утолщенные перисинусоидальные пространства и группы печеночных клеток со стеатозом. Медиана площади тяжелого F3 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 23,54 (19,12; 26,47) % СПГСП (рис. 1). Обычно также обнаруживаются умеренно утолщенные из-за фиброза портальные тракты, нередко выявляются фрагменты умеренно утолщенных из-за фиброза междольковых пространств. При крайне тяжелом F4 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе или микронодулярном циррозе печени periцеллюлярного типа к умеренно утолщенным из-за фиброза портальным трактам прилежат обширные поля долькового фиброза, окружающего мелкие группы из двух-трех или более гепатоцитов со стеатозом. В остатках печеночных долек, определяемых по наличию центроло-



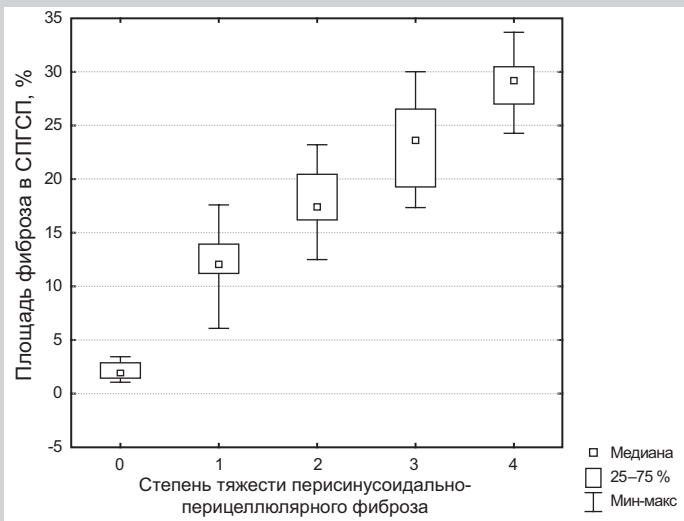


Рис. 1. Сравнение площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени, определяемого методом Мэсон-триколор в % СПГСП, при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

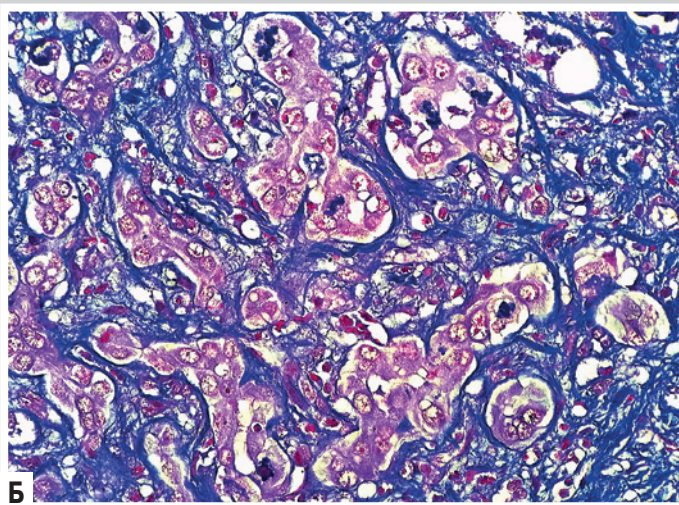
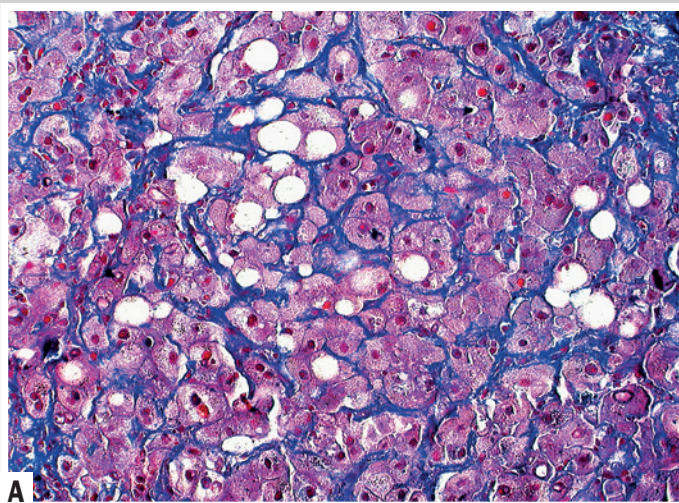


Рис. 2 (А, Б). А: тяжелый F3 periцеллюлярный фиброз печени при неалкогольном стеатогепатите; Б: крайне тяжелый F4 фиброз/цирроз печени periцеллюлярного типа при алкогольном стеатогепатите. А, Б: окраска Мэсон-триколор. Ув. А:  $\times 200$ , Б:  $\times 600$ .

булярной вены, определяются неправильной формы и разной площади островки тяжелого перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза с замурованными группами гепатоцитов со стеатозом. Определяемая ФЦММ медиана площади крайне тяжелого F4 перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени составляет 29,18 (26; 30,65) % СПГСП (рис. 1). Главным отличием от классического микронодулярного цирроза печени является наличие в псевдодольках полей тяжелого перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза с замурованными группами гепатоцитов со стеатозом. Эти структурные особенности позволяют отождествлять крайне тяжелый F4 перисинусоидально-periцеллюлярный фиброз с циррозом печени periцеллюлярного типа.

Результаты ФЦММ микропрепаратов, окрашенных методом Мэсон-триколор, показали, что увеличение площади перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени по мере возрастания степени его тяжести статистически достоверно (критерий Краскела–Уоллиса составил  $H = 88,70$ ;  $p = 0,05$ ).

Эволюция портально-Z3перисинусоидального фиброза печени имеет следующую динамику. При легком F1 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе при окраске Мэсон-триколор в печени обнаруживаются незначительно утолщенные портальные тракты, от которых радиально расходятся короткие, тонкие линейные фрагменты перисинусоидального фиброза, локализованные в Z3 зонах печеночных долек. Медиана площади незначительно утолщенных портальных трактов и перисинусоидальных пространств Z3 зон печеночных долек составляет 20,27 (18,49; 21,44) % СПГСП (рис. 3), что более чем на 60 % превышает аналогичные параметры у пациентов контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом. При умеренном F2 и тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени отмечается дальнейшее постепенное нарастание фиброза с умеренным утолщением портальных трактов и перисинусоидальных пространств Z3 зон печеночных долек. Медиана площади умеренного F2 портально-Z3перисинусоидального фиброза составляет 22,31 (20,13; 23,47) % СПГСП, а тяжелого F3 аналогичного фиброза – 23,93 (20,96; 27,70) % СПГСП (рис. 3). Статистически достоверная разница между медианами умеренного F2 и тяжелого F3 портально-Z3перисинусоидального фиброза печени не установлена. При F4 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе/циррозе в печени обнаруживаются псевдодольки, которые формируют утолщенные из-за фиброза портальные тракты, междольковые и портально-дольковые септы. При окраске Мэсон-триколор в печени определяется неравномерный фиброз междольковых пространств, утолщенные из-за фиброза портальные тракты, к которым прилежат утолщенные из-за фиброза фрагменты перисинусоидальных пространств в Z3 зонах печеночных долек. Нередко утолщенные перисинусоидальные пространства в Z3 зонах печеночных долек сливаются между собой, окаймляя небольшие группы гепатоцитов со стеатозом, или формируют портально-дольковые септы. Медиана площади портально-Z3перисинусоидального фиброза возрастает и составляет 29,18 (26; 30,65) % СПГСП



(рис. 3). Сравнение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени, определяемого методом Мэсон-триколор, в зависимости от степени тяжести такого фиброза отражено на рисунке 3.

По данным ФЦММ микропрепаратов, окрашенных методом Мэсон-триколор, увеличение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени при возрастании степени его тяжести от F1 к F4 статистически достоверно (критерий Краскела–Уоллиса составил  $N = 76,56$ ;  $p = 0,05$ ).

Гистохимические, ИГХ и ЭМ исследования показали, что основными источниками развития перисинусоидально-перицеллюлярного фиброза печени являются активированные ПЗК печеночных долек, а источниками развития портально-Z3перисинусоидального фиброза печени являются, главным образом, активированные портальные МФБ, и в меньшей степени – активированные ПЗК Z3-зон печеночных долек. Основными продуцентами избытка внеклеточного молекулярно-волоконного матрикса при фиброзе печени у больных НАСГ и АСГ являются новые поколения активированных ПЗК печеночных долек и портальных МФБ, приобретающие так называемый фиброгенный иммунофенотип, о котором свидетельствует коэкспрессия ими  $\alpha$ -изоформы гладкомышечного актина ( $\alpha$ SMA), фасцина, виментина и отсутствие экспрессии десмина.

В соответствии с современными представлениями миофибробласты отсутствуют в нормальной печени и появляются при хронических заболеваниях печени из двух основных источников: из трансформированных ПЗК и из мезенхимных клеток портальных трактов [16]. В миофибробласты также могут активироваться клетки второго слоя вокруг центрoлобулярных вен печени, клетки среднего слоя сосудов печени и фибробласты капсулы Глиссона [17]. ПЗК в печени здорового человека экспрессируют нейронные маркеры: глиальный фибриллярный кислый пептид (GFAP), синаптофизин, рецепторы фактора роста нервов (NGF) p75 [18], а в печени лабораторных мышей и крыс – также десмин, синемин, нейротропный рецептор 75NTR, рецепторы трансформирующего фактора роста  $\beta$  (T $\beta$ RI, -II, -III), клеточный ретинол-связывающий протеин 1 (CRBP-1), CD105/эндоглин и молекулы CD146 [19,20]. Покоящиеся ПЗК обеспечивают метаболизм ретиноидов, функции презентации антигенов и фагоцитоза [19], в культуре клеток печени мышей они характеризуются экспрессией генов Nr1d2, Adipor1, Adpf, Dbp, Prei4 и Foxj1 [21]. Активированные ПЗК приобретают высокую пролиферативную активность, утрачивают витамин А содержащие липидные капли, нейронные маркеры и трансформируются в звездчатые МФБ с экспрессией  $\alpha$ SMA, фасцина, виментина, фибронектина, а у лабораторных животных – также десмина, матриксных металлопротеиназ (MMP)-2, -9, -14 и их тканевых ингибиторов, лизил-оксидазы, пуринергической CD39L1/нуклеозидтрифосфат-дифосфогидролазы-2, CD73/экто-5'-эктонуклеотидазы и  $\beta$ -рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGF $\beta$ R) [20]. Для активированных звездчатых ПЗК печени мышей характерна экспрессия генов Crif1, Spp1, Lox, LoxL2, IL-17Ra, Fosl1 и Foir1 [21].

Портальные фибробласты (или резидентные

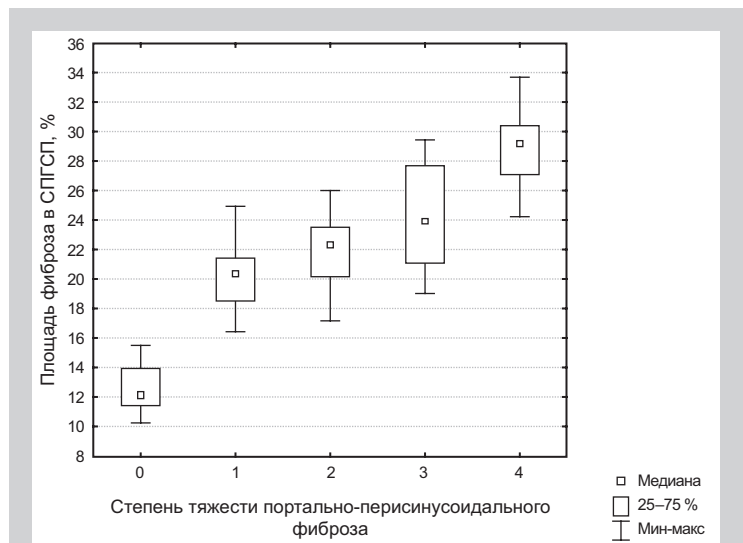


Рис. 3. Сравнение площади портально-Z3перисинусоидального фиброза печени, определяемого методом Мэсон-триколор в % СПГСР, при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

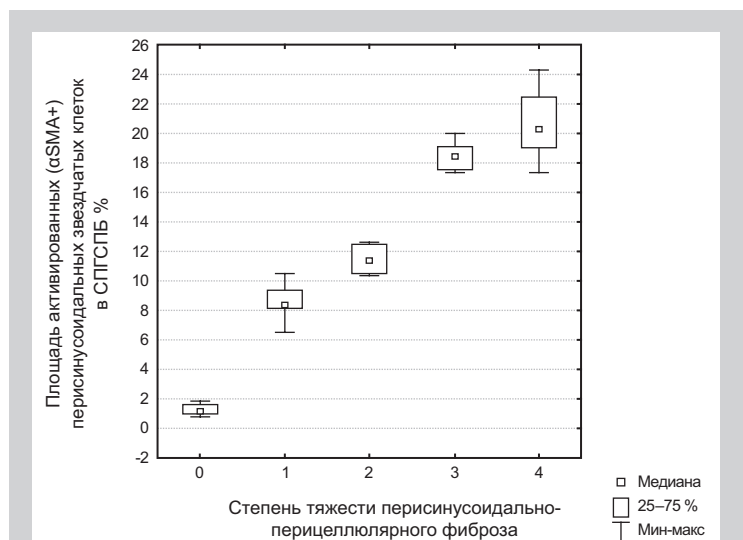


Рис. 4. Сравнение площади перисинусоидальных  $\alpha$ SMA+ клеток печени в % СПГСР при легком F1 фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 фиброзе и крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

фибробласты портальных трактов) в небольшом количестве находятся вокруг желчных протоков и вокруг портальной вены, они поддерживают оптимальный состав межклеточного молекулярно-волоконного матрикса портальных трактов [22]. В состоянии покоя портальные фибробласты регулируют количество и функции эпителия желчных протоков путем экспрессии эктонуклеотидазы-2 (NTPDase2) и модуляции перилиарных нуклеотид-зависимых митогенных сигналов [19]. Типичными маркерами портальных фибробластов печени мышей считаются фибулин-2, IL-6, эластин и экто-энзим нуклеозидтрифосфат-дифосфогидролаза-2 (NTPD2) [23]. Активированные портальные МФБ обладают высокими пролиферативными возможностями [24], экспрессируют *de novo*  $\alpha$ -SMA и TE-7 маркер

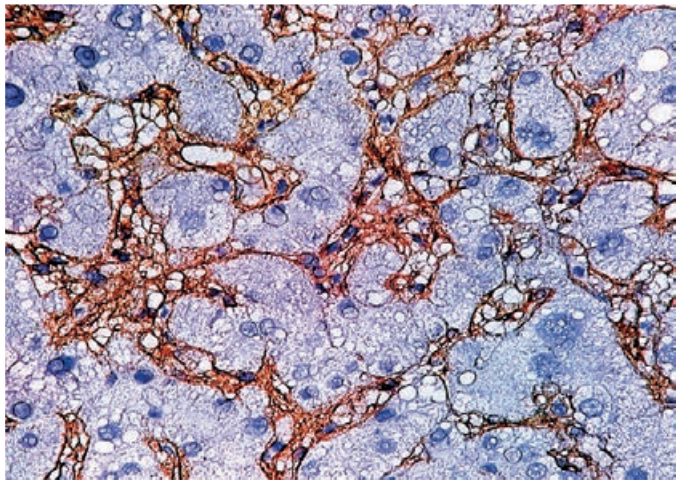


Рис. 5. Увеличенное количество  $\alpha$ SMA+ активированных звездчатых клеток перисинусоидально-периперцеллюлярной локализации при тяжелом F3 фиброзе печени. Мо а-Hu Alpha Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -SMA), Clone 1A4. Ув.:  $\times 600$ .

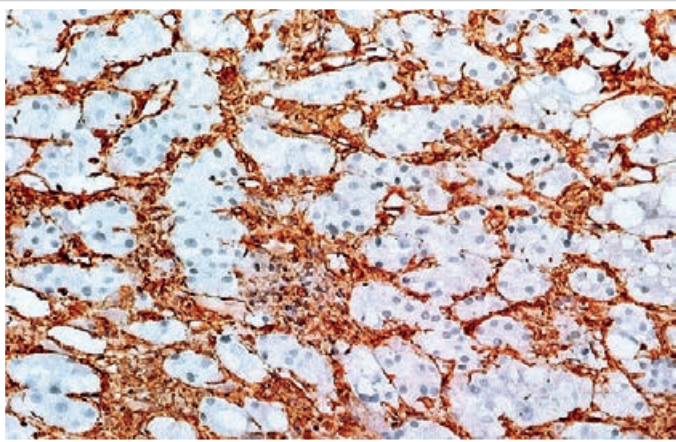


Рис. 6. Значительная экспрессия виментина в активированных звездчатых клетках и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-периперцеллюлярном матриксе печеночных долек. Мо а-Hu Vimentin, Clone V9. Ув.:  $\times 200$ .

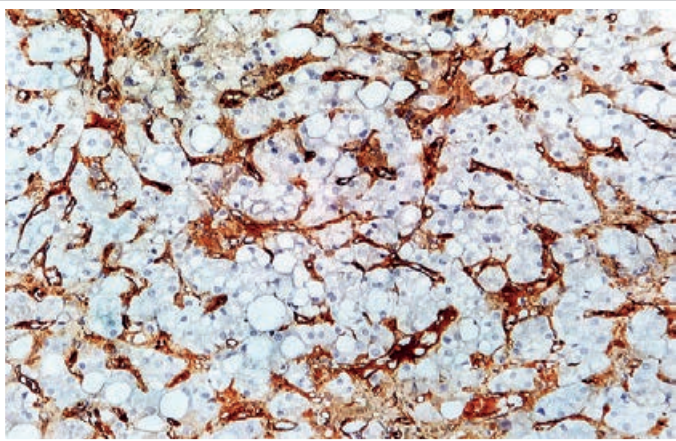


Рис. 7. Значительная экспрессия фасцилина в активированных звездчатых клетках и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-периперцеллюлярном матриксе печеночных долек. Мо а-Hu Fascin Ab. Ув.:  $\times 200$ .

фибробластов [22], коллаген I типа [25], фибронектин, фибулин-2 и лизил-оксидазу [26].

Расширенные ИГХ исследования D. Karin et al. [18] позволили в 2016 году идентифицировать дифференциальные отличия активированных портальных МФБ и активированных ПЗК печени у экспериментальных мышей. Этими исследователями показано, что в активированных ПЗК печени мышей определяется экспрессия  $\alpha$ SMA, эндоглина, CD73, CD146, GFAR, p75NTR, синемина и Lrat, а в активированных портальных МФБ – экспрессия  $\alpha$ SMA, эндоглина, CD73, CD146, а также Thy1, Msln, фибулина-2, эластина, гремлина-1, аспорина. D. Karin et al. [18] постулировали положение о том, что активированные портальные МФБ синтезируют фибриллы и протеины межклеточного матрикса в портальных трактах для холангиоцитов и пролиферирующих холангиол, в то время как активированные ПЗК синтезируют фибриллы и другие молекулы межклеточного матрикса для гепатоцитов печеночных долек.

Таким образом, результаты многочисленных ИГХ исследований печени, приведенные выше, показали, что классическим и наиболее надежным маркером активированных ПЗК (звездчатых МФБ) и портальных МФБ является экспрессия ими  $\alpha$ SMA. По данным выполненного нами ИГХ и ФЦММ анализа, у больных контрольной группы, не страдавших стеатогепатитом и фиброзом печени, единичные  $\alpha$ SMA+ ПЗК занимали в печеночных дольках небольшую площадь, медиана которой составила 1,16 (0,92; 1,54) % СПГСП. У больных контрольной группы малочисленные портальные  $\alpha$ SMA+ фибробласты занимали в портальных трактах печени также небольшую площадь, медиана которой составила 6,78 (5,99; 7,54) % СПГСП. Проведенные нами исследования показали, что по мере возрастания степени тяжести гепатофиброза от F1 до F4 в трепанобиоптатах печени больных стеатогепатитом не только увеличивалась площадь фиброза, но одновременно также возрастала площадь распространения  $\alpha$ SMA-позитивных фиброгенных клеток. У больных НАСГ с перисинусоидально-периперцеллюлярным фиброзом печени легкой F1 степени медиана площади  $\alpha$ SMA+ ПЗК составляла 8,39 (7,96; 9,40) % СПГСП, при перисинусоидально-периперцеллюлярном фиброзе умеренной F2 степени тяжести медиана площади  $\alpha$ SMA+ ПЗК составляла 11,40 (10,44; 12,42) % СПГСП, при тяжелой F3 степени фиброза она возрастала до 18,46 (17,53; 19,22) % СПГСП, а в группе F4 фиброз/цирроз печени перисинусоидального типа медиана площади  $\alpha$ SMA+ ПЗК достигала 19,79 (18,20; 21,07) % СПГСП (рис. 4). Таким образом, по мере прогрессирования степени тяжести перисинусоидально-периперцеллюлярного фиброза от F1 до F4 наблюдалось достоверное увеличение площади, занимаемой в дольках  $\alpha$ SMA+ ПЗК (значение критерия Краскела-Уоллиса  $H = 45,12$ ;  $p = 0,05$ ).

При умеренном F2 перисинусоидально-периперцеллюлярном фиброзе печени при ЭМ в перисинусоидальных пространствах долек печени между эндотелиальными клетками и гепатоцитами обнаруживаются пучки коллагеновых волокон, которые распространяются между гепатоцитами и окружают гепатоциты с жировой дистрофией.



При тяжелом F3 перисинусоидально-periцеллюлярном фиброзе печени при ИГХ исследованиях обнаруживается гиперплазия  $\alpha$ SMA+ ПЗК перисинусоидально-periцеллюлярной локализации (рис. 5), а также значительная экспрессия виментина (рис. 6) и фасцина (рис. 7) в ПЗК и в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-periцеллюлярном матриксе печеночных долек.

В гепатобиоптатах печени больных НАСГ при портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени легкой F1 степени медиана площади портальных МФБ и  $\alpha$ SMA+ ПЗК Z3 зон печеночных долек составляла 10,95 (10,09; 11,81) % СПГСП, при умеренной F2 степени – повышалась до 12,22 (11,41; 14,58) % СПГСП, при тяжелой F3 степени аналогичного фиброза печени – увеличивалась до 19,79 (18,44; 21,05) % СПГСП, а при крайне тяжелом F4 фиброзе/циррозе печени достигала 20,24 (18,64; 22,48) % СПГСП (рис. 8). Одновременно отмечалось увеличение площади экспрессии виментина и фасцина в клетках портальных трактов и перисинусоидальных пространствах Z3 зон печеночных долек. Эти данные свидетельствуют о том, что прогрессирование степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени от F1 до F4 у больных НАСГ происходит за счет активированных коллаген-продуцирующих портальных МФБ и ПЗК перипортальных Z3 зон печеночных долек, занимающих в этих структурах печени достоверно большую площадь (значение критерия Краскела–Уоллиса –  $N = 43,18$ ;  $p = 0,05$ ). Одновременно необходимо отметить отсутствие достоверной разницы между площадями, занимаемыми  $\alpha$ SMA-позитивными фиброгенными клетками при F1 и F2 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени. Это может свидетельствовать о том, что при возрастании тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза от F1 до F2 не происходит достоверного увеличения числа активированных  $\alpha$ SMA-позитивных клеток, а, вероятнее всего, имеет место усиление синтеза этими клетками коллагена и других молекул внеклеточного матрикса в зонах фиброза.

При умеренном F2 и тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени при ЭМ в портальных трактах регистрируется повышенное количество миофибробластов, между которыми локализованы пучки коллагеновых волокон и участки аморфного межклеточного матрикса средней электронной плотности (рис. 9).

В зонах перисинусоидально-periцеллюлярного и в Z3 зонах портально-перисинусоидального фиброза печени F2, F3, F4 степени тяжести определяется экспрессия фибронектина, который синтезируется гепатоцитами и связывается с проколлагеновыми фибриллами, изменяя их структуру в periцеллюлярном матриксе. Исследования фибронектина в культуре портальных фибробластов и звездчатых клеток крыс при экспериментальном фиброзе печени показали, что внеклеточный домен-A фибронектина усиливает подвижность звездчатых клеток и не влияет на их дифференцировку в миофибробласты [27].

Опубликованные нами результаты ИГХ и ФЦММ исследований [28] показали, что у больных неалкогольным стеатогепатитом по мере возрастания фиброза

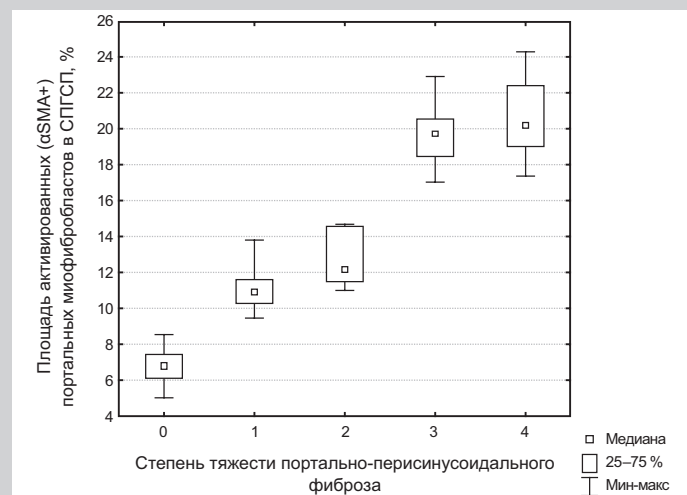


Рис. 8. Сравнение площади  $\alpha$ SMA+ портальных миофибробластов и перисинусоидальных  $\alpha$ SMA+ звездчатых клеток Z3 зон печеночных долек в % СПГСП при легком F1 перисинусоидально-Z3periцеллюлярном фиброзе, умеренном F2, тяжелом F3 и крайне тяжелом F4 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе/циррозе печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

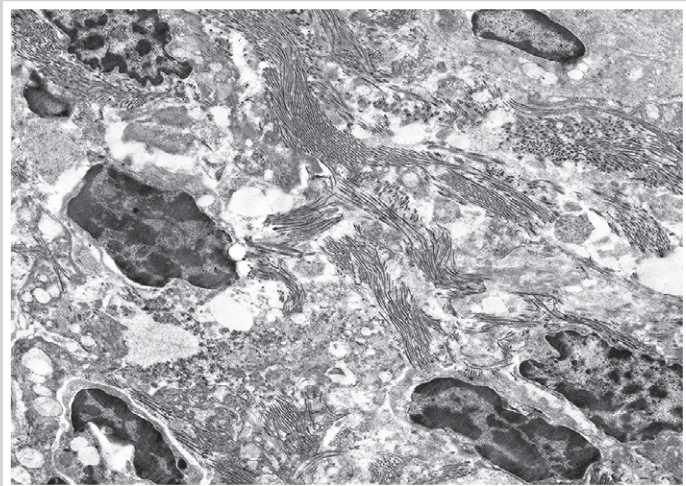


Рис. 9. Повышенное количество коллагеновых волокон и миофибробластов в портальном тракте при тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе при неалкогольном стеатогепатите. Ув.:  $\times 3200$ .

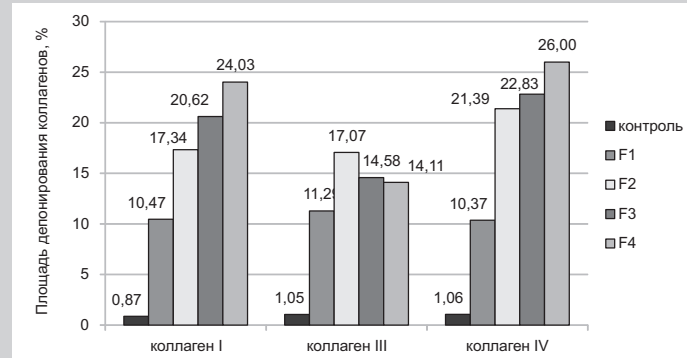


Рис. 10. Медиана площади депонирования коллагена I, III и IV типа в зависимости от степени тяжести перисинусоидально-periцеллюлярного фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

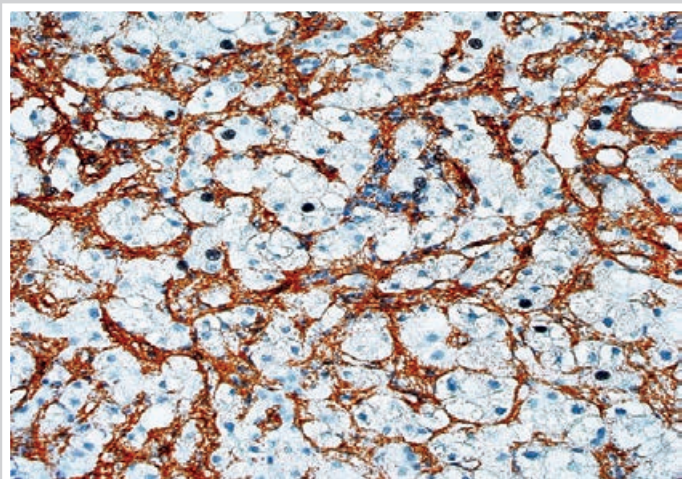


Рис. 11. Значительное депонирование коллагена IV типа при тяжелом F3 перисинусоидально-перицеллюлярном фиброзе печени у больного неалкогольным стеатогепатитом. Мо а-Hu Collagen type IV Ab-3, clone CIV 22 + PHM 12. Ув.: ×200.

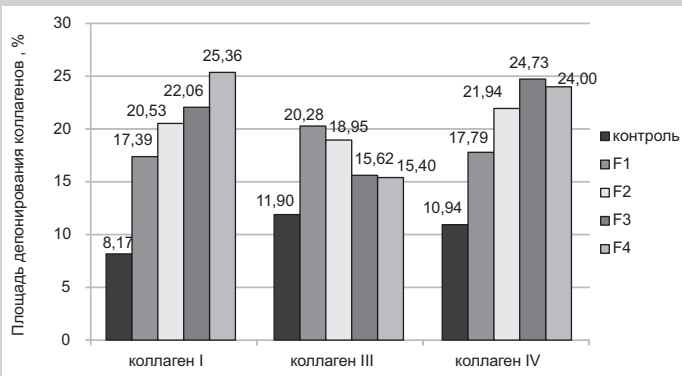


Рис. 12. Медиана площади депонирования коллагена I, III и IV типа в зависимости от степени тяжести портально-Z3перисинусоидального фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом.

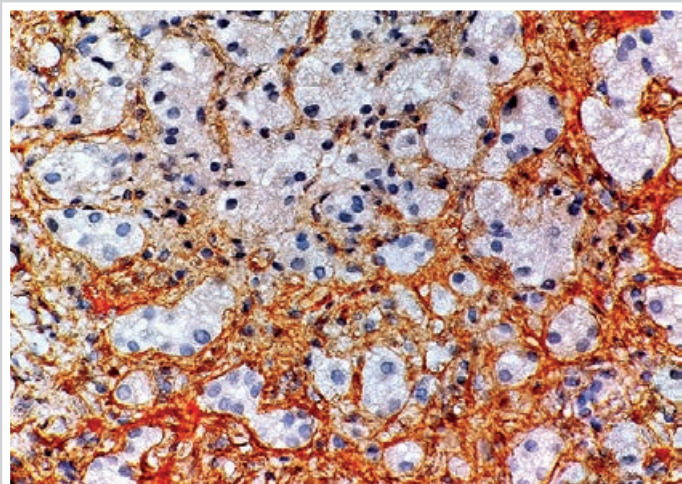


Рис. 13. Значительное депонирование коллагена IV типа в Z3 зоне печеночной дольки при тяжелом F3 портально-Z3перисинусоидальном фиброзе печени у больного алкогольным стеатогепатитом. Мо а-Hu Collagen type IV Ab-3, clone CIV 22 + PHM 12. Ув.: ×200.

печени от легкой F1 степени через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу печени, а также в зависимости от типа фиброза в печени статистически достоверно увеличиваются площади депонирования коллагена I, III и IV типа перисинусоидально-перицеллюлярной локализации или портально-Z3перисинусоидальной локализации (рис. 10).

При ИГХ исследовании значительное депонирование коллагена I, III и IV типа наблюдается в расширенном из-за фиброза перисинусоидально-перицеллюлярном матриксе печеночных долек (рис. 11).

У больных НАСГ при F4 фиброзе/циррозе печени перицеллюлярного типа депонирование коллагена I и IV типа достигает максимума, при этом площадь депонирования фибриллярного коллагена I типа более чем на 50 % превышает площадь депонирования фибриллярного коллагена III типа.

По мере прогрессирования портально-Z3перисинусоидального фиброза от слабого (F1), к умеренному (F2) и тяжелому (F3) в зонах фиброза печени возрастает депонирование коллагена I и IV типа, площадь которых более чем в 2 раза превышает нормальные величины; при этом возрастание отложения коллагена III типа замедляется, оставаясь на 30 % повышенным в сравнении с нормальными величинами [28] (рис. 12).

При F4 фиброзе/циррозе печени портально- Z3перисинусоидального типа площадь депонирования коллагена I типа также достигает максимума, в то время как площадь депонирования коллагена III и IV типа стабилизируется на уровне тяжелого F3 фиброза печени (рис. 12). При ИГХ исследовании обнаруживается значительное депонирование коллагена I, III и IV типа в расширенных портальных трактах и в перипортальных Z3 зонах печеночных долек (рис. 13).

Чем же объяснить доминирование перицеллюлярного компонента в перисинусоидально-перицеллюлярном фиброзе печени при НАСГ и АСГ, отличающего его от фиброза печени при вирусном гепатите? При сравнительном ИГХ анализе фиброза печени у больных ХВГС и ХВГВ, а также фиброза печени у больных НАСГ и АСГ выяснено, что фиброз печени у больных НАСГ и АСГ отличается более значительная активация и значительно большее число активированных CD-68 позитивных макрофагов, накапливающихся в локусах максимально выраженного стеатоза, баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов (рис. 14А). Отростки активированных макрофагов охватывают гепатоциты, распадающиеся путем некроптоза и баллонного стеатонекроза. При стеатогепатите в дольках печени появляется множество S100 (клон А4) позитивных макрофагов (рис. 14Б), которые, по данным L Chen et al. [29], секретируют белок S100A4, активирующий ПЗК печени. Эти активирующие макрофаги, скорее всего, не соответствуют ни типу M1, ни типу M2 поляризации макрофагов в классификации P. J. Murray et al. [30]. Сведения о наличии широкого спектра активированных макрофагов, которые не соответствуют ни типу M1, ни типу M2, освещены также другими авторами [31].

Сравнительный анализ морфогенеза фиброза печени при вирусном гепатите и при НАСГ и АСГ убеж-



дает в том, что в развитии фиброза печени при вирусном гепатите ведущую роль играет иммуноклеточная деструкция гепатоцитов и активация фиброгенных клеток цитокинами лимфоцитов. Прогрессирующий перисинусоидально-periцеллюлярный фиброз печени у больных стеатогепатитом отличается от прогрессирующего центрлобулярно-перисинусоидального фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом, описанного нами ранее [32], прежде всего динамичным возрастанием взаимосвязанного перисинусоидального и periцеллюлярного фиброза, а также отсутствием нарастания линейно-радиального перисинусоидального фиброза и циркулярного фиброза вокруг центрлобулярных вен. При НАСГ и АСГ, в дополнение к активации профиброгенных ПЗК и портальных МФБ, активными радикалами кислорода и продуктами пероксидации липидов, выделяемыми в межклеточное пространство гепатоцитами при оксидативном стрессе, стрессе эндоплазматической сети, а также при некроптозе и некрозе гепатоцитов [5], важнейшую роль играет экзосомальное привлечение макрофагов в зоны баллонного лизиса и некроптоза гепатоцитов [33,34], а также локальная экзосомально-цитокиновая активация перисинусоидальных звездчатых клеток.

Р. Hirsova et al. [35] обратили внимание на то, что при стеатогепатите гепатоциты и макрофаги могут взаимодействовать через внеклеточные везикулы, высвобождаемые гепатоцитами и активирующими макрофаги к продукции провоспалительных цитокинов.

Окаймленные мембраной внеклеточные везикулы служат в качестве челноков для мембранной и цитозольной взаимосвязи между клетками, они могут либо отшнуровываться от плазматической мембраны (микропузырьки), либо образовываться внутриклеточно в виде мультивезикулярной эндосомы, которая затем секретируется из клетки (экзосомы) [34]. Экзосомы содержат ферменты, белки мембранного транспорта, белки теплового шока (HSP60, HSP70, HSP90), белки главного комплекса гистосовместимости, сигнальные Wnt-белки, аннексины, антиапоптотические и ростовые факторы, цитокины, ДНК, матричные РНК, микроРНК, влияющие на экспрессию генов в клетках-мишенях, а также липиды, участвующие в реорганизации клеточ-

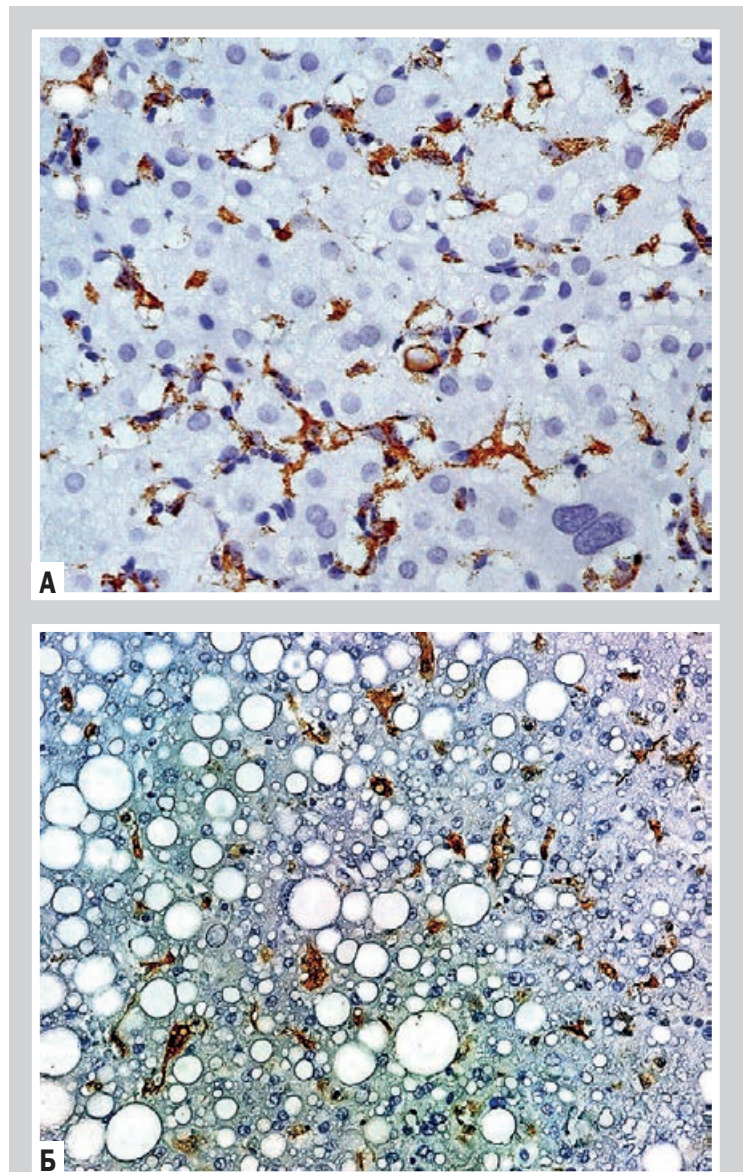


Рис. 14 (А, Б). А. Большое число активированных CD-68 позитивных макрофагов в зонах максимально выраженного стеатоза гепатоцитов у больного неалкогольным стеатогепатитом. Б. S100 (клон А4) позитивные макрофаги в дольке печени больного неалкогольным стеатогепатитом. А: *Mo a-Hu CD68, Clone PG-M1*. Б: *Rb a-Hu S100, Clone A4*. Ув. А:  $\times 400$ , Б:  $\times 200$ .

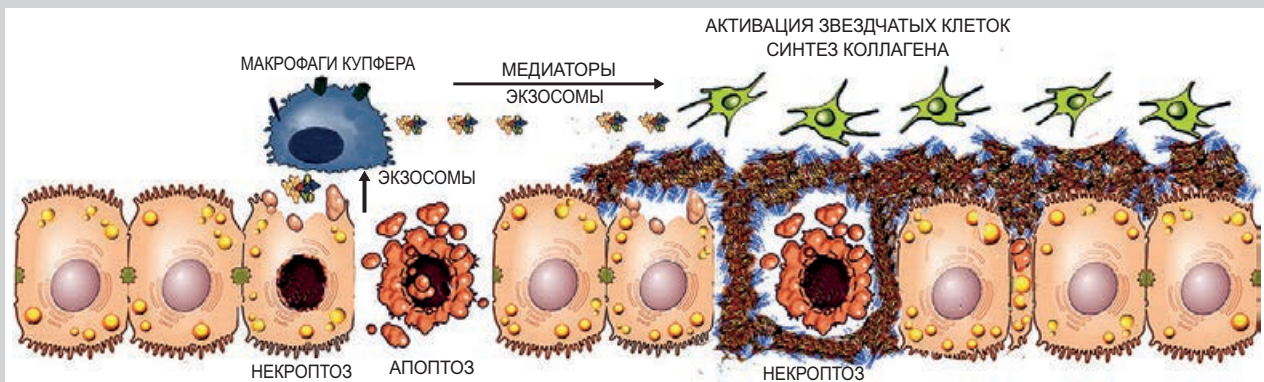


Рис. 15. Схема экзосомального привлечения макрофагов в локусы баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокиновой активации перисинусоидальных звездчатых клеток при алкогольном и неалкогольным стеатогепатите. Элементы графики из статьи М. А. Barnes et al. [47].

ных мембран и липиды-носители микроРНК [36]. При НАСГ и АСГ экзосомы освобождают в межклеточный сектор печени гепатоциты и макрофаги, а также в кровь – моноциты [37,38].

Экзосомы захватывают эндоцитозом различные типы клеток печени: макрофаги Купфера, моноцитарные макрофаги и перисинусоидальные звездчатые клетки [36]. Макрофаги Купфера (резидентные печеночные макрофаги) продуцируют реакционно-способные виды кислорода, провоспалительный туморонекротический фактор  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и макрофагальный воспалительный белок MIP-1, интерлейкины (IL-1 $\beta$ , IL-6), а также профиброгенный TGF- $\beta$ , под влиянием которых звездчатые клетки печени приобретают фиброгенный фенотип миофибробластов [2,5,39]. Одновременно с этим экзосомы опосредуют перенос между перисинусоидальными звездчатыми клетками фактора роста соединительной ткани (CCN2) [40] и микроРНК [41], которая вызывает эпигенетическую модуляцию синтеза звездчатыми клетками этого фактора роста соединительной ткани [42].

Макрофаги Купфера стимулируют фиброгенез не только путем активации звездчатых клеток печени, но и путем активации притока в печень (через цистеин-цистеиновые хемокиноподобные лиганды 2 и 5 (CCL2 и CCL5)) костномозговых моноцитов, которые в зависимости от молекулярно-клеточного микроокружения дифференцируются в моноцитарные провоспалительно-профиброгенные макрофаги Ly6C<sup>high</sup>, участвующие в прогрессии фиброза, или в противовоспалительно-фибролитические макрофаги Ly6C<sup>low</sup>, участвующие в разрешении фиброза печени [43–45].

Таким образом, значительное увеличение числа активированных CD-68 позитивных макрофагов в очагах интенсивного стеатоза гепатоцитов и появление S100 (A4) позитивных макрофагов, которые активируют звездчатые клетки, а также данные других исследователей дают основание полагать, что феномен перичеллюлярности фиброза печени при НАСГ и АСГ обусловлен экзосомальным привлечением макрофагов в зоны баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, а также локальной экзосомально-цитокинной активацией ПЗК фиброгенного типа (*рис. 15*).

Феномен перичеллюлярности отличает оба типа фиброза печени у больных НАСГ и АСГ от фиброза печени у больных ХВГС и ХВГВ, для которых характерен перисинусоидально-центролобулярный или портально-септальный фиброз печени [32,46].

## Выводы

1. У больных НАСГ и АСГ может развиваться и прогрессировать один из двух основных типов фиброза печени: перисинусоидально-перичеллюлярный и портально-ЗЗперисинусоидальный фиброз, источником развития которых являются новые поколения  $\alpha$ SMA+ звездчатых клеток и  $\alpha$ SMA+ портальных миофибробластов. О фиброгенном иммунофенотипе этих клеток свидетельствует коэкспрессия ими  $\alpha$ -изоформы гладкомышечного актина ( $\alpha$ SMA), фасцина, виментина и отсутствие экспрессии десмина.

2. По мере прогрессирования перисинусоидально-перичеллюлярного фиброза от легкой F1 степени, через среднюю F2 степень тяжести к тяжелому F3 фиброзу и к крайне тяжелому F4 фиброзу/циррозу перичеллюлярного типа в печени статистически достоверно возрастает площадь Мэсон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнутого матрикса (значение критерия Краскела-Уоллиса –  $N = 88,70$ ;  $p = 0,05$ ) и площадь  $\alpha$ SMA+ коллаген-продуцирующих звездчатых клеток перисинусоидально-перичеллюлярной локализации (значение критерия Краскела-Уоллиса –  $N = 45,12$ ;  $p = 0,05$ ).

3. По данным фотоцифровой морфометрии, при возрастании степени тяжести портально-ЗЗперисинусоидального фиброза печени от F1 к F4 в зонах фиброза статистически достоверно возрастает площадь Мэсон-позитивного внеклеточного молекулярно-волокнутого матрикса (значение критерия Краскела-Уоллиса –  $N = 76,56$ ;  $p = 0,05$ ), а также площадь активированных  $\alpha$ SMA+ коллаген-продуцирующих портальных миофибробластов и перисинусоидальных звездчатых клеток ЗЗ зон печеночных долек (значение критерия Краскела-Уоллиса –  $N = 43,18$ ;  $p = 0,05$ ).

4. В феномене перичеллюлярности фиброза печени у больных неалкогольным и алкогольным стеатогепатитом важную роль играют CD68+ и S100+ макрофаги в локусах максимального стеатоза, баллонного стеатонекроза и некроптоза гепатоцитов, локально активирующие перисинусоидальные звездчатые клетки фиброгенного типа.

## Список литературы

- [1] Степанов Ю.М. Стеатоз і стеатогепатит – тригери печінкового фіброгенезу? / Ю.М. Степанов, О.Ю. Філіппова // Гастроентерологія. – 2013. – №2(48). – С. 97–106.
- [2] Hepatic fibrosis: Concept to treatment / Ch. Trautwein, S.L. Friedman, D. Schuppan et al. // J Hepatol. – 2015. – Vol. 62. – Suppl.1. – P. 15–24.
- [3] Schuppan D. Liver fibrosis: common mechanisms and antifibrotic therapies / D. Schuppan // Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 39. – Suppl.1. – P. 51–59.
- [4] Caligiuri A. Molecular Pathogenesis of NASH / A. Caligiuri, A. Gentilini, F. Marra // Int J Mol Sci. – 2016. – Vol. 17(1575). – P. 1–32.
- [5] Takaki A. Molecular mechanisms and new treatment strategies for nonalcoholic steatohepatitis (NASH) / A. Takaki, D. Kawai, K. Yamamoto // Int J Mol Sci. – 2014. – Vol. 15. – P. 7352–7379.
- [6] Pathophysiology and management of alcoholic liver disease: update 2016 / F. Stickel, C. Datz, J. Hampe et al. // Gut Liver. – 2017. – Vol. 11(2). – P. 173–188.
- [7] Intestinal permeability in non-alcoholic fatty liver disease: the gut-liver axis / E. Scarpellini, M. Luppo, C. Iegri et al. // Rev Recent Clin Trials. – 2014. – Vol. 9. – P. 141–147.
- [8] Fukui H. Gut Microbiota and host reaction in liver diseases / H. Fukui // Microorganisms. – 2015. – Vol. 3(4). – P. 759–791.
- [9] Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis / T. Kisseleva, H. Uchinami, N. Feirt et al. // J. Hepatol. – 2006. – Vol. 45(3). – P. 429–438.
- [10] Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions / E.M. Brunt, C.G. Janney, A.M. di Bisceglie et al. // Am J Gastroenterol. – 1999. – Vol. 94. – P. 2467–2474.
- [11] Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D.E. Kleiner, E.M. Brunt, M. Van Natta et al. // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 1313–1321.
- [12] The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis / S.U. Kim, H.J. Oh, I.R. Wanless et al. // J Hepatol. – 2012. – Vol. 57(3). – P. 556–563.
- [13] EASL-ALEH Clinical practice guidelines: non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis / L. Castera, H.L. Yuen Chan, M. Arrese, et al. // J Hepatol. – 2015. – Vol. 63(1). – P. 237–264.



- [14] The diagnosis and management of non-alcoholic liver disease: practice guidelines by the American association for the study of liver diseases, American college of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association / N. Chalaszi, Z. Younossi, J.E. Lavine, A.M. Diehl et al. // *Am J Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 7(6). – P. 811–826.
- [15] Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings / E.M. Brunt, D.E. Kleiner, L.A. Wilson et al. // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 53. – P. 810–820.
- [16] Origins and functions of liver myofibroblasts / S. Lemoine, A. Cadoret, H. el Mourabit et al. // *BBA.* – 2013. – Vol. 1832(7). – P. 948–954.
- [17] Lepreux S. Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts / S. Lepreux, A. Desmoulière // *Front Physiol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 173.
- [18] The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis / D. Karin, Yu. Koyama, D. Brenner et al. // *Dif.* – 2016. – Vol. 92. – Issue 3. – P. 84–92.
- [19] Fausther M. Contribution of myofibroblasts of different origins to liver fibrosis / M. Fausther, E.G. Lavoie, J.A. Dranoff // *Curr Pathobiol Rep.* – 2013. – Vol. 1(3). – P. 225–230.
- [20] The types of hepatic myofibroblasts contributing to liver fibrosis of different etiologies / J. Xu, X. Liu, Y. Koyama et al. // *Front Pharmacol.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 167.
- [21] Reversibility of liver fibrosis and inactivation of fibrogenic myofibroblasts / X. Liu, J. Xu, D.A. Brenner et al. // *Curr. Pathobiol. Rep.* – 2013. – Vol. 1. – P. 209–214.
- [22] Dranoff J.A. Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis / J.A. Dranoff, R.G. Wells // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51(4). – P. 1438–1444.
- [23] Wells R.G. The portal fibroblast— not just a poor man's stellate cell / R.G. Wells // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 147(1). – P. 41–47.
- [24] Distinct proteomic features of two fibrogenic liver cell populations: hepatic stellate cells and portal myofibroblasts / N. Bosselut, C. Housset, P. Marcello et al. // *Proteomics.* – 2010. – Vol. 10(5). – P. 1017–1028.
- [25] Comparative proteomic analysis of rat hepatic stellate cell activation: a comprehensive view and suppressed immune response / J. Ji, F. Yu, Q. Ji, et al. // *Hepatology.* – 2012. – Vol. 56(1). – P. 332–349.
- [26] Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury / M. Perepelyuk, M. Terajima, A.Y. Wang et al. // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2013. – Vol. 304(6). – P. 605–614.
- [27] Fibronectin extra domain-A promotes hepatic stellate cell motility but not differentiation into myofibroblasts / A.L. Olsen, B.K. Sackey, C. Marcinkiewicz et al. // *Gastroenterology.* – 2012. – Vol. 142(4). – P. 928–937.
- [28] Фень С.В. Иммуногистохимическая характеристика депонирования коллагена I, III, IV типа в динамике прогрессирования основных типов фиброза печени у больных неалкогольным стеатогепатитом / С.В. Фень // *Морфология.* – 2017. – Т. 11. – №3. – С. 29–38.
- [29] S100A4 promotes liver fibrosis via activation of hepatic stellate cells / L. Chen, J. Li, J. Zhang, et al. // *J Hepatol.* – 2015. – Vol. 62(1). – P. 156–164.
- [30] Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines / P.J. Murray, J.E. Allen, S.K. Biswas et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41(1). – P. 14–20.
- [31] Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation / J. Xue, S.V. Schmidt, J. Sander et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 40(2). – P. 274–288.
- [32] Туманский В.А. Перисинусоидально-цетрлобулярный фиброз печени: особенности морфогенеза и параметры прогрессии / В.А. Туманский, Ю.А. Шебеко // *Патология.* – 2012. – №3. – С. 59–64.
- [33] Szabo G. Inflammasome activation and function in liver disease / G. Szabo, J. Petrasek // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2015. – Vol. 12. – P. 387–400.
- [34] Schattenberg J.M. Extracellular vesicles as messengers between hepatocytes and macrophages in nonalcoholic steatohepatitis / J.M. Schattenberg, M.S. Lee // *Gastroenterology.* – 2016. – Vol. 150(4). – P. 815–818.
- [35] Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes / P. Hirsova, S.H. Ibrahim, A. Krishnan et al. // *Gastroenterology.* – 2016. – Vol. 150. – P. 956–967.
- [36] Exosomes in liver pathology / K. Sato, F. Meng, S. Glaser et al. // *J Hepatol.* – 2016. – Vol. 65(1). – P. 213–221.
- [37] Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis / F. Momen-Heravi, B. Saha, K. Kodys, et al. // *J Transl Med.* – 2015. – Vol. 13(261). – P. 1–13.
- [38] Alcohol stimulates macrophage activation through caspase dependent hepatocyte derived release of CD40L containing extracellular vesicles / V.K. Verma, H. Li, R. Wang, et al. // *J Hepatol.* – 2016. – Vol. 64. – P. 651–660.
- [39] Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice / J.P. Pradere, J. Kluge, S. De Minicis, et al. // *Hepatology.* – 2013. – Vol. 58(4). – P. 1461–1473.
- [40] Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver / A. Charrier, R. Chen, L. Chen, et al. // *Surgery.* – 2014. – Vol. 156. – P. 548–555.
- [41] Chen L. Integrins and heparan sulfate proteoglycans on hepatic stellate cells (HSC) are novel receptors for HSC-derived exosomes / L. Chen, D.R. Brigstock // *FEBS Lett.* – 2016. – Vol. 590(23). – P. 4263–4274.
- [42] Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by microRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells / L. Chen, A. Charrier, Y. Zhou, et al. // *Hepatology.* – 2014. – Vol. 59. – P. 1118–1129.
- [43] Marra F. Roles for chemokines in liver disease / F. Marra, F. Tacke // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 147. – P. 577–594.
- [44] Tacke F. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis / F. Tacke, H.W. Zimmermann // *J Hepatol.* – 2014. – Vol. 60. – P. 1090–1096.
- [45] Hepatitis C virus-induced CCL5 secretion from macrophages activates hepatic stellate cells / R. Sasaki, P.B. Devhare, R. Steele et al. // *Hepatology.* – 2017. – Vol. 66(3). – P. 746–757.
- [46] Гаврилюк А.О. Гістологічні і імуністохімічні ознаки ймовірного прогресування фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит В, С і В+С / А.О. Гаврилюк // *Світ медицини та біології.* – 2012. – №3. – С. 25–29.
- [47] Barnes M.A. Innate immunity and cell death in alcoholic liver disease: Role of cytochrome P4502E1 / M.A. Barnes, S. Roychowdhury, L.E. Nagy // *Redox Biology.* – 2014. – Vol. 2. – P. 929–993.

## References

- [1] Stepanov, Yu. M., & Filippova, O. Yu. (2013) Steatoz i steatohepatyt – tryhery pechinkovoho fibrohenezu? [Are steatosis and steatohepatitis triggers of hepatic fibrogenesis?]. *Hastroenterolohiia*, 2(48), 97–106. [in Ukrainian].
- [2] Trautwein, Ch., Friedman, S. L., Schuppan, D., & Pinzani, M. (2015) Hepatic fibrosis: Concept to treatment. *J Hepatol.* 62(1), 15–24. doi: 10.1016/j.jhep.2015.02.039.
- [3] Schuppan, D. (2015) Liver fibrosis: common mechanisms and antifibrotic therapies. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 39(1), 51–59. doi: 10.1016/j.clinre.2015.05.005.
- [4] Caligiuri, A., Gentilini, A., & Marra, F. (2016) Molecular Pathogenesis of NASH. *Int J Mol Sci*, 17(1575), 1–32. doi: 10.3390/ijms17091575.
- [5] Takaki, A., Kawai, D., & Yamamoto, K. (2014) Molecular mechanisms and new treatment strategies for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*, 15, 7352–7379. doi: 10.3390/ijms15057352.
- [6] Stickel, F., Datz, C., Hampe, J., & Bataller, R. (2017) Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver*, 11(2), 173–188. doi: 10.5009/gnl16477.
- [7] Scarpellini, E., Lupo, M., Iegri, C., Gasbarrini, A., De Santis, A., & Tack, J. (2014) Intestinal permeability in non-alcoholic fatty liver disease: the gut-liver axis. *Rev Recent Clin Trials*, 9, 141–147. doi: 10.2174/1574887109666141216104334.
- [8] Fukui, H. (2015) Gut Microbiota and Host Reaction in Liver Diseases. *Microorganism*, 3(4), 759–791. doi: 10.3390/microorganisms3040759.
- [9] Kisseleva, T., Uchinami, H., Feirt, N., Quintana-Bustamante, O., Segovia, J. C., Schwabe, R.F., & Brenner, D. A. (2006) Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol*, 45(3), 429–438. doi: 10.1016/j.jhep.2006.04.014.
- [10] Brunt, E. M., Janney, C. G., Di Bisceglie, A. M., Neuschwander-Tetri, B. A., & Bacon, B. R. (1999) Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 94, 2467–2474. doi: 10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x.
- [11] Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., et al. (2005) Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 41, 1313–1321. doi: 10.1002/hep.20701.
- [12] Kim, S. U., Oh, H. J., Wanless, I. R., Lee, S., Han, K. -H., & Park, Y. N. (2012) The Laennec staging system for histological sub-classification of cirrhosis is useful for stratification of prognosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*, 57(3), 556–563. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.029.
- [13] Castera, L., Yuen Chan, H. L., Arrese, M., Afdhal, N., Bedossa, P., Friedrich-Rust, M., et al. (2015) EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*, 63(1), 237–264. doi: 10.1016/j.jhep.2015.04.006.
- [14] Chalaszi, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., et al. (2012) The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Liver Disease: Practice Guidelines by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol*, 7(6), 811–826. doi: 10.1038/ajg.2012.128.
- [15] Brunt, E. M., Kleiner, D. E., Wilson, L. A., Belt, P., & Neuschwander-Tetri, B. A. (2011) Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*, 53, 810–820. doi: 10.1002/hep.24127.

- [16] Lemoine, S., Cadoret, A., El Mourabit, H., Thabut, D., & Housset, Ch. (2013) Origins and functions of liver myofibroblasts. *BBA*, 1832(7), 948–954. doi: 10.1016/j.bbdis.2013.02.019.
- [17] Lepreux, S., & Desmoulière, A. (2015) Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts. *Front Physiol*, 6, 173. doi: 10.3389/fphys.2015.00173.
- [18] Karin, D., Koyama, Yu, Brenner, D., & Kisseleva, T. (2016) The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis. *Differentiation*, 92(3), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2016.07.001>.
- [19] Fausther, M., Lavoie, E. G., & Dranoff, J. A. (2013) Contribution of Myofibroblasts of Different Origins to Liver Fibrosis. *Curr Pathobiol Rep*, 1(3), 225–230. doi: 10.1007/s40139-013-0020-0.
- [20] Xu, J., Liu, X., Koyama, Y., Wang, P., Lan, T., Kim, I-G., et al. (2014) The types of hepatic myofibroblasts contributing to liver fibrosis of different etiologies. *Front Pharmacol*, 5, 167. doi: 10.3389/fphar.2014.00167.
- [21] Liu, X., Xu, J., Brenner, D. A., & Kisseleva, T. (2013) Reversibility of Liver Fibrosis and Inactivation of Fibrogenic Myofibroblasts. *Curr Pathobiol Rep*, 1, 209–214. doi: 10.1007/s40139-013-0018-7.
- [22] Dranoff, J. A., & Wells, R. G. (2010) Portal fibroblasts: Underappreciated mediators of biliary fibrosis. *Hepatology*, 51(4), 1438–1444. doi: 10.1002/hep.23405.
- [23] Wells, R. G. (2014) The Portal Fibroblast – Not Just a Poor Man's Stellate Cell. *Gastroenterology*, 147(1), 41–47. doi: 10.1053/j.gastro.2014.05.001.
- [24] Bosselut, N., Housset, C., Marcello, P., Rey, C., Burmester, T., Vinh, J., et al. (2010) Distinct proteomic features of two fibrogenic liver cell populations: hepatic stellate cells and portal myofibroblasts. *Proteomics*, 10(5), 1017–1028. doi: 10.1002/pmic.200900257.
- [25] Ji, J., Yu, F., Ji, Q., Li, Z., Wang, K., Zhang, J., et al. (2012) Comparative proteomic analysis of rat hepatic stellate cell activation: a comprehensive view and suppressed immune response. *Hepatology*, 56(1), 332–349. doi: 10.1002/hep.25650.
- [26] Perepelyuk, M., Terajima, M., Wang, A. Y., Georges, P. C., Janmey, P. A., Yamauchi, M., & Wells, R. G. (2013) Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304(6), 605–614. doi: 10.1152/ajpgi.00222.2012.
- [27] Olsen, A. L., Sackey, B. K., Marcinkiewicz, C., Boettiger, D., & Wells, R. G. (2012) Fibronectin extra domain-A promotes hepatic stellate cell motility but not differentiation into myofibroblasts. *Gastroenterology*, 142(4), 928–937. e3. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.038.
- [28] Fen', S. V. (2017) Immunogistokhimicheskaya kharakteristika deponirovaniya kollagena I, III, IV tipa v dinamike progressirovaniya osnovnykh tipov fibroza pecheni u bol'nykh nealkogol'nym steatogepatitisom [Immunohistochemical characteristics of collagen I, III, IV type deposition in the dynamics of progressing of the basic types of liver fibrosis in patients with non-alcohol steatohepatitis]. *Morphologiya*, 11(3), 29–38. [in Russian].
- [29] Chen, L., Li, J., Zhang, J., Dai, C., Liu, X., Wang, J., et al. (2015) S100A4 promotes liver fibrosis via activation of hepatic stellate cells. *J Hepatol*, 62(1), 156–164. doi: 10.1016/j.jhep.2014.07.035.
- [30] Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., et al. (2014) Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41(1), 14–20. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
- [31] Xue, J., Schmidt, S. V., Sander, J., Draffehn, A., Krebs, W., Quester, I., et al. (2014) Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation. *Immunity*, 40(2), 274–288. doi: 10.1016/j.immuni.2014.01.006.
- [32] Tumansky, V. A., & Shebeko, Yu. A. (2012) Perisinusoidal/centrolobuljarnyj fibroz pecheni: osobennosti morfogeneza i parametry progressii [Perisinusoidal-centrolobular liver fibrosis: features of morphogenesis and progression parameters]. *Pathologia*, 3, 59–64. [in Russian].
- [33] Szabo, G., & Petrasek, J. (2015) Inflammation activation and function in liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 12, 387–400. doi: 10.1038/nrgastro.2015.94.
- [34] Schattenberg, J. M., & Lee, M. S. (2016) Extracellular Vesicles as Messengers Between Hepatocytes and Macrophages in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*, 150(4), 815–818. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.064>.
- [35] Hirsova, P., Ibrahim, S. H., Krishnan, A., Verma, V. K., Bronk, S. F., Werneburg, N. W., et al. (2016) Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes. *Gastroenterology*, 150, 956–967. doi: 10.1053/j.gastro.2015.12.037.
- [36] Sato, K., Meng, F., Glaser, S., & Alpini, G. (2016) Exosomes in liver pathology. *J Hepatol*, 65(1), 213–221. doi: 10.1016/j.jhep.2016.03.004.
- [37] Momen-Heravi, F., Saha, B., Kody, K., Catalano, D., Satishchandra, A., & Szabo, G. (2015) Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis. *J Transl Med*, 13(261), 1–13. doi: 10.1186/s12967-015-0623-9.
- [38] Verma, V. K., Li, H., Wang, R., Hirsova, P., Mushref, M., Liu, Y., et al. (2016) Alcohol stimulates macrophage activation through caspase dependent hepatocyte derived release of CD40L containing extracellular vesicles. *J Hepatol*, 64, 651–660. doi: 10.1016/j.jhep.2015.11.020.
- [39] Pradere, J. P., Kluwe, J., De Minicis, S., Jiao, J. J., Gwak, G. Y., Dapito, D. H., et al. (2013) Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice. *Hepatology*, 58(4), 1461–1473. doi: 10.1002/hep.26429.
- [40] Charrier, A., Chen, R., Chen, L., Kemper, S., Hattori, T., Takigawa, M., & Brigstock, D. R. (2014) Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver. *Surgery*, 156, 548–555. doi: 10.1016/j.surg.2014.04.014.
- [41] Chen, L., & Brigstock, D. R. (2016) Integrins and heparan sulfate proteoglycans on hepatic stellate cells (HSC) are novel receptors for HSC-derived exosomes. *FEBS Lett*, 590(23), 4263–4274. doi: 10.1002/1873-3468.12448.
- [42] Chen, L., Charrier, A., Zhou, Y., Chen, R., Yu, B., Agarwal, K., et al. (2014) Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by microRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells. *Hepatology*, 59, 1118–1129. doi: 10.1002/hep.26768.
- [43] Marra, F., & Tacke, F. (2014) Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology*, 147, 577–594. doi: 10.1053/j.gastro.2014.06.043.
- [44] Tacke, F., & Zimmermann, H. W. (2014) Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol*, 60, 1090–1096. doi: 10.1016/j.jhep.2013.12.025.
- [45] Sasaki, R., Devhare, P. B., Steele, R., Ray, R., & Ray, R. B. (2017) Hepatitis C virus-induced CCL5 secretion from macrophages activates hepatic stellate cells. *Hepatology*, 66(3), 746–757. doi: 10.1002/hep.29170.
- [46] Havryliuk, A. O. (2012) Histoholichni i imunohistohimichni oznaki ymovirnogo prohresuvannia fibrozu pechinky u khvorykh na khronichnyi virusnyi hepatyt B, C i B+C [Histologic and immunohistochemical signs of probable progression of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B, C and B + C]. *Svit medytsyny ta biologii*, 3, 25–29. [in Ukrainian].
- [47] Barnes, M. A., Roychowdhury, S., & Nagy, L. E. (2014) Innate immunity and cell death in alcoholic liver disease: Role of cytochrome P450E1. *Redox Biology*, 2, 929–993. doi.org/10.1016/j.redox.2014.07.007.

**Сведения об авторах:**

Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, директор Института клинической патологии человека, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Фень С. В., аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Відомості про авторів:**

Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, директор Інституту клінічної патології людини, заслужений діяч науки і техніки України.

Фень С. В., аспірант каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Information about authors:**

Tumansky V. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Director of Human Clinical Pathology Institute, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Fen' S. V., Postgraduate Student, Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 05.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 23.10.2017



## Особливості оцінювання геометрії лівого шлуночка у хворих на артеріальну гіпертензію

В. В. Сиволап, Є. В. Новіков, В. А. Лисенко, А. О. Богун

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Мета роботи** – порівняти вплив способів розрахунку ММЛШ за Penn Convention та ASE на розподіл типів геометрії лівого шлуночка у хворих на гіпертонічну хворобу, з'ясувати додаткові ехографічні критерії, що дадуть можливість нівелювати розбіжності оцінювання типів геометрії.

**Матеріали та методи.** До дослідження залучили 100 хворих на гіпертонічну хворобу II ступеня, II стадії, віком від 18 до 79 років (середній вік –  $54,71 \pm 13,93$  року, 44 % чоловіків). Ехокардіографія виконувалась на апараті Esaote MyLab Seven (Італія) за загальноприйнятими правилами. Розподіл за типами геометрії лівого шлуночка здійснили згідно з рекомендаціями з кількісного оцінювання структури та функції лівого шлуночка. При нормальному ІММЛШ основними типами геометрії були: нормальна геометрія та концентричне ремоделювання; при підвищеному – концентрична та ексцентрична ГЛШ. Додатково всім хворим проводили в імпульсно-хвильовому та постійно-хвильовому режимі доплерографію транскапальних потоків і визначали швидкості руху фіброзних кілець мітрального та трикуспідального клапанів. Статистичне опрацювання матеріалу здійснювали з застосуванням пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, США) та Analyse-it for Microsoft Excel 4.80.1 (Analyse-it Software, Ltd.). Використовували *t*-критерій Стюдента, критерій Манна–Уїтні, Краскала–Уолліса,  $\chi^2$ . ROC-аналіз застосовували для визначення критичних значень (cut-off value) кількісних показників. Вірогідність відмінностей вважали на рівні  $p < 0,05$ .

**Результати.** При використанні формули ASE нормальна геометрія лівого шлуночка визначалась вірогідно частіше (43 % проти 26 %,  $p = 0,0122$ ), ніж при розрахунку за формулою Penn Convention. Концентричне ремоделювання також вірогідно переважало при підрахунку за методом ASE (13 % проти 5 %,  $p = 0,0495$ ). При підрахунку за методом Penn Convention кількість випадків ексцентричної гіпертрофії була вірогідно більшою (44 % проти 27 %,  $p = 0,0128$ ), ніж при застосуванні формули ASE. Використання додаткового ехографічного критерію – швидкості раннього руху медіального фіброзного кільця МК  $< 8$  см/с дає можливість отримати однаковий відсотковий поділ хворих на ГХ за типами геометрії ЛШ незалежно від використаної формули підрахунку ММЛШ (ASE або Penn Convention).

**Висновки.** Формула розрахунку ІММЛШ Penn Convention переоцінює ступінь патологічних змін міокарда у хворих на артеріальну гіпертензію переважно внаслідок збільшення питомої ваги випадків ексцентричної гіпертрофії, тоді як формула розрахунку ІММЛШ за ASE збільшує кількість хворих на ГХ із нормальною геометрією ЛШ. Виявлено зворотний кореляційний зв'язок між масою міокарда ЛШ і швидкістю раннього руху медіального фіброзного кільця МК ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,004$ ). Врахування додаткового критерію швидкості раннього руху медіального фіброзного кільця МК  $< 8$  см/с повністю нівелює похибку при розподілі типів геометрії, що виникає при використанні тільки двох критеріїв – BTC та індексу ММЛШ, що розрахована за будь-якою формулою (ASE або Penn Convention).

**Ключові слова:**  
ехокардіографія,  
гіпертонічна  
хвороба,  
ремоделювання  
лівого шлуночка.

**Патологія.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 257–262

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118306

**E-mail:**  
vitaliysyvolap@  
rambler.ru

## Особенности оценки геометрии левого желудочка у больных артериальной гипертензией

В. В. Сиволап, Е. В. Новиков, В. А. Лисенко, А. А. Богун

**Цель работы** – сравнить влияние способов расчета ММЛШ по Penn Convention и ASE на распределение типов геометрии левого желудочка у больных гипертонической болезнью, выяснить дополнительные эхографические критерии, которые позволят нивелировать различия оценки типов геометрии.

**Материалы и методы.** В исследование включено 100 больных гипертонической болезнью II степени, II стадии в возрасте от 18 до 79 лет (средний возраст –  $54,71 \pm 13,93$  года, 44 % мужчин). Эхокардиография выполнялась на аппарате Esaote MyLab Seven (Италия) по общепринятым правилам. Распределение по типам геометрии левого желудочка проводилось согласно рекомендациям количественной оценки структуры и функции левого желудочка. При нормальном ІММЛЖ основными типами геометрии были: нормальная геометрия и концентрическое ремоделювание; при повышенном – концентрическая и эксцентрическая ГЛЖ. Дополнительно всем больным проводили в импульсно-волновом и постоянно-волновом режиме доплерографию транскапальных потоков и определяли скорости движения фиброзных колец митрального и трикуспидального клапанов. Статистическую обработку материала осуществляли с применением пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, США) и Analyse-it for Microsoft Excel 4.80.1 (Analyse-it Software, Ltd.). Использовали *t*-критерий Стюдента, Манна–Уитни, Краскала–Уолліса,  $\chi^2$ . ROC-анализ применяли для определения критических значений (cut-off value) количественных показателей. Достоверность различий считали на уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** При использовании формулы ASE нормальная геометрия левого желудочка определялась достоверно чаще (43 % против 26 %,  $p = 0,0122$ ), чем при расчете по формуле Penn Convention. Концентрическое ремоделювание также достоверно преобладало при подсчете по методу ASE (13 % против 5 %,  $p = 0,0495$ ). При подсчете по методу Penn Convention количество случаев эксцентрической гипертрофии было достоверно выше (44 % против 27 %,  $p = 0,0128$ ), чем при применении формулы ASE. Использование дополнительного эхографического критерия – скорости раннего движения медіального фіброзного кільця МК  $< 8$  см/с, позволяет получить одинаковое процентное распределение больных ГХ по типам геометрии ЛЖ независимо от используемой формулы подсчета ММЛШ (ASE или Penn Convention).

**Ключевые слова:**  
ехокардіографія,  
гіпертонічна  
хвороба,  
ремоделювання  
лівого шлуночка.

**Патологія.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 257–262

**Выводы.** Формула расчета ИММЛЖ Penn Convention переоценивает степень патологических изменений миокарда у больных артериальной гипертензией за счет увеличения удельного веса случаев эксцентрической гипертрофии, в то время как формула расчета ИММЛЖ по ASE увеличивает количество больных ГБ с нормальной геометрией ЛЖ. Выявлена обратная корреляционная связь между массой миокарда ЛЖ и скоростью раннего движения медиального фиброзного кольца МК ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,004$ ). Учет дополнительного критерия скорости раннего движения медиального фиброзного кольца Ea мед.  $<8$  см/с полностью нивелирует погрешности при распределении типов геометрии, возникающие при использовании только двух критериев – ОТС и индекса ММЛШ, рассчитанной по какой либо формуле (ASE или Penn Convention).

**Key words:**  
echocardiography,  
hypertension,  
left ventricular  
remodeling.

**Pathologia**  
2017; 14 (3), 257–262

## Features of estimation of left ventricular geometry in patients with arterial hypertension

V. V. Syvolap, Ye. V. Novikov, V. A. Lysenko, A. O. Bogun

**Aim:** To compare the influence of the methods of calculating MMLV for Penn Convention and ASE on the distribution of left ventricular geometry types in patients with hypertension, to find out additional echographic criteria that will help to offset differences in the estimation of types of geometry.

**Materials and methods:** The study involved 100 patients with essential hypertension II degree, II stage, aged from 18 to 79 years (mean age  $54.71 \pm 13.93$  years, 44 % men). Echocardiography was performed on Esaote My Lab Seven (Italy) according to generally accepted rules. The distribution according to the types of left ventricular geometry was carried out in accordance with the recommendations for quantifying the structure and function of the left ventricle. Under normal index of MMLV, the main types of geometry were: normal geometry and concentric remodeling; in elevated – concentric and eccentric LVH. Additionally, all the patients underwent dopplerography of transvalvular flows in pulsed-wave and continuous-wave modes, and the velocity of the fibrous rings of mitral and tricuspid valves were determined. Statistical processing of the material was carried out using the software package “Statistica 6.0” (StatSoft, Tulsa, OK., S.S.A.) and “Analyse-it for Microsoft Excel 4.80.1” (Analyse-it Software, Ltd.). The t-criterion of the Student, Mann–Whitney, Kruskal–Wallis,  $\chi^2$  was used. The ROC-analysis was used to determine the cut-off value of quantitative indicators. The significance of differences was considered at the level of  $P < 0.05$ .

**Results.** Using the ASE formula, the normal left ventricular geometry was determined significantly more often (43 % vs. 26 %,  $P = 0.0122$ ) than when calculated by the Penn Convention formula. Concentric remodeling also probably prevailed when calculated by ASE (13 % vs. 5 %,  $P = 0.0495$ ). When calculating using the Penn Convention method, the number of cases of eccentric hypertrophy was significantly higher (44 % vs. 27 %,  $P = 0.0128$ ) than with the application of the ASE formula. The use of the additional echographic criterion – the speed of the early movement of the medial fibrous ring MK  $<8$  cm/s allows the same percentage distribution of patients with GC according to the types of LV geometry, regardless of the used formula for calculating MMLF (ASE or Penn Convention).

**Conclusion.** The formula for the calculation of the Penn Convention of the index of MMLV overestimates the degree of pathological changes in the myocardium in patients with arterial hypertension, mainly due to an increase in the specific gravity of cases of eccentric hypertrophy, while the formula for calculating the index of MMLV for ASE increases the number of patients with EH with normal LV geometry. The inverse correlation between the mass of the myocardial infarction and the speed of early motion of the medial fibrous ring of MK was found ( $r = -0,29$ ;  $P = 0.004$ ). Consideration of an additional criterion for the speed of the early movement of the medial fibrous ring Ea medial  $<8$  cm/s completely alleviates the error in the distribution of types of geometry that arises when using only two criteria – the RST and the index of MMLV calculated by any formula (ASE or Penn Convention).

Зміна геометрії та збільшення маси міокарда є одними з ранніх ознак ураження лівого шлуночка, а їхні виміри широко використовуються у клінічній практиці та наукових дослідженнях [1–8]. Артеріальна гіпертензія (АГ) має першочергове значення в розвитку таких змін, а наявність гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ) істотно підвищує ризик безлічі ускладнень [9–15]. Удосконалення методів оцінювання ГЛШ, його систолічної та діастолічної функцій спонукало European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) та American Society of Echocardiography (ASE) до створення рекомендацій щодо використання ехокардіографії при АГ у дорослих [16]. Згідно з сучасними настановами необхідно використовувати індексовані показники, що враховують антропометричні дані. Так, перевищення індексу маси міокарда (IMM) понад  $115 \text{ г/м}^2$  для чоловіків і понад  $95 \text{ г/м}^2$  для жінок за даними ультразвукового обстеження є загально визнаним критерієм субклінічного ураження серця та наявності високого ризику серцево-судинних ускладнень [17]. Найпоширенішими нині є лінійні методи оцінювання структури та функції лівого шлуночка, оскільки вони доступніші у здійсненні та ма-

ють велику доказову базу [18]. Важливим є правильне вимірювання та трактовка результатів, котрі отримали, адже вони часто впливають на остаточний діагноз і тактику лікування хворих. Розроблена певна кількість способів розрахунку маси міокарда лівого шлуночка (ММЛШ) і найпоширеніші формула Американського ехокардіографічного товариства (ASE) [19] і формула Penn Convention [20].

## Мета роботи

Порівняти вплив способів розрахунку ММЛШ за Penn Convention та ASE на розподіл типів геометрії лівого шлуночка у хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ), з'ясувати додаткові ехографічні критерії, що дають змогу нивелювати розбіжності оцінювання типів геометрії.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на клінічній базі кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими ЗДМУ – в кардіологічному відділенні КУ «6 міська

лікарня» м. Запоріжжя. Після підписання інформованої згоди до дослідження залучено 100 хворих на гіпертонічну хворобу I–II ступеня, I–II стадії, віком від 18 до 79 років (середній вік –  $54,71 \pm 13,93$  року, 44 % чоловіків). Критеріями виключення були локальні порушення сегментарної скоротливості лівого шлуночка, клапанні дисфункції, перенесений інфаркт міокарда чи інсульт в анамнезі, хронічна серцева недостатність III–IV функціонального класу. Ехокардіографія виконувалась на апараті Esaote MyLab Seven (Італія) за загальноприйнятими правилами [16]. Розподіл за типами геометрії лівого шлуночка здійснили згідно з рекомендаціями з кількісного оцінювання структури та функції лівого шлуночка. Показником наявності ГЛШ були значення IMM понад  $115 \text{ г/м}^2$  для чоловіків і  $95 \text{ г/м}^2$  для жінок. Відносна товщина стінок (ВТС) розраховувалась за формулою: (товщина міжшлуночкової перетинки + товщина задньої стінки)/кінцево-діастолічний розмір лівого шлуночка, а її верхньою межею було значення 0,42 ум. од. При нормальному IMMЛШ основними типами геометрії були: нормальна геометрія та концентричне ремоделювання; при підвищеному – концентрична та ексцентрична ГЛШ [16]. Додатково всім хворим проводили в імпульсно-хвильовому та постійно-хвильовому режимі доплерографію трансклапанних потоків і визначали швидкості руху фіброзних кільць мітрального та трикуспідального клапанів.

Статистичне опрацювання матеріалу здійснили за застосуванням пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, США, № AXXR712D833214FAN5) та Analyse-it for Microsoft Excel 4.80.1 (Analyse-it Software, Ltd.). Нормальність розподілу змінних перевіряли за допомогою тесту Колмогорова–Смирнова. Результати описової статистики для показників, що мали нормальний розподіл, представлено у вигляді середнього арифметичного та стандартного відхилення ( $M \pm SD$ ) і медіани з міжквартильним розмахом –  $Me (Q_{25} - Q_{75})$  для параметрів із розподілом, що відрізняється від нормального. Якісні ознаки надано у вигляді абсолютних частот і відсотків. Показники у групах порівнювали за застосуванням  $t$ -критерію Стьюдента,  $U$ -критерію Манна–Уїтні,  $\chi^2$ . Для порівняння показників у трьох і більше групах використовували критерій Крускала–Уолліса. ROC-аналіз застосовували для визначення критичних значень (cut-off value) кількісних показників. Вірогідність відмінностей вважали на рівні  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

При розрахунку індексу маси міокарда ЛШ за формулою Penn Convention нормальну геометрію лівого шлуночка мали 26 (26 %), концентричне ремоделювання – 5 (5 %), концентричну гіпертрофію – 25 (25 %) та ексцентричну гіпертрофію – 44 (44 %) хворих на ГХ. Розрахунок індексу маси міокарда за формулою ASE дав можливість отримати такі типи геометрії лівого шлуночка в тих самих хворих: нормальну геометрію лівого шлуночка мали 43 (43 %), концентричне ремоделювання – 13 (13 %), концентричну гіпертрофію – 17 (17 %) та ексцентричну гіпертрофію – 27 (27 %) хворих. Індекс маси міокарда ЛШ при використанні формули Penn Convention становив  $116,48 \pm 34,12 \text{ г/м}^2$ , а при



Рис. 1. Розподіл типів геометрії лівого шлуночка залежно від використаних формул для обчислення ІММЛШ (Penn Convention та ASE).

Таблиця 1. Швидкість раннього руху медіального фіброзного кільця МК залежно від типу геометрії та способу визначення ІММЛШ

Формули розрахунку ІММЛШ	Тип геометрії	Кількість, n (%)	Швидкість раннього руху медіального фіброзного кільця МК, $Ea \text{ мед.}, M \pm SD$
Penn Convention	Нормальна геометрія	26 (26 %)	$10,18 \pm 3,32 \text{ см/с}$
	Концентричне ремоделювання	5 (5 %)	$11,40 \pm 3,36 \text{ см/с}$
	Концентрична гіпертрофія	25 (25 %)	$9,57 \pm 3,16 \text{ см/с}$
	Ексцентрична гіпертрофія	44 (44 %)	$8,61 \pm 2,82 \text{ см/с}$
ASE	Нормальна геометрія	43 (43 %)	$10,27 \pm 3,08 \text{ см/с}$
	Концентричне ремоделювання	13 (13 %)	$10,94 \pm 2,88 \text{ см/с}$
	Концентрична гіпертрофія	17 (17 %)	$9,06 \pm 3,29 \text{ см/с}$
	Ексцентрична гіпертрофія	27 (27 %)	$7,48 \pm 2,24 \text{ см/с}$

підрахунку за формулою ASE –  $102,06 \pm 27,34 \text{ г/м}^2$ . Тобто при використанні формули Penn Convention ІММЛШ суттєво, на  $14,42 \text{ г/м}^2$ , перевищує аналогічний показник, що розрахований за формулою ASE, це й стало підґрунтям для різної інтерпретації результатів, котрі отримали (рис. 1).

Результати свідчать: внесок ексцентричної гіпертрофії у формування гіпертензивного ремоделювання значно більший, аніж суми «концентричних» типів за даними методики Penn Convention (44 % проти 30 %) і дещо менший при підрахунку за формулою ASE (27 % проти 30 %), що суперечить твердженню щодо переважного формування концентричного ремоделювання міокарда у хворих на АГ унаслідок збільшення поперечного розрізу кардіоміоцитів і потовщення стінки при переважанні тиском [16]. Імовірно, такі зміни зумовлені підвищенням тиску наповнення лівого шлуночка та його діастолічною дисфункцією, що починаються значно раніше та призводять до збільшення переважно кінцево-діастолічного розміру й об'єму.

Щодо поділу пацієнтів за типами геометрії ЛШ, то при застосуванні різних формул (ASE або Penn Convention) в одних і тих самих хворих виникають проблеми з виявленням гіпертрофії ЛШ. Так, при використанні формули ASE нормальна геометрія лівого шлуночка визначалась вірогідно частіше (43 % проти 26 %,  $p = 0,0122$ ), ніж при розрахунку за формулою Penn Convention. Концентричне ремоделювання також вірогідно переважало при підрахунку за методом ASE (13 % проти 5 %,  $p = 0,0495$ ). Тобто в певного відсотка хворих на ГХ при використанні формули ASE не діагностована гіпертрофія ЛШ. Водночас при підрахунку за методом Penn Convention кількість випадків

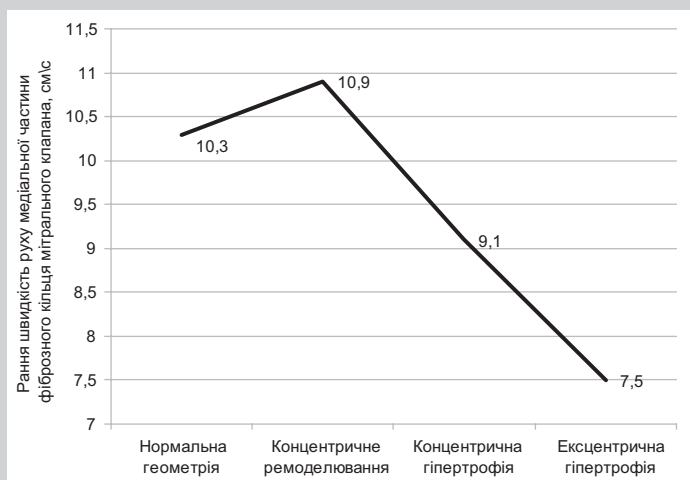


Рис. 2. Зміни показника швидкості Ea мед. при різних типах геометрії за умови використання формули ASE.

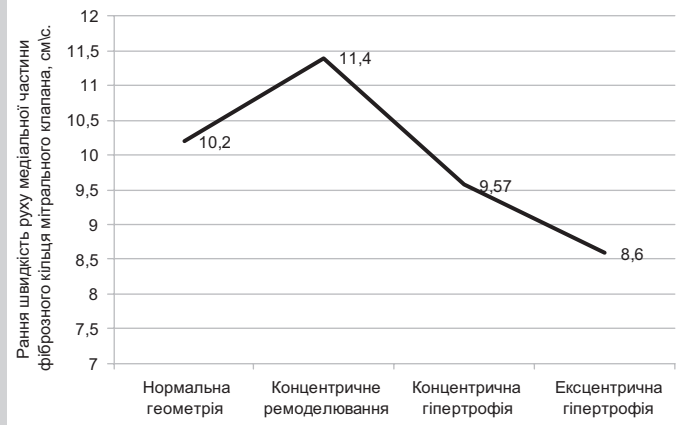


Рис. 3. Зміни швидкості Ea мед. при різних типах геометрії за умови використання формули Penn Convention. Вірогідно відрізняються значення Ea мед. у хворих із нормальною геометрією та ексцентричною гіпертрофією (10,2 см/с проти 8,6 см/с,  $p = 0,041$ ).

Таблиця 2. Питома вага нормальної геометрії та ексцентричної гіпертрофії до та після перерахунку з урахуванням значення Ea мед. <8 см/с.

	Penn Convention		ASE	
	Нормальна геометрія	Ексцентрична гіпертрофія	Нормальна геометрія	Ексцентрична гіпертрофія
Розподіл типів геометрії ЛШ тільки за двома критеріями (ІММЛШ і ВТС)	26 (26 %)	44 (44 %)	43 (43 %)	27 (27 %)
Розподіл типів геометрії ЛШ з урахуванням значення Ea мед. (<8 см/с)	43 (43 %)	27 (27 %)	43 (43 %)	27 (27 %)

ексцентричної гіпертрофії була вірогідно більшою (44 % проти 27 %,  $p = 0,0128$ ), ніж при застосуванні формули ASE. Останнє свідчить про переоцінювання можливостей формули Penn Convention у діагностиці ексцентричної гіпертрофії ЛШ.

Отже, виникає потреба в пошуку простих і доступних додаткових ехографічних показників, котрі б дали можливість проводити диференційну діагностику між нормальною геометрією та ексцентричною

гіпертрофією лівого шлуночка незалежно від формул розрахунку ІММЛШ. Ми проаналізували всі відомі геометричні ехографічні показники, швидкісні доплерографічні показники трансклапанних потоків, а також швидкості руху фіброзних кілець мітрального та трикуспідального клапанів. Типи ремоделювання ЛШ мали найсильніший зв'язок тільки зі швидкістю раннього руху медіального фіброзного кільця мітрального клапана (Ea мед.) (табл. 1, рис. 2, 3). Виявлений зворотний кореляційний зв'язок між масою міокарда ЛШ і швидкістю раннього руху медіального фіброзного кільця МК ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,004$ ).

За даними обох методик обчислення ІММЛШ (рис. 2, 3), при патологічному ремоделюванні міокарда лівого шлуночка, особливо ексцентричній гіпертрофії, спостерігається зменшення швидкості раннього руху медіальної частини фіброзного кільця мітрального клапана (Ea мед.).

Як видно з рисунка 2, відбувається поступове зменшення значень (Ea мед.) від концентричного ремоделювання до ексцентричної гіпертрофії ( $p = 0,0003$ ). Найбільша різниця швидкостей Ea мед. спостерігалась при нормальній геометрії та ексцентричній гіпертрофії (10,3 см/с проти 7,5 см/с,  $p = 0,00015$ ).

За допомогою ROC-аналізу з'ясували точку розподілу для показника швидкості раннього руху медіального фіброзного кільця МК. Критичним значенням виявилось <8 см/с. Точка розподілу, котру отримали, збіглася з аналогічним показником, що запропонований ESH/ESC для оцінювання ремоделювання та діастолічної дисфункції у хворих на АГ.

Згідно з рекомендаціями ESH/ESC 2013 [17], критеріями ремоделювання лівого шлуночка та діастолічної дисфункції окрім ВТС та ІММ є значення середнього E/Ea більше ніж 13 см/с, септальної швидкості піку Ea <8 см/с, латеральної швидкості піку Ea <10 см/с та об'ємного індексу лівого передсердя більше ніж 34 мл/м<sup>2</sup>.

Після урахування як додаткового третього критерію, що впливає на тип геометрії ЛШ, септальної швидкості піку Ea <8 см/с повторно перерахували питому вагу нормальної геометрії та ексцентричної гіпертрофії у хворих на ГХ. Результати цих перерахунків наведені в таблиці 2.

Отже, розрахунок індексу ММЛШ за формулою Penn Convention дає переоцінювання ексцентричної гіпертрофії міокарда у хворих на ГХ, а за формулою ASE – переоцінювання нормальної геометрії. Використання додаткового ехографічного критерію – швидкості раннього руху медіального фіброзного кільця МК <8 см/с дає можливість отримати однаковий відсотковий поділ хворих на ГХ за типами геометрії ЛШ незалежно від використаної формули підрахунку ММЛШ (ASE або Penn Convention).

## Висновки

1. Способи розрахунку маси міокарда суттєво впливають на розподіл типів геометрії лівого шлуночка в одних і тих самих хворих на ГХ.

2. Формула розрахунку ІММЛШ Penn Convention переоцінює ступінь патологічних змін міокарда у хворих



на артеріальну гіпертензію переважно внаслідок збільшення питомої ваги випадків ексцентричної гіпертрофії, тоді як формула розрахунку ІММЛШ за ASE збільшує кількість хворих на ГХ із нормальною геометрією ЛШ.

3. Виявлено зворотний кореляційний зв'язок між масою міокарда ЛШ і швидкістю раннього руху медіального фіброзного кільця МК ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,004$ ).

4. Врахування додаткового критерію швидкості раннього руху медіального фіброзного кільця  $E_a$  мед.  $<8$  см/с повністю нівелює похибку при розподілі типів геометрії, що виникає при використанні тільки двох критеріїв – ВТС та індексу ММЛШ, що розрахована за будь-якою формулою (ASE або Penn Convention).

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вдосконаленні наявних і впровадженні нових «маркерів» патологічного ремоделювання лівого шлуночка з метою ранньої та адекватної діагностики перебудови серця у хворих на артеріальну гіпертензію.

## Список літератури

- [1] Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study / D. Levy, R.J. Garrison, D.D. Savage, et al. // *N Engl J Med.* – 1990. – Vol. 322(22). – P. 1561–1576.
- [2] Schillaci G. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension / G. Schillaci, P. Verdecchia, C. Porcellati // *Hypertension.* – 2000. – Vol. 35(2). – P. 580–586.
- [3] Devereux R.B. Evaluation of cardiac and vascular structure by echocardiography and other noninvasive techniques / R.B. Devereux, M.J. Roman // *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, treatment* / editors J.H. Laragh, B.M. Brenner. – 2nd ed. – Raven Press: New York, 1995. – P. 1969–1985.
- [4] American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials / J.S. Gottdiener, J. Bednarz, R. Devereux, et al. // *J Am Soc Echocardiogr.* – 2004. – Vol. 17(10). – P. 1086–119.
- [5] Методические подходы к выявлению гипертрофии левого желудочка при артериальной гипертензии с использованием эхокардиографии / О.Н. Ковалева, А.А. Янкевич, О.А. Нижегородцева и др. // Украинський кардіологічний журнал. – 2005. – №4. – С. 119–125.
- [6] Задорожная М.П. Многочисленность критериев гипертрофии миокарда левого желудочка как проблема артериальной гипертонии / М.П. Задорожная, В.В. Разумов // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2016. – №2. – С. 17–24.
- [7] Полтанова М.Б. Оценка показателей доплеровского движения фиброзных колец атриовентрикулярных клапанов в исследовании функционального состояния сердца у больных артериальной гипертонией / М.Б. Полтанова, П.В. Стручков, О. Сцека // *Вестник новых медицинских технологий.* – 2011. – №4. – С. 105–109.
- [8] Галявич А.С. Сравнительный анализ данных эхокардиографии, мультиспиральной компьютерной томографии и перфузионной скintiграфии миокарда в оценке массы миокарда левого желудочка / А.С. Галявич, А.Ю. Рафиков, Г.Б. Сайфуллина // *Казанский медицинский журнал.* – 2012. – Т. 93. – №6. – С. 855–858.
- [9] Verdecchia P. Left ventricular hypertrophy as an independent predictor of acute cerebrovascular events in essential hypertension / P. Verdecchia, C. Porcellati, G. Reboldi // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104(17). – P. 2039–2044.
- [10] Verma A. Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: the VALIANT (VALsartan In Acute myocardial iNfarcTion) Echocardiographic Study / A. Verma, A. Meris, H. Skali // *JACC Cardiovasc Imaging.* – 2008. – Vol. 1(5). – P. 582–591.
- [11] Katholi R.E. Left ventricular hypertrophy: major risk factor in patients with hypertension: update and practical clinical applications / R.E. Katholi, D.M. Couri // *Int J Hypertens.* – 2011. – Vol. 2011. – P. 495349.
- [12] Predictors of new-onset heart failure: differences in preserved versus reduced ejection fraction / J.E. Ho, A. Lyass, D.S. Lee, et al. // *Circ Heart Fail.* – 2013. – Vol. 6(2). – P. 279–286.
- [13] The relationship of left ventricular mass and geometry to incident cardiovascular events: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) study / D.A. Bluemke, R.A. Kronmal, J.A. Lima, et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2008. – Vol. 52(25). – P. 2148–2155.
- [14] Global systolic load, left ventricular hypertrophy, and atrial fibrillation / C.N. Bang, A.M. Greve, K. Wachtell, L. Kober // *Am Heart J.* – 2012. – Vol. 164(4). – e13.

- [15] Left ventricular mass index as a predictor of new-onset microalbuminuria in hypertensive subjects: a prospective study / E. Andrikou, C. Tsioufis, C. Thomopoulos, et al. // *Am J Hypertens.* – 2012. – Vol. 25(11). – P. 1195–1201.
- [16] Recommendations on the use of echocardiography in adult hypertension: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the American Society of Echocardiography (ASE) / T.H. Marwick, T.C. Gillebert, G. Aurigemma, et al. // *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* – 2015. – Vol. 16(6). – P. 577–605.
- [17] 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz, et al. // *J Hypertens.* – 2013. – Vol. 31(7). – P. 1281–1357.
- [18] Recommendations for chamber quantification / R.M. Lang, M. Bierig, R.B. Devereux, et al. // *Eur J Echocardiogr.* – 2006. – Vol. 7. – P. 79–108.
- [19] Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings / R.B. Devereux, D.R. Alonso, E.M. Lutas, et al. // *Am J Cardiol.* – 1986. – Vol. 57(6). – P. 450–8.
- [20] Devereux R.B. Echocardiography determination of left ventricular mass in man: Anatomic validation of the method / R.B. Devereux, N. Reichek // *Circulation.* – 1977. – Vol. 55. – P. 613–618.

## References

- [1] Levy, D., Garrison, R. J., Savage, D. D., Kannel, W. B., & Castelli, W. P. (1990). Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*, 322(22), 1561–1576. doi: 10.1056/NEJM199005313222203.
- [2] Schillaci, G., Verdecchia, P., Porcellati, C., Cuccurullo, O., Cosco, C., & Perticone, F. (2000). Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. *Hypertension*, 35(2), 580–586.
- [3] Devereux, R. B., & Roman, M. J. (1995). Evaluation of cardiac and vascular structure by echocardiography and other noninvasive techniques. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, treatment*. J.H. Laragh, B. M. Brenner (Editors.). New York.
- [4] Gottdiener, J. S., Bednarz, J., Devereux, R., Gardin, J., Klein, A., Manning, W. J., et al. (2004). American Society of Echocardiography recommendations for use of echocardiography in clinical trials. *J Am Soc Echocardiogr*, 17(10), 1086–119. doi: 10.1016/j.echo.2004.07.013.
- [5] Kovalyova, O. N., Yankevich, A. A., Nizhegorodtseva, O. A., & Lagotuz, Yu. I. (2005). Metodicheskie podhody k vyvayleniyu gipertrofii levogo zheludochka pri arterial'noj gipertenzii s ispol'zovaniem ehokardiografii [The methodological approach to left ventricular hypertrophy determination in arterial hypertension by means of echocardiography]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 4, 119–125. [in Russian].
- [6] Zadorozhnaya, M. P., & Razumov, V. V. (2016). Mnogochislennost' kriteriev gipertrofii miokarda levogo zheludochka kak problema arterial'noj gipertonii [Multi-criteria of left ventricular hypertrophy as a problem of arterial hypertension]. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*, 2, 17–24. [in Russian].
- [7] Poltanova, M. V., Stuchkov, P. V., & Tseka, O. S. (2011). Ocenka pokazatelej doplerovskogo dvizheniya fibroznykh kolec atrioventrikulyarnykh klapanov v issledovanii funktsional'nogo sostoyaniya serdca u bol'nykh arterial'noj gipertoniej [Doppler parameters of fibrous ring movements of atrioventricular valves during heart examination of subjects with arterial hypertension]. *Vestnik novykh medycinskikh tekhnologij*, 4, 105–109. [in Russian].
- [8] Galyavich, A. S., Rafikov, A. Yu., & Sayfullina, G. B. (2012). Sravnitel'nyj analiz dannykh ehokardiografii, multispiral'noj kompyuternoj tomografii i perfunzionnoj skintiografii miokarda v ocenke massy miokarda levogo zheludochka [Comparative analysis of echocardiography, multispiral computed tomography, myocardial perfusion scintigraphy in left ventricular mass evaluation]. *Kazanskij medicinskij zhurnal*, 93(6), 855–858. [in Russian].
- [9] Verdecchia, P., Porcellati, C., Reboldi, G., Gattobigio, R., Borgioni, C., Pearson, T. A., & Ambrosio, G. (2001). Left ventricular hypertrophy as an independent predictor of acute cerebrovascular events in essential hypertension. *Circulation*, 104(17), 2039–2044.
- [10] Verma, A., Meris, A., Skali, H., Ghali, J. K., Arnold, J. M., Bourgoun, M., et al. (2008). Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: the VALIANT (VALsartan In Acute myocardial iNfarcTion) Echocardiographic Study. *JACC Cardiovasc Imaging*, 1(5), 582–591. doi: 10.1016/j.jcmg.2008.05.012.
- [11] Katholi, R. E., & Couri, D. M. (2011). Left ventricular hypertrophy: major risk factor in patients with hypertension: update and practical clinical applications. *Int J Hypertens*, 2011, 495349. doi: 10.4061/2011/495349.
- [12] Ho, J. E., Lyass, A., Lee, D. S., Vasan, R. S., Kannel, W. B., Larson, M. G., & Levy, D. (2013). Predictors of new-onset heart failure: differences in preserved versus reduced ejection fraction. *Circ Heart Fail*, 6(2), 279–286. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.972828.

- [13] Bluemke, D. A., Kwonmal, R. A., Lima, J. A., Liu, K., Olson, J., Burke, G. L., & Folsom, A. R. (2008). The relationship of left ventricular mass and geometry to incident cardiovascular events: the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) study. *J Am Coll Cardiol*, 52(25), 2148–2155. doi: 10.1016/j.jacc.2008.09.014.
- [14] Bang, C. N., Greve, A. M., Wachtell, K., & Kober, L. (2012). Global systolic load, left ventricular hypertrophy, and atrial fibrillation. *Am Heart J*, 164(4), e13. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2012.07.017>.
- [15] Andrikou, E., Tsioufis, C., Thomopoulos, C., Andrikou, I., Kasiakogias, A., Leontsinis, I., et al. (2012). Left ventricular mass index as a predictor of new-onset microalbuminuria in hypertensive subjects: a prospective study. *Am J Hypertens*, 25(11), 1195–1201. doi: 10.1038/ajh.2012.109.
- [16] Marwick, T. H., Gillebert, T. C., Aurigemma, G., Chirinos, J., Derumeaux, G., Galderisi et al. (2015). Recommendations on the use of echocardiography in adult hypertension: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) and the American Society of Echocardiography (ASE). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 16(6), 577–605. doi: 10.1093/ehjci/jev076.
- [17] Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redón, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al. (2013). 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J. Hypertens*, 31(7), 1281–1357. doi: 10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc.
- [18] Lang, R. M., Bierig, M., Devereux, R. B., Flachskampf, F. A., Foster, E., Pellikka, P. A., et al. (2006). Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr*, 7(2), 79–108. doi: 10.1016/j.euje.2005.12.014.
- [19] Devereux, R. B., Alonso, D. R., Lutas, E. M., Gottlieb, G. J., Campo, E., Sachs, I., & Reichek, N. (1986). Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol*, 57(6), 450–8. doi: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(86\)90771-X](https://doi.org/10.1016/0002-9149(86)90771-X).
- [20] Devereux, R. B., & Reichek, N. (1977). Echocardiography determination of left ventricular mass in man: Anatomic validation of the method. *Circulation*, 55(4), 613–618. doi: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.55.4.613>.

Надійшло до редакції / Received: 26.09.2017

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 18.10.2017

#### Відомості про авторів:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Новіков Є. В., аспірант каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Лисенко В. А., старший лаборант каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Богун А. О., студентка 5 курсу медичного факультету, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Сведения об авторах:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Новиков Е. В., аспирант каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Лысенко В. А., старший лаборант каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Богун А. А., студентка 5 курса медицинского факультета, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### Information about authors:

Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of the Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Novikov Ye. V., Post-graduate Student of the Department of the Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Lysenko V. A., Senior Laboratory Assistant of the Department of the Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Bogun A. O., 5<sup>th</sup> year student, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

# Вплив додаткових факторів ризику на антигіпертензивну ефективність епросартану та телмісартану у хворих на гіпертонічну хворобу

В. В. Сиволап, О. В. Візір-Тронова

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Мета роботи** – дослідити вплив додаткових факторів ризику на показники артеріального тиску, кардіоваскулярного ремоделювання та стан вегетативного забезпечення серцевого ритму у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії у процесі лікування епросартаном і телмісартаном.

**Матеріали та методи.** До дослідження залучили 100 хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ) II стадії, 1 та 2 ступенів із низьким і помірним ризиком розвитку серцево-судинних ускладнень. Статус курця мали 30 %, гіперхолестеринемію понад 5 ммоль/л – 69 %, надмірну вагу тіла та ожиріння – 82 % хворих на ГХ. Методом випадкової рандомізації половині хворих призначений епросартан у добовій дозі 600 мг, решта отримувала телмісартан у добовій дозі 80 мг протягом 6 місяців. До початку лікування та через півроку терапії всім хворим здійснили загально-клінічні обстеження, розрахунок індексу маси тіла, визначення ЗХ у сироватці крові, Холтеровське моніторування ЕКГ з аналізом варіабельності серцевого ритму, добове моніторування артеріального тиску, ехокардіографію та дуплексну імпульсно-хвильову доплерографію екстракраніальних судин. За два тижні до початку дослідження хворі не застосовували будь-які антигіпертензивні засоби.

**Результати.** У хворих на ГХ із додатковими факторами ризику застосування епросартану протягом 6 місяців супроводжується вірогідним зниженням «офісного» САТ на 30,0 %, ДАТ – на 21,6 %, ПАТ – на 41,4 % та АТ сер. – на 25,5 %, регресією гіпертрофії міокарда та поліпшенням діастолічної функції лівого шлуночка. Епросартан показав високу антигіпертензивну ефективність щодо впливу на САТ у хворих на ГХ із наявністю/відсутністю тютюнопаління. Однак вплив епросартану на ДАТ був кращим у хворих на ГХ, які не мають статусу курця. Всі хворі на ГХ незалежно від наявності або відсутності підвищеного рівня загального холестерину досягли цільового рівня САТ під впливом епросартану. Антигіпертензивний ефект епросартану щодо САТ не залежав від наявності/відсутності ожиріння у хворих на ГХ. Епросартан призводив до вірогідного збільшення максимальної лінійної швидкості в лівій внутрішній сонній артерії на 2,8 % та у вертебробазиллярному басейні – на 24,3 %. Загальна потужність спектра під впливом лікування вірогідно збільшилась на 14,3 %.

Антигіпертензивна терапія телмісартаном упродовж півроку викликає вірогідне зниження «офісного» САТ на 24,8 %, ДАТ – на 20,0 %, ПАТ – на 31,8 %, АТ сер. – 22,2 %. У хворих на ГХ, які мають статус курця або ні та в усіх 100 % хворих на ГХ із нормальним і підвищеним загальним холестерином телмісартан був однаково ефективний у досягненні цільового рівня САТ. Ожиріння або його відсутність також вірогідно не вплинули на ефективність антигіпертензивної терапії телмісартаном у хворих на ГХ. Телмісартан (як і епросартан) викликає регресію гіпертрофії лівого шлуночка. Телмісартан чинить позитивний вплив на каротидний кровотік і не впливає на кровопостачання вертебробазиллярного басейну. Також не спостерігали змін показників вегетативного балансу під впливом телмісартану.

**Висновки.** У хворих на ГХ із додатковими факторами кардіоваскулярного ризику застосування як епросартану, так і телмісартану протягом півроку супроводжується вірогідним зниженням артеріального тиску, регресією гіпертрофії міокарда й поліпшеннями діастолічної функції лівого шлуночка, кровотоку в каротидному басейні. На відміну від телмісартану епросартан підвищує загальну потужність спектра варіабельності серцевого ритму та не впливає на рівень загального холестерину. Вплив телмісартану на кровотік у вертебробазиллярному басейні відсутній. Тютюнопаління, ожиріння, гіперхолестеринемія не знижують антигіпертензивної ефективності телмісартану та епросартану щодо САТ і ДАТ. Проте епросартан менш ефективний щодо зниження ДАТ у хворих на ГХ, які палять.

## Ключові слова:

гіпертензія, кардіоваскулярне ремоделювання, дисліпідемія, ожиріння, тютюнопаління, епросартан, телмісартан.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 263–270

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118311

**E-mail:**  
alenavizir1@gmail.com

# Влияние дополнительных факторов риска на антигипертензивную эффективность эпросартана и телмисартана у больных гипертонической болезнью

В. В. Сиволап, Е. В. Визир-Тронова

**Цель работы** – исследовать влияние дополнительных факторов риска на показатели артериального давления, кардиоваскулярного ремоделирования и состояние вегетативного обеспечения сердечного ритма у больных гипертонической болезнью II стадии в процессе лечения эпросартаном и телмисартаном.

**Материалы и методы.** В исследование включено 100 больных гипертонической болезнью (ГБ) II стадии, 1 и 2 степени с низким и умеренным риском развития сердечно-сосудистых осложнений. Статус курильщика имели 30 %, гиперхолестеринемия более 5 ммоль/л – 69 %, избыточную массу тела и ожирение – 82 % больных ГБ. Методом случайной рандомизации половине больных назначен эпросартан в суточной дозе 600 мг, остальные получали телмисартан в суточной дозе 80 мг в течение 6 месяцев. До начала лечения и через 6 месяцев терапии всем больным были проведены общеклинические обследования, расчет индекса массы тела, определение ОХ в сыворотке крови, Холтеровское мониторирование ЭКГ с анализом вариабельности сердечного ритма, суточное мониторирование артериального давления, эхокардиография и дуплексная импульсно-волновая доплерография экстракраниальных сосудов. За две недели до начала исследования больные не принимали какие-либо антигипертензивные препараты.

## Ключевые слова:

гипертензия, кардиоваскулярное ремоделирование, дислипидемия, ожирение, курение, эпросартан, телмисартан.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 263–270



**Результаты.** У больных ГБ с дополнительными факторами риска применение эпросартана в течение 6 месяцев сопровождается достоверным снижением «офисного» САД на 30,0 %, ДАД – на 21,6 %, ПАД – на 41,4 % и АД ср. – на 25,5 %, регрессией гипертрофии миокарда и улучшением диастолической функции левого желудочка. Эпросартан продемонстрировал высокую антигипертензивную эффективность по влиянию на САД у больных ГБ с наличием/отсутствием табакокурения. Однако влияние эпросартана на ДАД было лучшим у больных ГБ, которые не имеют статуса курильщика. Все больные ГБ независимо от наличия или отсутствия повышенного уровня общего холестерина достигли целевого уровня САД под влиянием эпросартана. Антигипертензивный эффект эпросартана в отношении САД не зависел от наличия/отсутствия ожирения у больных ГБ. Эпросартан приводил к достоверному увеличению максимальной линейной скорости в левой внутренней сонной артерии на 2,8 % и в вертебробазиллярном бассейне – на 24,3 %. Общая мощность спектра под влиянием лечения достоверно увеличилась на 14,3 %.

Антигипертензивная терапия телмисартаном в течение полугода вызывает достоверное снижение «офисного» САД – на 24,8 %, ДАД – на 20,0 %, ПАД – на 31,8 %, АД ср. – 22,2 %. У больных ГБ, которые имеют/не имеют статус курильщика и у всех 100 % больных ГБ с нормальным и повышенным общим холестерином телмисартан был одинаково эффективен в достижении целевого уровня САД. Ожирение или его отсутствие также достоверно не повлияли на эффективность антигипертензивной терапии телмисартаном у больных ГБ. Телмисартан, так же как и эпросартан, вызывает регрессию гипертрофии левого желудочка. Телмисартан оказывает положительное влияние на каротидный кровоток и не влияет на кровоснабжение вертебробазиллярного бассейна. Также не наблюдалось изменений показателей вегетативного баланса под влиянием телмисартана.

**Выводы.** У больных ГБ с дополнительными факторами сердечно-сосудистого риска применения как эпросартана, так и телмисартана в течение полугода сопровождается достоверным снижением артериального давления, регрессией гипертрофии миокарда и улучшением диастолической функции левого желудочка, улучшением кровотока в каротидном бассейне. В отличие от телмисартана, эпросартан повышает общую мощность спектра вариабельности сердечного ритма и не влияет на уровень общего холестерина. Влияние телмисартана на кровоток в вертебробазиллярном бассейне отсутствует. Курение, ожирение, гиперхолестеринемия не снижают антигипертензивную эффективность телмисартана и эпросартана в отношении САД и ДАД. Однако эпросартан менее эффективен в отношении снижения ДАД у больных ГБ, которые курят.

**Key words:**

hypertension,  
cardiac remodeling,  
dyslipidemia,  
obesity, smoking,  
eprosartan,  
telmisartan.

**Pathologia**

2017; 14 (3), 263–270

## Influence of additional risk factors on the antihypertensive efficacy of eprosartan and telmisartan in patients with essential hypertension

V. V. Syvolap, O. V. Vizir-Tronova

**Objective.** The aim of this study is to determine the effect of additional risk factors on blood pressure parameters, cardiovascular remodeling and the state of vegetative balance of the heart rhythm in patients with stage II essential hypertension (EH) under treatment with eprosartan and telmisartan.

**Materials and methods.** The study included 100 patients with stage II essential hypertension (EH), 1–2 degrees with a low and moderate risk of developing cardiovascular complications. The smoker's status was 30.0 %, hypercholesterolemia more than 5 mmol/l – 69.0 %, overweight and obesity – 82.0 % of patients with EH. By randomisation, half of the patients received eprosartan in a daily dose of 600 mg, the rest received telmisartan at a daily dose of 80 mg for 6 months. Before the start of treatment and after 6 months of therapy, all the patients were subjected to the evaluation of general physical examinations, calculation of body mass index, determination of serum TC level, ECG Holter monitoring with analysis of heart rate variability, ambulatory blood pressure monitoring, echocardiography and duplex pulsed wave dopplerography of extracranial and intracranial vessels. Two weeks before the study, the patients did not take any antihypertensive drugs.

**Results.** In patients with EH with additional risk factors using of eprosartan for 6 months is accompanied by a significant decrease in “office” SBP by 30.0 %, DBP by 21.6 %, PBP by 41.4 % and avg. BP by 25.5 %, regression of myocardial hypertrophy and improvement of diastolic function of the left ventricle. Eprosartan demonstrated a high antihypertensive efficacy on the effect on SBP in patients with EH with the presence/absence of tobacco smoking. However, the effect of eprosartan on DBP was better in patients with EH who do not have the status of a smoker. All the patients with EH, regardless of the presence or absence of an elevated level of total cholesterol, reached the target level of SBP under the influence of eprosartan. The antihypertensive effect of eprosartan against SBP was independent of the presence/absence of obesity in patients with EH. Eprosartan resulted in a significant increase in the maximum linear velocity in the left internal carotid artery by 2.8 % and in the vertebrobasilar region by 24.3 %. The total power of the spectrum under the influence of treatment significantly increased by 14.3 %. Antihypertensive therapy with telmisartan within half a year causes a significant decrease in “office” SBP by 24.8 %, DBP by 20.0 %, PBP by 31.8 %, avg. BP by 22.2 % In patients with EH who have/do not have the status of smoker and in all 100 % of patients with normal and elevated total cholesterol telmisartan was equally effective in achieving the target level of SBP. Obesity or its absence also did not significantly affect the effectiveness of antihypertensive therapy with telmisartan in patients with EH. Telmisartan, like eprosartan, causes regression of left ventricular hypertrophy. Telmisartan has a positive effect on carotid blood flow and does not affect the blood flow of the vertebrobasilar region. There were no changes in the parameters of the vegetative balance under the influence of telmisartan.

**Conclusion.** In patients with EH with additional factors of cardiovascular risk using both eprosartan and telmisartan for half a year is accompanied by a significant decrease in blood pressure, regression of myocardial hypertrophy and improvement of diastolic function of the left ventricle, improvement of blood flow in the carotid region. In contrast to telmisartan, eprosartan increases the total power of the heart rate variability spectrum and does not affect the level of total cholesterol. The influence of telmisartan on the blood flow in the vertebrobasilar region is absent. Smoking, obesity, hypercholesterolemia do not reduce the antihypertensive efficacy of telmisartan and eprosartan against SBP and DBP. However, eprosartan is less effective in reducing DBP in patients with EH who smoke.

Захворюваність і смертність, що пов'язані з неконтрольованою артеріальною гіпертензією (АГ), є причиною істотного економічного тягаря у вигляді витрат на лікарські препарати, госпіталізації, хірургічні втручання та інші ресурси охорони здоров'я. Незважаючи на широку обізнаність щодо наслідків гіпертонічної хвороби (ГХ) і доступність ефективних методів лікування, до 32 % пацієнтів, які страждають на АГ, не отримують ефективних препаратів для корекції підвищеного артеріального тиску (АТ). На жаль, ця тенденція з часом посилюється. Так, за даними системного огляду В. І. Козловського та А. В. Симановича, у 2014 році прихильність пацієнтів з АГ до антигіпертензивної терапії становить 50–60 %. Частина пацієнтів (16–60 %), особливо з уперше виявленою АГ, протягом року припиняють приймання препаратів, а при збільшенні періоду спостереження до 5–10 років продовжують приймати антигіпертензивні засоби менше ніж 40 % хворих [2].

Сьогодні відомо понад 200 факторів, що підвищують кардіоваскулярний ризик, і їхня кількість щороку збільшується. Однак найбільший внесок у формування структури смертності від серцево-судинних захворювань роблять модифіковані фактори ризику (ФР), такі як АГ (35,5 %), гіперхолестеринемія (ГХЕ) (23 %), паління (17,1 %), недостатнє вживання овочів, фруктів (12,9 %), надлишкова вага тіла й ожиріння (НВТ) (12,5 %), надмірне вживання алкоголю (11,9 %) та гіподинамія (9 %) [15].

Основою будь-якої стратегії лікування хворих на АГ є модифікація способу життя, наполеглива та системна робота з елімінації ФР. На початкових стадіях хвороби корекція способу життя – основний спосіб досягнення необхідного рівня АТ, а у хворих, які вже отримують антигіпертензивні препарати, вона дає змогу зменшити їхнє число, дози та контролювати розвиток клінічно асоційованих станів [25].

Безперервний ланцюг взаємопов'язаних функціональних і структурних змін у різних органах і системах у рамках серцево-судинного континууму припускає наявність загальних патофізіологічних процесів, серед них найважливішою є активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС), яка, по суті, є провідною складовою серцево-судинного континууму. Активація цього нейрогуморального комплексу відіграє ключову роль у патогенезі АГ, її ускладнень і метаболічних порушень на всіх етапах формування та прогресування серцево-судинної патології [15,38].

Зосередження клінічних зусиль на модифікації ФР, що є ранніми компонентами серцево-судинного континууму, та максимально повна фармакологічна блокада патологічної активації РААС надають можливість загальмувати прогресуючий розвиток серцево-судинних захворювань (ССЗ) на ранніх етапах, оскільки на пізніших стадіях, при появі ускладнень, досягнення зворотного розвитку патологічних процесів у органах-мішенях та уповільнення прогресування АГ є вельми проблематичним [11,32,33].

З метою зменшення патологічної дії компонентів РААС на рівень системного АТ патологічне ремоделювання серцево-судинної системи та прогресуюче ураження органів-мішеней у кардіологічній практиці застосовуються три групи лікарських препаратів, що

здатні повністю або частково нівелювати патогенетичні ефекти ангіотензину II (АТ II) – це інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (ІАПФ), блокатори рецепторів ангіотензину II (БРА) та прямий інгібітор реніну (aliskiren) [18,27].

Перевага БРА перед ІАПФ полягає в тому, що вони забезпечують повнішу й селективну блокаду РААС. Крім того, БРА сприяють реалізації захисних ефектів АТ II шляхом посилення його дії на АТ2-рецептори і не мають безпосереднього впливу на калікреїн-кінінову систему, з активацією якої пов'язані основні побічні ефекти ІАПФ – сухий кашель (1–39 % переважно в жінок) та ангіоневротичний набряк. З іншого боку, запобігання розпаду брадікініну не тільки підвищує ризик розвитку побічних ефектів ІАПФ, але і є важливим компонентом їхньої органопротективної дії [12,35].

Для усіх БРА характерна висока афінність до АТ1-рецепторів, що перевищує таку в АТ II в тисячі разів. Незважаючи на це, продовжується дискусія щодо можливих ідентичних і клас-специфічних ефектів сартанів щодо системного АТ, показників кардіоваскулярного ремоделювання, здатності до органопротекції, коморбідності тощо. Зокрема, Н. М. Abraham et al. (2015) вважають, що особливості метаболізму та фармакології різних БРА зумовлюють відмінності в дії препаратів на організм, сприяючи реалізації плейотропних ефектів, у зв'язку з чим деякі властивості будь-якого окремого сартану не можна транслювати на групу загалом, тобто кожен БРА характеризується специфічними фармакологічними властивостями, котрі можуть впливати на його індивідуальну клінічну ефективність [6,19].

Отже, з'ясування особливостей впливу епросартану та телмісартану на показники кардіоваскулярного ремоделювання, мозкового кровотоку та варіабельності серцевого ритму у хворих на ГХ із додатковими ФР можна вважати актуальним завданням сучасної медицини.

## Мета роботи

Дослідити вплив додаткових факторів ризику на показники артеріального тиску, кардіоваскулярного ремоделювання та стан вегетативного забезпечення серцевого ритму у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії у процесі лікування епросартаном і телмісартаном.

## Матеріали і методи дослідження

Після підписання інформованої згоди до дослідження залучено 100 хворих (53 чоловіки та 47 жінок, середній вік – 52,69 ± 8,70 року) на ГХ II стадії, 1 та 2 ступенів із низьким і помірним ризиком розвитку серцево-судинних ускладнень.

До критеріїв виключення належали: наявність у хворого вторинної АГ, інфаркту міокарда, інсультів в анамнезі, гемодинамічно значущих порушень серцевого ритму, хронічної ниркової та печінкової недостатності, цукрового діабету, серцевої недостатності, вищої за II функціональний клас.

Статус курця мали (СК) 30 %, ГХЕ понад 5 ммоль/л – 69 %, НВТ – 82 % хворих на ГХ. Методом випадкової рандомізації половині хворих призначений епросартан

у добовій дозі 600 мг, решта отримувала телмісартан у добовій дозі 80 мг протягом 6 місяців.

Хворі на ГХ з одним будь-яким ФР (ГХЕ, палінням або НВТ) не розрізнялись між собою за зростом і були зіставні за площею поверхні тіла. Хворі на ГХ із ГХЕ або НВТ були зіставні за віком, тоді як курці виявились вірогідно молодшими. За показником індексу маси тіла (ІМТ) групи хворих на ГХ із НВТ і з будь-яким іншим ФР (ГХЕ або СК) не розрізнялись між собою.

До початку лікування та через 6 місяців терапії всім хворим виконали загально-клінічні та інструментальні обстеження з застосуванням відповідних методик, як-от: Холтеровське моніторування ЕКГ з аналізом варіабельності серцевого ритму (діагностична система CardioLab 2000) [31], добове моніторування артеріального тиску (апарат CardioTens 01, Meditech) [26], ехокардіографію та дуплексну імпульсно-хвильову доплерографію екстракраніальних судин (апарат Esaote My Lab 50) [5].

Наявність і ступінь ожиріння визначали на підставі розрахунку ІМТ. Надмірну масу тіла діагностували при індексі маси тіла від 25,0 до 29,9 кг/м<sup>2</sup>, ожиріння – при ІМТ понад 30 кг/м<sup>2</sup> [34].

Концентрацію загального холестерину (ЗХ) у сироватці крові вимірювали колориметричним методом за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора Olympus AU 640 (Японія).

За два тижні до початку дослідження хворі не застосовували будь-яких антигіпертензивних засобів.

Статистичне опрацювання даних здійснили з застосуванням пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, USA, № ліцензії AXXR712D833214FAN5). Нормальність розподілу кількісних ознак аналізували за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Залежно від розподілу ознаки вірогідність відмінностей між двома незалежними групами визначали за критерієм Стьюдента або Манна–Уїтні. Вірогідність змін показників до лікування та після здійснили за критерієм Манна–Уїтні. З метою вивчення впливу додаткових факторів кардіоваскулярного ризику (ожиріння, гіперхолестеринемії, тютюнопаління) на антигіпертензивну ефективність епросартану та телмісартану проведений аналіз Каплана–Мейєра з використанням Gehan's Wilcoxon Test та Log-Rank Test. Усі статистичні тести були двобічними, значущим вважали рівень  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

Під впливом терапії епросартаном упродовж 6 місяців спостерігали зниження «офісного» систолічного АТ (САТ) на 30 % ( $p = 0,001$ ), діастолічного АТ (ДАТ) – на 21,6 % ( $p = 0,001$ ), пульсового АТ (ПАТ) – на 41,4 % ( $p = 0,001$ ) та середнього АТ (АТ сер.) – на 25,5 % ( $p = 0,001$ ). Вірогідних змін частоти серцевих скорочень не відбулось.

Згідно з результатами дослідження POWER, за період лікування епросартаном САТ знизився в середньому на  $25,8 \pm 14,4$  мм рт. ст., ДАТ – на  $12,6 \pm 9,5$  мм рт. ст. і ПАТ – на  $13,2 \pm 13,5$  мм рт. ст. ( $p < 0,001$ ) порівняно з початковим рівнем. Унаслідок зниження АТ ризик розвитку ССЗ, що оцінюється за шкалою SCORE, зменшився фактично на 40 %. Побічні ефек-

ти відзначені тільки у 1,8 % пацієнтів за весь період спостереження [20].

A. Goudev et al. (2012) у своєму дослідженні підтвердили отримані нами результати, що стосуються високої ефективності епросартану стосовно здатності знижувати переважно САТ і ПАТ, часто зумовлені гіперактивацією симпатоадреналової системи [30].

Субаналіз антигіпертензивної ефективності епросартану залежно від ФР виявив наступне: епросартан продемонстрував високу антигіпертензивну ефективність щодо впливу на САТ у хворих на ГХ із наявністю/відсутністю тютюнопаління. Однак вплив епросартану на ДАТ був ліпшим у хворих на ГХ, які не мають СК (Gehan's Wilcoxon Test:  $p = 0,04660$ ).

Усі хворі на ГХ незалежно від наявності або відсутності підвищеного рівня ЗХ досягли цільового рівня САТ під впливом епросартану. Спостерігалась тенденція до більшої антигіпертензивної дії препарату щодо ДАТ у хворих на ГХ і нормальним ЗХ (Log-Rank Test:  $p = 0,28580$ ).

Антигіпертензивний ефект епросартану щодо САТ не залежав від наявності/відсутності ожиріння у хворих на ГХ – всі 100 % хворих досягли цільового рівня АТ. Аналіз Каплана–Мейєра дав змогу встановити, що наявність/відсутність ожиріння істотно не впливає на показники ДАТ у хворих на ГХ (Log-Rank Test:  $p = 0,78504$ ).

Зміни структурно-геометричних показників серця під впливом терапії епросартаном характеризувались регресією гіпертофії лівого шлуночка (ГЛШ), як-от: зменшенням товщини його задньої стінки в діастолу на 15,8 % ( $p = 0,01$ ) та в систолу на 14,3 % ( $p < 0,005$ ), товщини міжшлуночкової перетинки в діастолу на 16,7 % ( $p < 0,05$ ) та в систолу на 14,7 % ( $p < 0,025$ ), відносної товщини стінки на 19,6 % ( $p < 0,01$ ), індексу маси міокарда (ІММ) на 17,9 % ( $p < 0,005$ ). Систолічні та діастолічні розміри й об'єми порожнини лівого шлуночка (ЛШ) залишились незмінними, що за умов регресії гіпертрофії супроводжувалось вірогідним збільшенням індексу об'єм – маса на 26,6 % ( $p < 0,01$ ). Регресія ГЛШ також супроводжувалась поліпшенням його діастолічного наповнення, про що свідчило вірогідне збільшення на 13,2 % ( $p < 0,05$ ) фракції спорощення лівого передсердя та зменшення часу ізометричного розслаблення на 9,9 % ( $p < 0,05$ ). Вірогідних змін показників систолічної функції ЛШ не відбулось. Внутрішньоміокардіальне напруження зменшилось на 32,9 % ( $p < 0,001$ ).

Згідно з даними наукової літератури, при лікуванні епросартаном зменшення ІММ ЛШ здійснювалось шляхом товщини стінок ЛШ при незначній динаміці кінцево-діастолічного розміру. На тлі терапії також зменшився час ізвольомічного розслаблення, ступінь зміни якого залежав від зниження ІММ ЛШ. Епросартан вірогідно покращував показники раннього наповнення ЛШ і передсердної систоли. Тривале лікування препаратом призводило до вираженішої корекції діастолічної функції ЛШ, що характеризувалось сприятливим перерозподілом трансмітрального кровотоку в бік збільшення швидкості раннього наповнення ЛШ і зменшення періоду ізвольомічного розслаблення, до кінця 6 місяця терапії відзначалась тенденція до зміни типів геометрії ЛШ переважно внаслідок трансформації



концентричного варіанта в ексцентричний і меншою мірою – шляхом нормалізації геометрії. Препарат запобігає розвитку дисфункції ЛШ і послаблює прогресуюче ремоделювання ЛШ у пацієнтів з АГ і наявністю діастолічної дисфункції [1,9,36].

Водночас Л. Ш. Хафізова зі співавт. (2015) у своєму дослідженні показали, що терапія епросартаном у хворих з АГ характеризувалась вірогідним зниженням вираженості ГЛШ. Відзначимо, що регресія гіпертрофії зумовлена не тільки вірогідним зниженням товщини міжшлуночкової перетинки та задньої стінки лівого шлуночка, але і в результаті зміни кінцевого діастолічного розміру ЛШ, при цьому комбінація з леркандипіном збільшувала вірогідність цих змін [4].

Епросартан спричиняв позитивний вплив на кровотік у каротидному басейні, про що свідчить збільшення максимальної лінійної швидкості в лівій внутрішній сонній артерії на 2,8 % ( $p < 0,05$ ). Під впливом епросартану поліпшився кровотік і в вертебробазиллярному басейні: на 24,3 % ( $p < 0,05$ ) знизився індекс резистентності в основній артерії та збільшився на 8,3 % ( $p < 0,05$ ) систоло-діастолічний індекс у правій хребтовій артерії.

За даним наукової літератури, після лікування епросартаном у хворих на ГХ відбувалось вірогідне збільшення лінійної швидкості кровотоку в середній мозковій і внутрішній сонній артеріях, препарат моделював цереброваскулярний резерв, підвищуючи стійкість ауторегуляторних здібностей головного мозку [3].

Вплив епросартану на показники екстракраніального кровотоку безпосередньо залежить від тривалості терапії. Так, через місяць лікування констатували тільки стійку тенденцію до поліпшення швидкісних показників мозкового кровотоку. При цьому спостерігалось зменшення судинного опору в усіх досліджуваних екстра- та інтракраніальних басейнах і збільшення індексу пульсації в вертебральних артеріях, що сприяло поліпшенню пружно-еластичних властивостей досліджуваних судин. При тривалому призначенні епросартану вірогідно знижувався церебральний опір в екстракраніальних судинах. При цьому такі інформативні відносно церебропротекції показники, як максимальна, систолічна та діастолічна швидкості кровотоку в екстракраніальних судинах досягали референтних значень [7,8,14].

Епросартан не чинив вірогідного впливу на переважну більшість показників вегетативного балансу за винятком загальної потужності спектра, що збільшилась на 14,3 % ( $p < 0,05$ ).

За даними J. P. Fisher et al. (2012), препарат оптимізує вегетативний профіль у хворих з АГ завдяки зниженню добового коефіцієнта симпато-вагальної рівноваги на 18 % від початкового, при цьому абсолютна величина зниження ІММ ЛШ корелювала зі ступенем збільшення потужності височастотного компонента спектра [10,28].

Антигіпертензивна терапія телмісартаном протягом півроку викликає вірогідне зниження «офісного» САТ на 24,8 % ( $p < 0,001$ ), ДАТ – на 20 % ( $p < 0,001$ ), ПАТ – на 31,8 % ( $p < 0,001$ ), АТ сер. – 22,2 % ( $p < 0,001$ ). Вірогідних змін частоти серцевих скорочень не відбулось.

У дослідженні PROTECTION доведена здатність телмісартану забезпечувати вірогідне зниження АТ протягом 24 годин після одноразово прийнятої дози, запо-

бігати розвитку вранішньої АГ, котра є безпосередньою причиною розвитку серцево-судинних ускладнень [39].

Субаналіз антигіпертензивної ефективності телмісартану залежно від факторів ризику виявив: у хворих на ГХ, які мають СК або ні, телмісартан був однаково ефективний у досягненні цільового рівня САТ. Різниця в досягненні цільового ДАТ хоча й була, але не досягла статистично вірогідного рівня (Log-Rank Test:  $p = 0,76169$ ).

Телмісартан був однаково ефективний у досягненні цільового САТ у всіх 100 % хворих на ГХ із нормальним і підвищеним ЗХ. Спостерігалась різниця, проте невірогідна (Log-Rank Test:  $p = 0,80333$ ), антигіпертензивної дії телмісартану на ДАТ у хворих на ГХ без/із ГХЕ.

Ожиріння або його відсутність також вірогідно не вплинули на ефективність антигіпертензивної терапії телмісартаном. Усі хворі на ГХ незалежно від ваги тіла досягли цільового САТ за даними добового моніторингу АТ. У п'яти хворих на ГХ із НВТ не вдалося знизити ДАТ нижче за 85 мм рт. ст. Однак аналіз Каплана–Мейера не виявив вірогідної різниці ефективності дії телмісартану на ДАТ у хворих на ГХ з ожирінням та нормальною вагою (Log-Rank Test:  $p = 0,26991$ ).

Телмісартан, як і епросартан, викликає регресію ГЛШ. Спостерігалось вірогідне зменшення товщини задньої стінки в діастолу на 13,9 % ( $p < 0,001$ ) та на 8,4 % ( $p < 0,01$ ) в систолу, товщини міжшлуночкової перетинки в діастолу на 16,9 % ( $p < 0,025$ ) та на 15,1 % ( $p < 0,005$ ) у систолу, відносною товщини стінки на 20,4 % ( $p < 0,001$ ). ІММ ЛШ зменшився на 16,5 %, а внутрішньоміокардіальне напруження на 29,7 % ( $p < 0,001$ ). Порожнини серця залишились незмінними, а індекс об'єм – маса ЛШ збільшився на 18,0 % ( $p < 0,005$ ). Впливу на систолічну функцію ЛШ не спостерігали. Поліпшилось діастолічне наповнення лівого шлуночка, про що свідчить вірогідне збільшення відношення інтегральних швидкостей раннього до передсердного наповнення лівого шлуночка на 12 % ( $p < 0,05$ ).

У дослідженні TRANSCEND встановлено, що через 5 років спостереження телмісартан значно краще (на 37 %) знижував вірогідність розвитку ГЛШ, ніж плацебо [37].

Дослідження, котрі здійснювались пізніше і де вивчався вплив телмісартану на процеси кардіального ремоделювання, виявили, що препарат поліпшував функцію міокарда завдяки зменшенню ГЛШ і зниженню інтенсивності фіброзу, а також знижував частоту рецидивів фібриляції передсердь [16].

Телмісартан вірогідно знижував (на 8,5 %;  $p = 0,03$ ) рівень ЗХ у хворих на ГХ. Результати, що одержали, підтверджуються експериментальними дослідженнями, зокрема E. J. Lezcano et al. (2014) на моделі щурів Zucker (ZDF: Gmi<sup>TM</sup>) (цукровий діабет II типу, дисліпідемія, ожиріння), та показали: телмісартан шляхом стимуляції рецепторів PPAR $\gamma$  здатний уповільнити маніфестацію гіперглікемії та зменшити вміст ліпопротеїдів низької щільності [13].

Результати дослідження «STAR» свідчать, що телмісартан може здійснювати сприятливий вплив на метаболізм ліпідів і глюкози на додаток до зниження АТ, враховуючи вірогідне зменшення рівня ЗХ, препарат

має потенційне показання для лікування хворих на ГХ у поєднанні з дисліпідемією [22].

Телмісартан чинив позитивний вплив на каротидний кровотік шляхом збільшення максимальної лінійної швидкості в лівій загальній сонній артерії на 2,6 % ( $p < 0,02$ ), середньої лінійної швидкості у правій внутрішній сонній артерії на 3,5 % ( $p < 0,05$ ), систоло-діастолічного індексу у правій середній мозковій артерії на 8,9 % ( $p < 0,05$ ) та зниження індексу резистентності на 1,3 % ( $p < 0,01$ ) у правій загальній сонній артерії. Під впливом телмісартану вірогідних змін кровотоку в вертебробазиллярному басейні не відбулось.

G. M. Sare et al. (2013) у своєму дослідженні показали, що перша доза телмісартану не знижувала АТ і не впливала на показники церебральної гемодинаміки в пацієнтів із нещодавно перенесеним ішемічним інсультом. Але через 90 днів лікування спостерігалось значуще зниження системного АТ і тиску в мозкових судинах без істотного зменшення мозкової перфузії, що свідчить про необхідність тривалого приймання препарату [21].

Вивчаючи вплив телмісартану на показники мозкового кровотоку, встановили, що у хворих на ГХ із хронічною цереброваскулярною недостатністю препарат показав хорошу антигіпертензивну активність, відсутність негативного впливу на показники кровотоку в півкулях мозку, помірне збільшення регіонального мозкового кровотоку фактично в усіх мозкових басейнах [24].

В експерименті на щурах короточасне лікування телмісартаном призводило до зниження системного АТ і не впливало на структурне ремоделювання середніх мозкових артерій, але препарат позитивно впливав на артеріальний тиск, адаптуючи його до умов відносної гіпотензії [29].

У дослідженні N. N. Puramet et al. (2016) зроблено висновок про однакову ефективність телмісартану та лозартану в контролі АТ і поліпшенні когнітивних функцій у пацієнтів із гіпертонічною хворобою, що зумовлене поліпшенням церебральної гемодинаміки [17].

При дослідженні впливу телмісартану на показники вегетативного балансу не встановили змін активності вегетативної нервової системи. У науковій літературі є нечисленні дані про позитивний вплив телмісартану на показники вегетативного забезпечення серцевого ритму, зокрема за даними M. Karas et al. (2005) терапія телмісартаном значно підвищує парасимпатичну активність як в денний, так і в нічний час, при цьому лікування раміприлом корегує тільки денні показники активації парасимпатичної нервової системи [23].

## Висновки

1. Застосування епросартану протягом пірроку у хворих на ГХ із додатковими факторами кардіоваскулярного ризику ефективно знижує артеріальний тиск, викликає регресію гіпертрофії та поліпшує діастолічне наповнення лівого шлуночка, кровотік у каротидному та вертебробазиллярному басейнах, підвищує загальну потужність спектра варіабельності серцевого ритму, не впливає на рівень загального холестерину. Епросартан однаково ефективний у хворих на ГХ з ожирінням та

гіперхолестеринемією щодо зниження САТ і ДАТ. Тютюнопаління не знижує антигіпертензивної ефективності епросартану щодо систолічного тиску, проте він менш ефективний щодо зниження діастолічного артеріального тиску у хворих на ГХ, які палять.

2. У хворих на ГХ із додатковими факторами кардіоваскулярного ризику застосування телмісартану впродовж пірроку супроводжується вірогідним зниженням артеріального тиску, регресією гіпертрофії міокарда та поліпшенням діастолічної функції лівого шлуночка, зниженням рівня загального холестерину, покращенням кровотоку в каротидному басейні. Однак був відсутній вплив телмісартану на вегетативний баланс і кровотік у вертебробазиллярному басейні. Тютюнопаління, ожиріння, гіперхолестеринемія не знижують антигіпертензивної ефективності телмісартану щодо САТ і ДАТ.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні електричної активності міокарда передсердь і шлуночків у хворих на ГХ із додатковими факторами ризику та її зміни під впливом телмісартану та епросартану.

## Список літератури

- [1] Динамика обратного ремоделирования сердца и сосудов у больных гипертонической болезнью в зависимости от выбора и тактики назначения антигипертензивной терапии со старта / Н.А. Ковалевская, Н.А. Козилова, А.В. Бушмакина, И.М. Шатунова // Системные гипертензии. – 2012. – Т. 9. – №2. – С. 5–10.
- [2] Козловский В.И. Приверженность к терапии у пациентов с артериальной гипертензией II степени: обзор литературы и собственные данные / В.И. Козловский, А.В. Симанович // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13. – №2. – С. 6–16.
- [3] Рипп Т.М. Нарушение процессов цереброваскулярной регуляции и когнитивной функции у пациентов с артериальной гипертензией, возможности коррекции антагонистом рецепторов к ангиотензину II / Т.М. Рипп, В.Ф. Мордовин, Р.С. Карлов // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16. – №5. – С. 504–510.
- [4] Эффективность двойной комбинированной терапии у больных артериальной гипертензией с высоким кардиоваскулярным риском / Л.Ш. Хафизова, Г.А. Хамидуллаева, Д.Р. Курбанова, Б.Ш. Каримова // Артериальная гипертензия. – 2015. – №4. – С. 58–64.
- [5] Aaslid R. Cerebral hemodynamics / R. Aaslid // Transcranial Doppler / eds.: D.W. Newell, R. Aaslid. – N. Y.: Raaven, 1992. – P. 500.
- [6] Abraham H.M.A. FASH, FACP, FAHA The Comparative Efficacy and Safety of the Angiotensin Receptor Blockers in the Management of Hypertension and Other Cardiovascular Diseases / H.M.A. Abraham, C.M. White, W.B. White // Drug Saf. – 2015. – Vol. 38(1). – P. 33–54.
- [7] Angiotensin II and the vascular phenotype in hypertension / C. Savoia, D. Burger, N. Nishigaki et al. // Expert Rev. Mol. Med. – 2011. – Vol. 13. – P. 11.
- [8] Angiotensin receptor blockers and angiogenesis: clinical and experimental evidence / L.M. Willis, A.B. E-Remessy, P.R. Somanath et al. // Clin. Sci. – 2011. – Vol. 120(8). – P. 307–319.
- [9] Angiotensin receptor blockers: Focus on cardiac and renal injury / S. Arumugam, R. Sreedhar, R.A. Thandavarayan et al. // Trends Cardiovasc. Med. – 2016. – Vol. 26(3). – P. 221–228.
- [10] AT1 antagonism by eprosartan lowers heart rate variability and baroreflex gain / K. Heusser, J. Vitkovsky, R.E. Schmieder, H.P. Schobel // Auton Neurosci. – 2003. – Vol. 107(1). – P. 45–51.
- [11] Borghi C. Combination therapy in the extended cardiovascular continuum: a focus on perindopril and amlodipine / C. Borghi, M. Morbini, A.F. Cicero // J. Ardiiovasc. Med. – 2015. – Vol. 16. – Issue 5. – P. 390–399.
- [12] Brown T. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema: A review of the literature / T. Brown, J. Gonzalez, C. Monteleone // J. Clin. Hypertens. – 2017. – Vol. 19. – Issue 12. – P. 1377–1382.
- [13] Caloric restriction or telmisartan control dyslipidemia and nephropathy in obese diabetic Zucker rats / E.J. Lezczano, P. Iñigo, A.M. Larraga et al. // Diabetol. Metab. Syndr. – 2014. – Vol. 6(1). – P. 6–10.
- [14] Cardiovascular and cerebrovascular outcomes of long-term angiotensin receptor blockade: meta-analyses of trials in essential hypertension / L. Akioyamen, M. Levine, D. Sherifali et al. // J. Am. Soc. Hypertens. – 2016. – Vol. 10(1). – P. 55–69.e1.

- [15] Cardiovascular Continuum 25 years – The Evolution of an Etiopathophysiology / E.T. Mesquita, D. dos Santos Bitencourt, A.V. Demarchi et al. // *Model Int. J. Cardiovasc. Sci.* – 2016. – Vol. 29(1). – P. 56–64.
- [16] Cardiological Society of India: Cardiology Update 2014 / H.K. Chopra, S. Ramakrishnan, A. Pancholia, & M. Bansal. – New Delhi: JP Medical Ltd., 2015. – 1298 p.
- [17] Comparison of efficacy of telmisartan with losartan in patients of essential hypertension with cognitive impairment / N.N. Puram, V.B. Karande, J.B. Ramanand et al. // *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 5. – Issue 3. – P. 702–706.
- [18] Complete renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) blockade in high-risk patients: recent insights from renin blockade studies / S. Rajagopalan, G.L. Bakris, W.T. Abraham et al. // *Hypertension.* – 2013. – Vol. 62. – P. 444.
- [19] Düsing R. Pharmacological interventions into the rennin-angiotensin system with ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: effects beyond blood pressure lowering / R. Düsing // *Theor. Adv. Cardiovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 10(3). – P. 151–161.
- [20] Effect of Antihypertensive Therapy on SCORE-Estimated Total Cardiovascular Risk: Results from an Open-Label, Multinational Investigation-The POWER Survey / G. De Backer, R.J. Petrella, A.R. Goudev et al. // *Int. J. Hypertens.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 165789.
- [21] Effect of Telmisartan on Cerebral and Systemic Haemodynamics in Patients with Recent Ischaemic Stroke: A Randomised Controlled Trial / G.M. Sare, A. Ghadami, S. Ankoletkar et al. // *Int. Scholar. Res. Notices.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 9 p.
- [22] Effect of telmisartan on cholesterol levels in patients with hypertension – Saga Telmisartan Aggressive Research (STAR) / T. Inoue, T. Morooka, K. Moroe et al. // *Horm. Metab. Res.* – 2007. – Vol. 39(5). – P. 372–376.
- [23] Effect of the rennin-angiotensin system or calcium channel blockade on the circadian variation of heart rate variability, blood pressure and circulating catecholamines in hypertensive patients / M. Karas, Y. Lacourcière, A.R. LeBlanc et al. // *J. Hypertens.* – 2005. – Vol. 23(6). – P. 1251–1260.
- [24] Effects of telmisartan on the cerebral circulation of hypertensive patients with chronic-stage stroke / I. Deguchi, D. Furuya, T. Fukuoka, N. Tanahashi // *Hypertens. Res.* – 2012. – Vol. 35(12). – P. 1171–1175.
- [25] European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR) / J. Perk, G. De Backer, H. Gohlke et al. // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33. – P. 1635–1701.
- [26] European Society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring on behalf of the European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring / E. O'Brien, G. Parati, G. Stergiou et al. // *J. Hypertens.* – 2013. – Vol. 31(9). – P. 1731–1768.
- [27] Feng Y.H. Dual Blockade of the Renin-angiotensin-aldosterone System in Type 2 Diabetic Kidney Disease / Y.H. Feng, P. Fu // *Chin. Med. J.* – 2016. – Vol. 129(1). – P. 81–87.
- [28] Fisher J.P. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension / J.P. Fisher, J.F.R. Paton // *J. Hum. Hypertens.* – 2012. – Vol. 26. – P. 463–475.
- [29] Foulquier S. Impact of short-term treatment with telmisartan on cerebral arterial remodeling in SHR / S. Foulquier, I. Lartaud, F. Dupuis // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(10). – P. e110766.
- [30] Goudev A. Effect of eprosartan-based therapy on systolic blood pressure and total cardiovascular risk in a large international population: preliminary report of the observational POWER study / A. Goudev, J.P. Berrou, A. Pathak; POWER Investigators // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2012. – Vol. 8. – P. 563–568.
- [31] Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task force of the European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Circulation.* – 1996. – Vol. 93. – P. 1043–1065.
- [32] Kamo T. Pleiotropic Effects of Angiotensin II Receptor Signaling in Cardiovascular Homeostasis and Aging / T. Kamo, H. Akazawa, I. Komuro // *Int. Heart J.* – 2015. – Vol. 56(3). – P. 249–254.
- [33] Kim S.A. Vasculopathy of Aging and the Revised Cardiovascular Continuum / S.A. Kim, J.B. Park, M.F. O'Rourke // *Pulse.* – Basel. – 2015. – Vol. 3(2). – P. 141–147.
- [34] Must A. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/h<sup>2</sup>) and triceps skinfold thickness / A. Must, G.E. Dallal, W.H. Dietz // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1991. – Vol. 53(4). – P. 839–846.
- [35] Pharmacogenetics of ACE inhibitor-induced angioedema and cough: a systematic review and meta-analysis / S.H. Mahmoodpour, M. Leusink, L. van der Putten et al. // *Pharmacogenomics.* – 2013. – Vol. 14(3). – P. 249–260.
- [36] Pokharel P. Regression of left ventricular hypertrophy: Lessons from clinical trials / P. Pokharel, J.N. Bella // *OA Evidence-Based Med.* – 2013. – Vol. 1(2). – P. 13.
- [37] Renin-angiotensin system blockade and cognitive function in patients at high risk of cardiovascular disease: analysis of data from the ONTARGET and TRANSCEND studies / C. Anderson, K. Teo, P. Gao et al. // *Lancet Neurol.* – 2011. – Vol. 10(1). – P. 43–53.
- [38] The continuum of personalized cardiovascular medicine: a position paper of the European Society of Cardiology / P. Kirchhof, M.R. Cowie, Th. Eschenhagen et al. // *Eur. Heart J.* – 2014. – Vol. 35. – Issue 46. – P. 3250–3257.
- [39] Weber M. The telmisartan programme of research to show Telmisartan End-organ protection (PROTECTION) programme / M. Weber // *J. Hypertens.* – 2003 (suppl.). – Vol. 21(6). – P. S37–46.

## References

- [1] Kovalevskaya, N. A., Koziolova, N. A., Bushmakina, A. V., & Shatunova, I. M. (2012). Dinamika obratnogo remodelirovaniya serdca i sosudov u bol'nykh gipertonicheskoy bolezn'yu v zavisimosti ot vybora i taktiki naznacheniya antigipertenzivnoy terapii so starta [Dynamics of reverse remodeling of the heart and blood vessels in patients with hypertensive disease, depending on the choice and tactics of prescribing antihypertensive therapy from the start]. *Sistemnye gipertenzii*, 9(2), 5–10. [in Russian].
- [2] Kozlovskij, V. I., & Simanovich, A. V. (2014). Priverzhennost' k terapii u pacientov s arterial'noj gipertenziej II stepeni: obzor literatury i sobstvennye dannye [Adherence to therapy in patients with arterial hypertension II degree: a review of lit. and own data]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 13(2), 6–16. [in Russian].
- [3] Ripp, T. M., Mordovin, V. F., & Karpov, R. S. (2010). Narushenie processov cerebrovaskulyarnoy regulyacii i kognitivnoj funkcii u pacientov s arterial'noj gipertoniej, vozmozhnosti korekcii antagonistom receptorov k angiotenzinu II [Impairment of cerebrovascular regulation and of cognitive function in hypertensive patients: A possibility for correction by angiotensin II receptor blocker]. *Arterial'naya gipertenziya*, 16(5), 504–510. [in Russian].
- [4] Khafizova, L. Sh., Khamidullaeva, H. A., Kurbanova, D. R., & Karimova, B. Sh. (2015). E'ffektivnost' dvojnogo kombinirovannoy terapii u bol'nykh arterial'noj gipertenziej s vysokim kardiovaskulyarnym riskom [Efficiency of Double Combined Therapy in Hypertensive Patients with High Cardiovascular Risk]. *Arterial'naya gipertenziya*, 4, 58–64. [in Russian].
- [5] Aaslid, R., & Newell, D. (Eds.) (1992). *Transcranial Doppler*. New York: Raven Press.
- [6] Abraham, H. M., White, C. M., & White, W. B. (2014). The Comparative Efficacy and Safety of the Angiotensin Receptor Blockers in the Management of Hypertension and Other Cardiovascular Diseases. *Drug Safety*, 38(1), 33–54. doi: 10.1007/s40264-014-0239-7.
- [7] Savoia, C., Burger, D., Nishigaki, N., Montezano, A., & Touyz, R. M. (2011). Angiotensin II and the vascular phenotype in hypertension. *Expert Rev. Mol. Med.*, 13, 11. doi: 10.1017/S1462399411001815.
- [8] Willis, L. M., El-Remessy, A. B., Somanath, P. R., Deremer, D. L., & Fagan, S. C. (2011). Angiotensin receptor blockers and angiogenesis: clinical and experimental evidence. *Clinical Science*, 120(6), 307–319. doi: 10.1042/CS20100389.
- [9] Arumugam, S., Sreedhar, R., Thandavarayan, R., Karuppagounder, V., Krishnamurthy, P., Suzuki, K., et al (2016). Angiotensin receptor blockers: Focus on cardiac and renal injury. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 26(3), 221–228. doi: 10.1016/j.tcm.2015.06.004.
- [10] Heusser, K., Vitkovsky, J., Schmieder, R., & Schobel, H. (2003). AT1 antagonism by eprosartan lowers heart rate variability and baroreflex gain. *Autonomic Neuroscience*, 107(1), 45–51. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S1566-0702(03)00053-5.
- [11] Borghi, C., Morbini, M., & Cicero, A. (2015). Combination therapy in the extended cardiovascular continuum. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 16(5), 390–399. doi: 10.2459/JCM.0000000000000240.
- [12] Brown, T., Gonzalez, J., & Monteleone, C. (2017). Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema: A review of the literature. *J. Clin. Hypertens*, 19(12), 1377–1382. doi: 10.1111/jch.13097.
- [13] Lezcano, E. J., Iñigo, P., Larraga, A. M., Barranquero, C., Gimenez, I., & Osada, J. (2014). Caloric restriction or telmisartan control dyslipidemia and nephropathy in obese diabetic Zucker rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 6(1), 10. doi: 10.1186/1758-5996-6-10.
- [14] Akiyama, L., Levine, M., Sherifali, D., O'Reilly, D., Frankfurter, C., Pullenayegum, E., et al. (2016). Cardiovascular and cerebrovascular outcomes of long-term angiotensin receptor blockade: meta-analyses of trials in essential hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension*, 10(1), 55–69.e1. doi: 10.1016/j.jash.2015.11.005.
- [15] Mesquita, E., Demarchi, A., Bitencourt, D., Machado, P., Badran, P., Almeida, & R., Jorge, A. (2016). Cardiovascular Continuum 25 years – The Evolution of an Etiopathophysiology Model. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, 29(1), 56–64. doi: 10.5935/2359-4802.20160002.



- [16] Chopra, H., Ramakrishnan, S., Pancholia, A., & Bansal, M. (2015). *Cardiological Society of India*. New Delhi: JP Medical Ltd.
- [17] Puram, N., Karande, V., Ramanand, J., Ramanand, S., Halasawadekar, N., & Bhosale, R. (2016). Comparison of efficacy of telmisartan with losartan in patients of essential hypertension with cognitive impairment. *International Journal of Basic and Clinical Pharmacology*, 5(3), 702–706. doi: 10.18203/2319-2003.ijbcp20161504.
- [18] Rajagopalan, S., Bakris, G., Abraham, W., Pitt, B., & Brook, R. (2013). Complete Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) Blockade in High-Risk Patients: Recent Insights From Renin Blockade Studies. *Hypertension*, 62(3), 444–449. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01504.
- [19] Düsing, R. (2016). Pharmacological interventions into the renin-angiotensin system with ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists: effects beyond blood pressure lowering. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*, 10(3), 151–161. doi: 10.1177/1753944716644130.
- [20] De Backer, G., Petrella, R., Goudev, A., Radaideh, G., Rynkiewicz, A., & Pathak, A. (2013). Effect of Antihypertensive Therapy on SCORE-Estimated Total Cardiovascular Risk: Results from an Open-Label, Multinational Investigation – The POWER Survey. *International Journal of Hypertension*, 2013, 165789. doi: 10.1155/2013/165789.
- [21] Sare, G., Ghadami, A., Ankolekar, S., England, T., Hammonds, F., Adrian, M., et al. (2013). Effect of Telmisartan on Cerebral and Systemic Haemodynamics in Patients with Recent Ischaemic Stroke: A Randomised Controlled Trial. *ISRN Stroke*, 2013, 9. doi: 10.1155/2013/587954.
- [22] Inoue, T., Morooka, T., Moroe, K., Ikeda, H., & Node, K. (2007). Effect of Telmisartan on Cholesterol Levels in Patients with Hypertension – Saga Telmisartan Aggressive Research (STAR). *Hormone and Metabolic Research*, 39(5), 372–376. doi: 10.1055/s-2007-976544.
- [23] Karas, M., Lacourcière, Y., LeBlanc, A., Nadeau, R., Dubé, B., Florescu, M., et al. (2005). Effect of the renin-angiotensin system or calcium channel blockade on the circadian variation of heart rate variability, blood pressure and circulating catecholamines in hypertensive patients. *Journal of Hypertension*, 23(6), 1251–1260. doi: 10.1097/01.hjh.0000170389.69202.53.
- [24] Deguchi, I., Furuya, D., Fukuoka, T., & Tanahashi, N. (2012). Effects of telmisartan on the cerebral circulation of hypertensive patients with chronic-stage stroke. *Hypertension Research*, 35(12), 1171–1175. doi: 10.1038/hr.2012.105.
- [25] Perk, J., De Backer, G., Gohlke, H., Graham, I., Reiner, Z., Verschuren, M., et al. (2012). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) \* Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European Heart Journal*, 33(13), 1635–1701. doi: 10.1093/eurheartj/ehs092.
- [26] O'Brien, E., Parati, G., Stergiou, G., Asmar, R., Beilin, L., Bilo, G., et al. (2013). European Society of Hypertension Position Paper on Ambulatory Blood Pressure Monitoring. *Journal of Hypertension*, 31(9), 1731–1768. doi: 10.1097/HJH.0b013e328363e964.
- [27] Fu, P., & Feng, Y. (2016). Dual Blockade of the Renin-angiotensin-aldosterone System in Type 2 Diabetic Kidney Disease. *Chinese Medical Journal*, 129(1), 81–87. doi: 10.4103/0366-6999.172599.
- [28] Fisher, J. P., & Paton, J. F. (2012). The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 26(8), 463–475. doi: 10.1038/jhh.2011.66.
- [29] Foulquier, S., Lartaud, I., & Dupuis, F. (2014). Impact of Short-Term Treatment with Telmisartan on Cerebral Arterial Remodeling in SHR. *PLoS ONE*, 9(10), e110766. doi: 10.1371/journal.pone.0110766.
- [30] Goudev, A., Berrou, J., & Pathak, A. (2012). Effect of eprosartan-based therapy on systolic blood pressure and total cardiovascular risk in a large international population: preliminary report of the observational POWER study. *Vascular Health and Risk Management*, 8, 563–568. doi: 10.2147/VHRM.S34834.
- [31] (1996). Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use. Task force of the European Society of cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 93(5), 1043–1065. doi: https://doi.org/10.1161/01.CIR.93.5.1043.
- [32] Kamo, T., Akazawa, H., & Komuro, I. (2015). Pleiotropic Effects of Angiotensin II Receptor Signaling in Cardiovascular Homeostasis and Aging. *International Heart Journal*, 56(3), 249–254. doi: 10.1536/ihj.14-429.
- [33] Kim, S., Park, J., & O'Rourke, M. (2015). Vasculopathy of Aging and the Revised Cardiovascular Continuum. *Pulse*, 3(2), 141–147. doi: 10.1159/000435901.
- [34] Must, A., Dallal, G. E., & Dietz, W. H. (1991). Must A. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht<sup>2</sup>) and triceps skinfold thickness. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53(4), 839–846.
- [35] Mahmoudpour, S., Leusink, M., Putten, L., Terreehorst, I., Asselbergs, F., de Boer, A., & Maitland-van der Zee, A. (2013). Pharmacogenetics of ACE inhibitor-induced angioedema and cough: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics*, 14(3), 249–260. doi: 10.2217/pgs.12.206.
- [36] Pokharel, P., & Bella, J. (2013). Regression of left ventricular hypertrophy: Lessons from clinical trials. *OA Evidence-Based Medicine*, 1(2), 13.
- [37] Anderson, C., Teo, K., Gao, P., Arima, H., Dans, A., Unger, T., et al. (2011). Renin-angiotensin system blockade and cognitive function in patients at high risk of cardiovascular disease: analysis of data from the ONTARGET and TRANSCEND studies. *The Lancet Neurology*, 10(1), 43–53. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70250-7.
- [38] Kirchhof, P., Sipido, K., Cowie, M., Eschenhagen, T., Fox, K., Katus, H., et al. (2014). The continuum of personalized cardiovascular medicine: a position paper of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*, 35(46), 3250–3257. doi: 10.1093/eurheartj/ehu312.
- [39] Weber, M. (2003). The telmisartan Programme of Research to show Telmisartan End-organ protection (PROTECTION) Programme. *Journal of Hypertension*, 21(6), S37–S46. doi: 10.1097/00004872-200307006-00007.

#### Відомості про авторів:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Візір-Тронова О. В., аспірант каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Сведения об авторах:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Визир-Тронова О. В., аспирант каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### Information about authors:

Syvolap V. V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Diseases with the Course of Patients' care, Zaporizhzhia State Medical University Ukraine.  
Vizir-Tronova O. V., MD, Postgraduate, Department of Propedeutics of Internal Medicine with the Course of Patients' Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

#### Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 09.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 20.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2017

# Морфологічні особливості великого дуоденального сосочка у хворих на холелітіаз

В. М. Клименко, Д. В. Сиволап, С. І. Тертишний

Запорізький державний медичний університет, Україна

Чимала поширеність патології великого дуоденального сосочка у хворих на жовчнокам'яну хворобу, труднощі діагностики та лікування зумовлюють актуальність дослідження.

**Мета роботи** – вивчити морфологічні особливості великого дуоденального сосочка у хворих на холелітіаз.

**Матеріали та методи.** Під час автопсії виконали забір фрагментів великого дуоденального сосочка від 30 померлих. Основну групу становили автопсійні зразки ( $n = 15$ ) від померлих, які мали камені в жовчному міхурі за умов відсутності ознак запалення стінок міхура та жовчовивідних шляхів. До контрольної групи залучили зразки біоматеріалу ( $n = 15$ ) від померлих, які не мали каменів та ознак запалення біліарної системи. Для дослідження вираженості стромального компонента використовували забарвлення трихромом за Масоном і за методом ван Гізона. Світлову мікроскопію здійснили за допомогою світлового мікроскопа Axioptan 2 («Carl Zeiss», ФРН) із використанням об'єктивів  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$  та окуляра  $\times 10$ . Для кількісного оцінювання вираженості склеротичних змін виконали морфометричне дослідження препаратів, що забарвлені пікрофуксином за ван Гізонам. Площу стромального компонента обчислювали в отриманих зображеннях у 5 полях зору при збільшенні  $\times 200$  за допомогою медичної програми аналізу та опрацювання цифрових зображень ImageJ, котра ініційована W. Rasband (1997–2012). Площа експресії являла собою відсоткове співвідношення кількості пікселів цифрового зображення зон експресії сполучнотканинного компонента та загальної кількості пікселів у зображенні.

**Результати.** Кількісний аналіз вираженості склеротичних змін у перидуктальній тканині в обох досліджуваних групах показав, що в контрольних спостереженнях площа експресії сполучнотканинного компонента становила  $18,84 \pm 3,14 \%$ , а в основній групі (у випадках жовчнокам'яної хвороби) –  $78,06 \pm 15,12 \%$  ( $p = 0,0031$ ).

**Висновки.** У хворих на жовчнокам'яну хворобу спостерігаються наслідки мікротравмування слизової оболонки загальної жовчної протоки та великого дуоденального сосочка, порушується характерна впорядкованість епітеліального вистилання, виявляються виражені дистрофічні зміни та десквамація епітелію у просвіті протоки, яка, своєю чергою, значно деформувалася на певних ділянках розростанням перифокальної сполучної тканини. Кількісний аналіз вираженості склеротичних змін у перидуктальній тканині виявив значне переважання площі експресії сполучнотканинного компонента у хворих на жовчнокам'яну хворобу ( $78,06 \pm 15,12 \%$ ) порівняно з контрольними спостереженнями ( $18,84 \pm 3,14 \%$ ), ( $p = 0,0031$ ). У разі тривалого перебігу жовчнокам'яної хвороби у перидуктальному просторі рееструвалася виражена колагенізація перидуктального простору з наявністю грубоволокнистої сполучної тканини та практично повною відсутністю гладеньком'язового компонента.

## Морфологические особенности большого дуоденального сосочка у больных холелитиазом

В. Н. Клименко, Д. В. Сиволап, С. И. Тертышный

Большая распространенность патологии большого дуоденального сосочка у больных с желчнокаменной болезнью, трудности диагностики и лечения обуславливают актуальность исследования.

**Цель работы** – изучить морфологические особенности большого дуоденального сосочка у больных холелитиазом.

**Материалы и методы.** Во время аутопсий выполнен забор фрагментов большого дуоденального сосочка от 30 умерших. Основную группу составили аутопсийные образцы ( $n = 15$ ) от умерших, которые имели камни в желчном пузыре при отсутствии признаков воспаления стенок пузыря и желчевыводящих путей. Контрольную группу составили образцы биоматериала ( $n = 15$ ) от умерших, которые не имели камней и признаков воспаления билиарной системы. Для исследования выраженности стромального компонента использовались окраска трихромом по Масону и по методу ван Гизона. Световая микроскопия проводилась при помощи светового микроскопа Axioptan 2 («Carl Zeiss», ФРГ) с использованием объективов  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$  и окуляра  $\times 10$ . Для количественной оценки выраженности склеротических изменений провели морфометрические исследования препаратов, окрашенных пиброфуксином по ван Гизону. Площадь стромального компонента вычислялась в полученных изображениях в 5 полях зрения при увеличении  $\times 200$  с помощью медицинской программы анализа и обработки цифровых изображений ImageJ, иницированной W. Rasband (1997–2012). Площадь экспрессии представляла собой процентное соотношение количества пикселей цифрового изображения зон экспрессии соединительнотканного компонента и общего количества пикселей в изображении.

**Результаты.** Количественный анализ выраженности склеротических изменений в перидуктальной ткани в обеих исследуемых группах показал, что в контрольных наблюдениях площадь экспрессии соединительнотканного компонента составляла  $18,84 \pm 3,14 \%$ , а в основной группе (случаи желчнокаменной болезни) –  $78,06 \pm 15,12 \%$  ( $p = 0,0031$ ).

**Выводы.** У больных желчнокаменной болезнью наблюдаются последствия микротравмирования слизистой оболочки общего желчного протока и большого дуоденального сосочка, нарушается характерная упорядоченность эпителиальной выстилки, выявляются выраженные дистрофические изменения и десквамация эпителия в просвет протока, которая,

### Ключові слова:

великий дуоденальний сосочок, холелітіаз.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 271–275

DOI: 10.14739/2310-1237.2017.3.118317

E-mail: syvolap89@gmail.com

### Ключевые слова:

большой дуоденальный сосочек, холелитиаз.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 271–275

в свою чергу, значительно деформувалась на определенных участках разрастанием перифокальной соединительной ткани. Количественный анализ выраженности склеротических изменений в перидуктальной ткани выявил значительное преобладание площади экспрессии соединительнотканного компонента у больных желчнокаменной болезнью ( $78,06 \pm 15,12 \%$ ) по сравнению с контрольными наблюдениями –  $18,84 \pm 3,14 \%$  ( $p = 0,0031$ ). В случае длительного течения желчнокаменной болезни в перидуктальном пространстве регистрировалась выраженная коллагенизация с наличием грубоволокнистой соединительной ткани и практически полным отсутствием гладкомышечного компонента.

## Key words:

duodenal papilla,  
major,  
cholelithiasis.

## Pathologia

2017; 14 (3), 271–275

## Morphological features of the major duodenal papilla in patients with cholelithiasis

V. M. Klimenko, D. V. Syvolap, S. I. Tertyshniy

The high prevalence of the pathology of major duodenal papilla in patients with gallstone disease, the difficulties of diagnosis and treatment determine the relevance of the study.

**The purpose** is to study the morphological features of the major duodenal papilla in patients with cholelithiasis.

**Material and methods.** During autopsies, selection of fragments of major duodenal papilla from 30 dead was performed. The main group consisted of autopsy specimens ( $n = 15$ ) from the dead, which had stones in the gallbladder in the absence of signs of inflammation of the walls of the gallbladder and bile ducts. Biomaterial samples ( $n = 15$ ) from the dead, which had no stones and signs of inflammation of the biliary system, were included in the control group. To study the severity of the stromal component, the Mason's trichrome and the Van Gieson's stains were used. Light microscopy was carried out using a light microscope Axioptan 2 (Carl Zeiss – Germany) using  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$  lenses and  $\times 10$  eyepiece.

For a quantitative assessment of the severity of sclerotic changes, we conducted a morphometric study of preparations stained with picrofuchsin according to Van Gieson. The area of the stromal component was calculated in the resulted images in 5 fields of view under magnification of  $\times 200$  using the medical software for analysis and processing of digital images ImageJ, initiated by W. Rasband (1997–2012). The expression area was the percentage ratio of the number of pixels of the digital image of the zones of expression of the connective tissue component to the total number of pixels in the image.

**Results.** The quantitative analysis of the severity of sclerotic changes in the periductal tissue in both studied groups showed that in the control observations the expression area of the connective tissue component was  $18.84 \pm 3.14 \%$ , and in the main group (cases of gallstone disease) –  $78.06 \pm 15.12 \%$  ( $P = 0.0031$ ).

**Conclusions.** In patients with gallstone disease there are consequences of microtrauma of the mucous membrane of the common bile duct and large duodenal papilla, violated typical pattern of epithelial lining, expressed dystrophic changes and desquamation of the epithelium into the lumen of the duct, which in turn was significantly deformed in certain areas with the overgrowth of perifocal connective tissue. Quantitative analysis of the severity of sclerotic changes in the periductal tissue revealed a significant prevalence of the expression area of the connective tissue component in patients with gallstone disease ( $78.06 \pm 15.12 \%$ ) compared with control observations ( $18.84 \pm 3, 14 \%$ ), ( $P = 0.0031$ ). In the case of prolonged course of gallstone disease in the periductal space the expressed collagenization of the periductal space with the presence of coarse fibrous connective tissue and almost complete absence of the smooth muscle component were recorded.

Сьогодні кількість хворих із запальними захворюваннями органів гепатопанкреатобіліарної області, що викликають непрохідність жовчних проток, продовжує збільшуватись. Серед цих захворювань важливе місце належить різноманітним патологічним змінам великого дуоденального сосочка (ВДС), як-от: гострі та хронічні папіліти з наявністю або без гіперпластичних процесів [7].

За даними А. І. Едемського (1987), гострий і хронічний папіліти спостерігаються у 100 % хворих, які страждають на жовчнокам'яну хворобу, та у 89,6 % – з рецидивуючим панкреатитом. Хронічні запальні зміни НДС поділяють на три форми: аденоматозний хронічний папіліт, аденоіоматозний та атрофічно-склеротичний хронічний папіліти [3].

Доброякісний стеноз великого дуоденального сосочка виявляється в 4–40 % хворих під час первинних і в 11–84 % хворих – під час повторних операцій на жовчовивідних шляхах і підшлунковій залозі [2,4].

Зміни структури великого дуоденального сосочка мають певні вікові особливості. За даними В. В. Пушкарського (2004), при жовчнокам'яній хворобі в літньому та старечому віці переважають атрофічно-склеротичні форми хронічного папіліту (до 54 % випадків), у віці до 60 років – гіперпластичні (аденоматозні, аденоіоматозні) зміни НДС [5].

Діагностика уражень НДС – складне клінічне завдання у зв'язку з відсутністю характерної клінічної картини та особливостями анатомічного розташування, що визначає важкодоступність досліджень. Дослідження цитоморфологічних характеристик НДС сприятиме уточненню морфогенезу та причинно-наслідкових зв'язків захворювань гепатобіліарної системи, що надзвичайно важливо для прогнозування перебігу захворювань і вирішення питання способу лікування: консервативного або хірургічного [1].

Отже, велика поширеність патології НДС у хворих на жовчнокам'яну хворобу, труднощі діагностики та лікування зумовлюють актуальність дослідження.

## Мета роботи

Вивчити морфологічні особливості великого дуоденального сосочка у хворих на холелітіаз.

## Матеріали і методи дослідження

Під час автопсії виконали забір фрагментів НДС від 30 померлих. Основну групу становили автопсійні зразки ( $n = 15$ ) від померлих, які мали камені в жовчному міхурі



за умов відсутності ознак запалення стінок міхура та жовчовивідних шляхів. До контрольної групи залучили зразки біоматеріалу ( $n = 15$ ) від померлих, які не мали каменів та ознак запалення біліарної системи. Для оглядової світлової мікроскопії шматочки автопсійного матеріалу фіксували 10 % розчином нейтрального формаліну протягом 24–48 годин. Потім матеріал зневоднювали та заливали в парафін, серійні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Для дослідження вираженості стромального компонента використовували забарвлення трихромом за Масоном і за методом ван Гізона. Світлову мікроскопію здійснювали за допомогою світлового мікроскопа AxioPlan 2 («Carl Zeiss», ФРН) із використанням об'єктивів  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$  та окуляра  $\times 10$ .

Для кількісного оцінювання вираженості склеротичних змін виконали морфометричне дослідження препаратів, що забарвлені пікрофуксином за ван Гізонам. Площу стромального компонента обчислювали в отриманих зображеннях у 5 полях зору при збільшенні  $\times 200$  за допомогою медичної програми аналізу та опрацювання цифрових зображень ImageJ, котра ініційована W. Rasband (1997–2012). Площа експресії являла відсоткове співвідношення пікселів цифрового зображення зон експресії сполучнотканинного компонента та загальної кількості пікселів у зображенні.

*Статистичне опрацювання даних* здійснювали за допомогою пакета програм Statistica, версія 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Показники кількісних ознак надані у вигляді середнього та стандартного відхилення; показники якісних ознак – у вигляді абсолютних і відносних частот. Гіпотезу про нормальність розподілу кількісних показників аналізували з використанням Shapiro–Wilk test. Різницю у групах за кількісними показниками визначали методом непараметричної статистики (за критерієм Wilcoxon); за якісними показниками – за критерієм  $\chi^2$ . Під час перевірки статистичних гіпотез статистично вірогідними вважали розбіжності за умов  $p < 0,05$ . Усі тести були двобічними.

## Результати та їх обговорення

У контрольних спостереженнях сегмент загальної жовчної протоки, що проходив у глибині дванадцятипалої кишки (ДПК), мав характерну гістологічну будову. На оглядових гістологічних препаратах увага приділялась значній складчастості слизової, що має важливе функціональне значення, оскільки дає можливість значно збільшити діаметр протоки в умовах патології, зокрема при проходженні конкрементів. Власна пластинка слизової протоки являє собою переважно рихлу сполучну тканину, що без чітких переходів трансформувалась у шар гладком'язової тканини.

З проходженням через стінку ДПК щільність м'язового компонента у стінці протоки дуже відрізняється. Так, під час входу до стінки дванадцятипалої кишки протока була оточена значним м'язовим прошарком, що формує компактні м'язові пучки, котрі проходять у повздовжньому та поперечному напрямках та виконують роль м'язових сфінктерів. У безпосередній близькості від ВДС протоки оточують тонкі поодинокі м'язові волокна, сумарна товщина яких сильно варіює по всьому

периметру протоки. Диференціювати м'язові волокна, що були компонентами сфінктера, неможливо через те, що вони, по-перше, структурно та функціонально тісно пов'язані з м'язовими волокнами дванадцятипалої кишки, по-друге, можуть мати значущу індивідуальну відмінність у будові, що не досліджувалось у цій роботі.

Призматичний епітелій слизової оболонки мав однорідну будову: клітини характеризувалися базальним розташуванням ядер, високою, іноді значно вакуолізованою цитоплазмою, чітко простежувались клітинні межі. Клітинний склад підлеглого шару був відносно різномірним, містив фіброласти, міофіброласти, виявлялись тканинні базофіли з дрібною зернистістю, поодинокі лімфоцити, плазмодити, частина клітин вірогідно належала до низько диференційованих (камбіальних). З огляду на різний вік хворих і супутню патологію (наявність дуоденітів) у мікрооточенні протоки з'являлась велика кількість лімфоцитів, плазмодитів, макрофагів, спостерігалось розширення гемокапілярів, але значного колагенотворення не відзначалось. Компактних волокон сполучної тканини було дуже мало, що добре реєструвалось на препаратах з елективним забарвленням пікрофуксином за ван Гізонам.

У контрольних спостереженнях жовчні протоки, що проходять у товщі стінки дванадцятипалої кишки, були оточені незначними прошарками пухкої сполучної тканини, яка фарбувалася в синій колір. Це наочно виявлялось у гістологічних препаратах, що були забарвлені за методом Масона (рис. 1). Основна маса перидуктального оточення являла собою відносно впорядкований хід м'язових волокон.

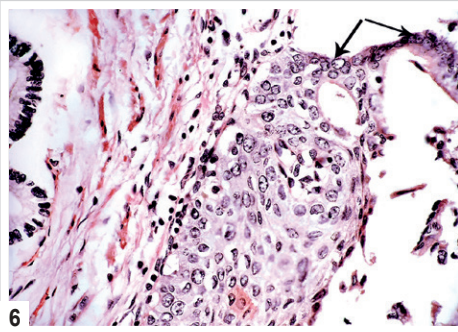
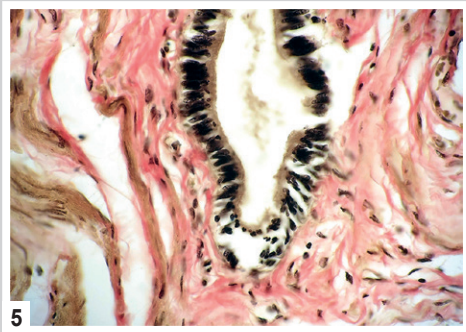
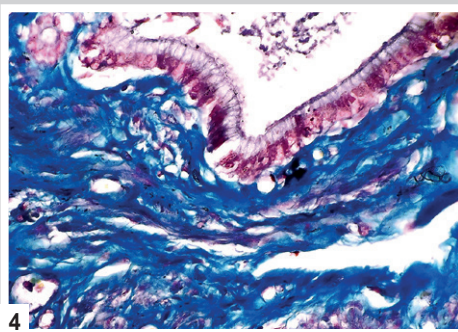
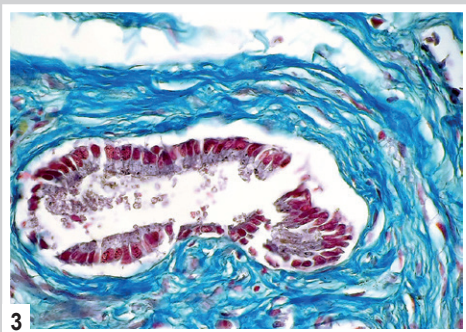
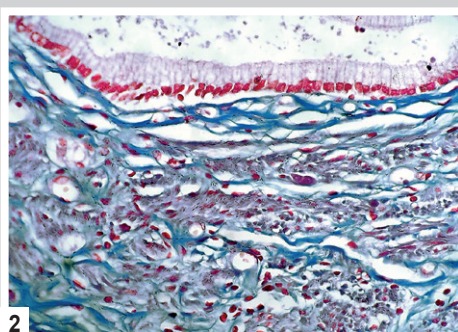
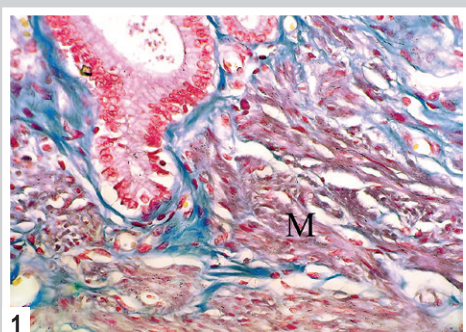
Наявність каменів жовчного міхура супроводжувалась мікротравмуванням слизової оболонки загальної жовчної протоки та ВДС. Порушувалась характерна впорядкованість епітеліального вистилання. Виявлялися виражені дистрофічні зміни та десквамація епітелію у просвіт протоки, яка, своєю чергою, значно деформувалась на певних ділянках розростанням перифокальної сполучної тканини, що добре реєструвалось на препаратах, котрі були забарвлені пікрофуксином за ван Гізонам. Колагенізація перидуктального простору зростала в динаміці хвороби від незначної (рис. 2) до вираженої (рис. 3).

Під час тривалого перебігу захворювання в перидуктальному просторі реєструвались виражені склеротичні зміни з наявністю грубоволокнистої сполучної тканини та практично повною відсутністю гладеньком'язового компонента (рис. 4).

Мікротравмування слизової оболонки також супроводжувалось регенераторними змінами епітелію, що ставав гіперхромним, базальне розташування ядер змінювалось їхньою багаторядністю, стирались клітинні кордони (рис. 5).

У випадках із вираженими ушкодженнями слизової оболонки протоки, наростанням процесів репарації та регенерації виявлялись обмежені ділянки плоскоклітинної метаплазії (рис. 6). До того ж ядра метапластичного епітелію відрізнялись деяким поліморфізмом, у підслизовій оболонці відзначалась слабка лімфо- та плазмодитарна інфільтрація.

Кількісний аналіз вираженості склеротичних змін у перидуктальній тканині в обох досліджуваних групах



**Рис. 1.** Жовчна протока, що оточена незначними прошарками пухкої сполучної тканини (синє забарвлення) та м'язовою тканиною (М). Контрольне спостереження. Забарвлення за Масоном. Зб.:  $\times 400$ .

**Рис. 2.** Склеротичні зміни, що прогресують, навколо жовчної протоки у стінці ДПК. Каміні жовчного міхура. Забарвлення за Масоном. Зб.:  $\times 400$ .

**Рис. 3.** Колагенізація перидуктального простору у стінці ДПК у хворого з конкрементами жовчного міхура. Забарвлення за Масоном. Зб.:  $\times 600$ .

**Рис. 4.** Виражені склеротичні зміни навколо жовчної протоки у стінці ДПК. Каміні жовчного міхура. Забарвлення за Масоном. Зб.:  $\times 400$ .

**Рис. 5.** Гіперрегенераторні зміни епітелію жовчної протоки у стінці ДПК, наявність перидуктального склерозу. Забарвлення за Масоном. Зб.:  $\times 600$ .

**Рис. 6.** Перехід одношарового епітелію протоки в багатшаровий плоский (ділянка переходу відзначена стрілками). Забарвлення за ван Гізоном. Зб.:  $\times 600$ .

показав, що в контрольних спостереженнях площа експресії сполучнотканинного компонента становила  $18,84 \pm 3,14 \%$ , а в основній групі (випадках жовчнокам'яної хвороби) –  $78,06 \pm 15,12 \%$  ( $p = 0,0031$ ).

Отже, дані, що одержали, свідчать про суттєве збільшення кількості сполучно-тканинного компонента в перидуктальному просторі у хворих на холелітаз, що збігається з результатами інших дослідників [1]. Автори виявили фіброз ВДС більше ніж у 58 % хворих на холелітаз (зокрема, в тих, які перенесли холецистектомію). На думку дослідників, висока частота фіброзних змін у хворих на холелітаз може бути наслідком хронічного запалення та/або травматизації тканин великого дуоденального сосочка під час міграції дрібних конкрементів чи кристалів жовчі.

За даними О. М. Тарасова (2015), причиною доброякісної оклюзії позапечінкових жовчних проток у 832 (46,8 %) хворих був первинний (при збереженому жовчному міхурі) холедохолітаз, у 356 (20,5 %) – резидуальний холедохолітаз (конкременти виявлені під час фістулографії або в перші два – три тижні після холецистектомії), у 214 (12,0 %) – рецидивний, що виник через півтора та більше років після холецистектомії; стриктура жовчних проток, частіше великого

дуоденального сосочка – у 376 (21,1 %) [6].

У випадках патології жовчовивідних шляхів і підшлункової залози Л. М. Михальова та співавтори (2006) спостерігали у великому дуоденальному сосочку виражені як гіперпластичні та метастатичні, так і атрофічні зміни залоз унаслідок запальних процесів: на ранніх етапах виникає набряк, гостра запальна інфільтрація, надалі розвивається гіпертрофія, а потім – деформація та атрофія клапанів. Велику частину спостережень – 379 (87 %) посідають запальні процеси переважно хронічного перебігу. Часто хронічні папіліти супроводжуються гіперпластичними змінами різних структур елементів слизової оболонки: клапанів, перехідної складки, папілярних залоз. Велика частка спостережень – 174 (46 %) – представлена гіперпластичними поліпами гирла та інтраампулярної частини ВДС. Залозисто-кістозна гіперплазія виявлялась у меншій кількості спостережень – 23 (6 %). Серед хронічних папілітів найчастіше виявляється атрофічно-склеротична форма – в 67 спостереженнях (40 %). Аденоміоз виявлений тільки в 11 спостереженнях (2 %) [4].

За даними А. Г. Шулешової (2008), серед пацієнтів із захворюваннями ВДС найбільшу питому вагу становили



хворі з папілітою (53,9 %), на другому місці – хворі з доброякісними новоутвореннями (34,3 %), на третьому – хворі на рак ВДС (11,8 %). У 61,7 % хворих були конкременти жовчного міхура та проток. За даними морфологічної верифікації встановлено, що у більшості хворих (53,9 %) був папіліт різної форми (атрофічно-склеротичний, аденоматозний, аденоміоматозний); у 1/3 (34,3 %) хворих із захворюваннями ВДС були новоутворення доброякісного характеру (папіломатоз, гіперпластичні поліпи, аденоми з різним ступенем дисплазії); у 11,8 % – рак сосочка (скір, аденокарциноми різного ступеня диференціації) [7].

## Висновки

1. У хворих на жовчнокам'яну хворобу спостерігаються мікротравмування слизової оболонки загальної жовчної протоки та великого дуоденального сосочка, порушується характерна упорядкованість епітеліального вистилання, виявляються виражені дистрофічні зміни та десквамація епітелію у просвіт протоки, яка, своєю чергою, значно деформувалася на певних ділянках розростанням перифокальної сполучної тканини.

2. Кількісний аналіз вираженості склеротичних змін у перидуктальній тканині виявляє значне переважання площі експресії сполучнотканинного компонента у хворих на жовчнокам'яну хворобу ( $78,06 \pm 15,12$  %) порівняно з контрольними спостереженнями ( $18,84 \pm 3,14$  %) ( $p = 0,0031$ ).

3. За тривалого перебігу жовчнокам'яної хвороби в перидуктальному просторі реєструється виражена колагенізація перидуктального простору з наявністю грубоволокнистої сполучної тканини та практично повною відсутністю гладеньком'язового компонента.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні морфологічних змін великого дуоденального сосочка після хірургічних втручань з приводу холелітіазу, а також після парціальної ендоскопічної папілосфінктеротомії.

## Список літератури

- [1] Поражения большого дуоденального сосочка: эндоскопический и клинко-морфологический подходы / А.А. Будзинский, М.И. Прудков Г.А. Кучин и др. // Материалы международной научно-практической конференции. – Екатеринбург, 2002. – С. 2–4.
- [2] Данилов М.В. Хирургическое лечение больных механической желтухой опухолевой этиологии / М.В. Данилов, В.П. Глабай, А.Е. Кустов // Анналы хирургической гепатологии. – 2003. – №7(1). – С. 17–20.
- [3] Едемский А.И. Патологическая анатомия заболеваний большого сосочка двенадцатиперстной кишки (вопросы этиологии, морфологии и патогенеза, классификации) : диссертация на соискание ученой степени д.мед.н. / А.И. Едемский. – Курск, 1987. – 379 с.
- [4] Михалева Л.М. Клиническая морфология стеноза большого дуоденального сосочка / Л.М. Михалева, Н.А. Грачева // Успехи современного естествознания. – 2006. – №2. – С. 57–58.
- [5] Пушкарский В.В. Возрастные особенности строения большого сосочка двенадцатиперстной кишки в норме и при желчнокаменной болезни : диссертация на соискание ученой степени к.мед.н. – Курск, 2004. – 123 с.
- [6] Тарасов А.Н. Опыт применения новейших методов профилактики и эндоскопического лечения острого постманипуляционного панкреатита / А.Н. Тарасов, Е.Р. Олевская, А.В. Васильев // Евразийский союз ученых. – 2015. – №3-5(12). – С. 157–160.
- [7] Шульшова А.Г. Заболевания большого дуоденального сосочка в общей структуре патологии органов гепатопанкреатодуоденальной зоны – диагностика, эндоскопические методы лечения и их результаты : автореферат диссертации на соискание ученой степени д.мед.н. – М., 2008. – 256 с.

## References

- [1] Budzinskiy, A. A., Prudkov, M. I., Kuchin G. A., et al. (2002) Porazheniya bol'shogo duodenal'nogo sosochka: e'ndoskopicheskij i kliniko-morfologicheskij podkhody [Lesions of the Great Duodenal Papilla: Endoscopic and Clinico-Morphological Approaches]. *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference*, (S. 2–4). Ekaterinburg. [in Russian].
- [2] Danilov, M. V., Glabay, V. P., & Kustov, A. Ye. (2003) Khirurgicheskoe lecheniye bol'nykh mekhanicheskoy zheltukhoj opukholevoj e'tiologii [Surgical treatment of patients with mechanical jaundice of tumor etiology]. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*, 7(1), 17–20. [in Russian].
- [3] Yedemskij, A. I. (1987) *Patologicheskaya anatomiya zabolevanij bol'shogo sosochka dvenadcatiperstnoj kishki (voprosy e'tiologii, morfo- i patogeneza, klassifikacii)* (Dis... dokt. med. nauk). [Pathological anatomy of diseases of the large papilla of the duodenum (Questions of etiology, morfo- and pathogenesis, classification) Dr. med. sci. diss.]. Kursk. [in Russian].
- [4] Mikhaleva, L. M., & Gracheva, N. A. (2006) Klinicheskaya morfologiya stenoza bol'shogo duodenal'nogo sosochka [Clinical morphology of stenosis the papilla of vater]. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya*, 2, 57–58. [in Russian].
- [5] Pushkarskij, V. V. (2004) *Vozrastnyye osobennosti stroeniya bol'shogo sosochka dvenadcatiperstnoj kishki v norme i pri zhelchnokamennoj bolezni* (Dis...kand. med. nauk). [Age features of the structure of the large papilla of the duodenum are normal and with cholelithiasis Dr. med. sci. diss.]. Kursk. [in Russian].
- [6] Tarasov, A. N., Olevskaya, Ye. R., & Vasil'ev, A. V. (2015) Opyt primeniya novejsikh metodov profilaktiki i e'ndoskopicheskogo lecheniya ostrogo postmanipulyacionnogo pankreatita [Experience in applying the newest methods of prevention and endoscopic treatment of acute post-manipulation pancreatitis]. *Yevrazijskij soyuz uchenykh*, 3–5(12), 157–160. [in Russian].
- [7] Shuleshova, A. G. (2008) *Zabolevaniya bol'shogo duodenal'nogo sosochka v obshchej strukture patologii organov gepatopankreatoduodenal'noj zony – diagnostika, e'ndoskopicheskie metody lecheniya i ikh rezul'taty* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Diseases of the large duodenal papilla in the general structure of the pathology of the hepatopancreatoduodenal zone – diagnosis, endoscopic methods of treatment and their results Dr. med. sci. diss.]. Moscow. [in Russian].

## Відомості про авторів:

Клименко В. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Сиволап Д. В., аспірант каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Клименко В. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Сиволап Д. В., аспирант каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Тертышный С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Information about authors:

Klymenko V. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Syvolap D. V., MD, Postgraduate Student of the Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Tertishnyy S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 27.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 06.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 09.11.2017



## PIVKA-II в онтогенезі становлення синтезу протромбіна у дітей перших місяців життя

О. Г. Іванько, А. В. Соляник, І. В. Пашенко

Запорозький державний медичний університет, Україна

### Ключевые слова:

новорожденные, естественное вскармливание, витамин К, PIVKA-II, антибиотики.

**Цель работы** – изучить содержание PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence) в сыворотке крови как интегративного показателя скрытого дефицита витамина К в возрастном аспекте у детей с рождения до 6 месяцев жизни, которые находились на грудном вскармливании.

**Материалы и методы.** Обследованы 178 детей в возрасте от 1 суток до 6 месяцев, которые родились без родовых повреждений в сроке 38–41 неделя с массой от 2800 до 4200 г. Иммуноферментный анализ для определения PIVKA-II проводился с использованием набора ANTIBODY RESEARCH PIVKA-II ELISA Kit (США)

**Результаты.** Дети, не получившие постнатальную профилактическую инъекцию филлохинона (витамина К<sub>1</sub>) в дозе 1 мг внутримышечно, в своем большинстве (62 %) характеризовались аномально высокими сывороточными концентрациями >40 Au/ml PIVKA-II в раннем неонатальном периоде. У 92 % детей, получивших профилактическую дозу витамина К, сразу после рождения, показатели PIVKA-II были в пределах нормы. В дальнейшем его нормальные концентрации наблюдались и в возрасте от 1 до 6 месяцев независимо от факта получения профилактического введения витамина К после рождения. Ситуация с выявлением PIVKA-II в сыворотке крови резко меняется у детей после курса антибактериальной терапии, так как более чем у половины из них в возрасте от 1 до 6 месяцев выявляются повышенные значения PIVKA-II.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 276–281

### DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118319

### E-mail:

iog@ukr.net, solianik.alex@gmail

**Выводы.** У детей первых 7 дней жизни, которым не вводился витамин К<sub>1</sub> профилактически, наблюдается появление в крови PIVKA-II в концентрации >40 Au/ml, что свидетельствует о дефиците витамина К у плода и новорожденного и риске развития геморрагических осложнений. Введение витамина К<sub>1</sub> новорожденным с высокой эффективностью нормализует процессы карбоксилирования протромбина, и PIVKA-II не выявляется. У детей, не получивших витамин К<sub>1</sub> после рождения, в течение первого месяца жизни наблюдается самопроизвольная нормализация процессов карбоксилирования протромбина, что, очевидно, связано с формированием активно продуцирующей витамин К<sub>2</sub> (менахиноны) микрофлоры толстого кишечника. Витамины К<sub>2</sub> в отличие от взрослых людей, активно всасываются в толстом кишечнике грудных детей, что и поддерживает цикл витамина К. У 55,5 % детей в возрасте от 1 до 6 месяцев, которые находились на грудном вскармливании и получали антибиотики, в сыворотке крови вновь отмечено появление PIVKA-II, что свидетельствует о возобновлении дефицита витамина К в условиях поврежденного микробиома кишечника.

### Ключові слова:

новонароджені, природне вигодовування, вітамін К, PIVKA-II, антибіотики.

## PIVKA-II в онтогенезі становлення синтезу протромбіну в дітей перших місяців життя

О. Г. Іванько, А. В. Соляник, І. В. Пашенко

**Мета роботи** – вивчити вміст PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence) в сироватці крові як інтегративного показника прихованого дефіциту вітаміну К у віковому аспекті в дітей із моменту народження до 6 місяців життя, які перебували на грудному вигодовуванні.

**Матеріали та методи.** Обстежили 178 дітей віком від 1 доби до 6 місяців, які народилися без родових ушкоджень в терміни 38–41 тижня з масою від 2800 до 4200 г. Імуноферментний аналіз для визначення PIVKA-II здійснили з використанням набору ANTIBODY RESEARCH PIVKA-II ELISA Kit (США)

**Результати.** Діти, які не отримали постнатальну профілактичну ін'єкцію філохінону (вітаміну К<sub>1</sub>) у дозі 1 мг внутрішньом'язово, здебільшого (62 %) характеризувалися аномально високими сироватковими концентраціями >40 Au/ml PIVKA-II в ранньому неонатальному періоді. У 92 % дітей, які отримали профілактичну дозу вітаміну К<sub>1</sub> відразу після народження, показники PIVKA-II були в межах норми. Надалі його нормальні концентрації спостерігались у віці від 1 до 6 місяців незалежно від факту отримання профілактичного введення вітаміну К після народження. Ситуація з виявленням PIVKA-II в сироватці крові різко змінюється в дітей, які отримали курс антибактеріальної терапії, оскільки більш ніж у половини з них у віці від 1 до 6 місяців виявляються підвищені значення PIVKA-II.

**Висновки.** У дітей перших 7 днів життя, яким вітамін К<sub>1</sub> не вводився, спостерігається поява у крові PIVKA-II в концентрації >40 Au/ml, що свідчить про дефіцит вітаміну К у плода й новонародженого та ризик розвитку геморагічних ускладнень. Уведення вітаміну К<sub>1</sub> новонародженим нормалізує процеси карбоксилювання протромбіну, й PIVKA-II не виявляється. У дітей, які не отримали вітамін К<sub>1</sub> після народження, протягом першого місяця життя спостерігається мимовільна нормалізація процесів карбоксилювання протромбіну, що пов'язано з формуванням активно продукуючої вітамери К<sub>2</sub> (менахінони) мікрофлори товстого кишечника, котрі активно всмоктуються в товстому кишечнику здорових немовлят на відміну від дорослих осіб і підтримують цикл вітаміну К. У 55,5 % дітей віком від 1 до 6 місяців, які перебували на грудному вигодовуванні та отримували антибіотики, в сироватці крові знову відзначена поява PIVKA-II, а це свідчить про відновлення дефіциту вітаміну К в умовах пошкодженого микробиому кишечника.

## Ontogenetic view on PIVKA-II in the development of prothrombin synthesis in infants

O. G. Ivanko, A. V. Solianik, I. V. Pashchenko

**The aim** of the research was to study the content of PIVKA-II in the blood serum as an integrative measure of latent vitamin K deficiency in breastfed infants aged from the birth to 6 months of life.

**Materials and methods.** 178 children aged from the birth to 6 months of life who were born without birth injuries in the term of 38–41 of weeks gestation with a weight 2800–4200 g were examined. The immunoenzyme assay for PIVKA-II study was performed with ANTIBODY RESEARCH kit PIVKA-II ELISA Kit (USA)

**Results.** Children who had not received postnatal prophylactic injection of vitamin K<sub>1</sub> in dose of 1 mg intramuscularly in their majority (62 %) had abnormally elevated serum PIVKA-II (>40 Au/ml) at the first week of life. In 92 % of children who had received a prophylactic dose of vitamin K<sub>1</sub> immediately after birth, PIVKA-II was in a normal limit. The normal concentrations of PIVKA-II were observed in children aged 2–6 months regardless of vitamin K prophylactics. The situation worsened dramatically in children who were treated with antibiotics because more than 50 % of these children have experienced high PIVKA-II values.

**Conclusions.** Almost all the children in their first week of life whom for any reasons vitamin K<sub>1</sub> was not prescribed have exhibited an elevation of PIVKA-II in blood serum. This indicates an inborn deficiency of vitamin K experienced by fetuses and newborns. Prophylactic injection of vitamin K<sub>1</sub> to newborns normalizes the processes of prothrombin carboxylation and PIVKA-II concentrations are getting normal. Children, who did not receive vitamin K<sub>1</sub> after the birth, during the first month of life spontaneously normalize the PIVKA-II concentrations. The improvement of prothrombin carboxylation is obviously connected with the colon microbiota development which can provide children with well absorbed vitamin K<sub>2</sub> (menaquinone). In 55.5 % of breastfed children aged up to 6 months who had received antibiotics the PIVKA-II appeared elevated again. This indicates the renewal of the vitamin K deficiency in conditions of the colon microbiota damage.

### Key words:

newborns, breast feeding, vitamin K, PIVKA-II, antibiotics, anti-bacterial agents.

### Pathologia

2017; 14 (3), 276–281

Среди разнообразных реакций адаптации в течение эмбрионального, фетального, неонатального и грудного периодов жизни человека становление эффективной системы свертывания крови остается интенсивно изучаемым аспектом возрастной физиологии. Гемостаз в период раннего онтогенеза человека – чрезвычайно изменчивая система, развитие которой происходит весьма противоречивым образом, но всегда направлено на поддержание целесообразного с позиций жизнедеятельности равновесия между активаторами и ингибиторами коагуляции во взаимодействии с фибринолитической системой [2]. Проккоагулянтные плазменные белки начинают синтезироваться у человека уже в эмбриональном периоде, но к середине внутриутробного периода их синтез удивительным образом замедляется. Итогом является тот факт, что к моменту рождения ребенок демонстрирует свойства гипокоагуляции крови. Витамин-К-зависимые факторы II, IX и X свертывания у новорожденных ниже по сравнению с взрослыми и составляют всего лишь 30–50 % от показателей взрослых [3]. В последующие часы после рождения концентрация этих прокоагулянтов еще больше снижается, достигая минимума ко 2–3 дню жизни. Этот период онтогенеза можно назвать периодом «физиологической коагулопатии». Замедленное свертывание крови у новорожденных можно объяснить недостаточной функциональной зрелостью печени, синтезирующей белковые факторы свертывания не в полном объеме, и чрезвычайно низкой обеспеченностью плода и новорожденного в естественных условиях витамином К и, соответственно, развитием дефицита витамин-К-зависимых факторов свертывания. Имеют значение также и другие предпосылки гипокоагуляции: гипергидратация плода, гипокальциемия, гипербилирубинемия и прочие причины, свойственные раннему неонатальному периоду жизни человека.

Гемостаз новорожденного характеризуется параметрами, которые являются физиологическими, но которые могут легко выходить за рамки нормы на фоне

дизадаптивных влияний и различных заболеваний, способствуя развитию у части новорожденных геморагий или тромбозов. Состояние «физиологической гипокоагуляции» противодействует риску развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и локальных тромбозов, к которым могут привести роды и ранний послеродовой период [2]. Механизмы «транзиторной гипокоагуляции» напоминают фармакологическое действие антикоагулянтов-антагонистов витамина К (например, варфарина), которые используют в клинике для снижения свертываемости крови. Полное становление параметров коагуляции и фибринолиза до уровня взрослых у грудных детей происходит только к 6 месяцам [3].

Механизмы, в соответствии с которыми у новорожденных развивается дефицит витамина К, отчасти известны. К ним, в первую очередь, следует отнести природно низкий транспорт витамина К через плаценту в антенатальном периоде [4]. Обсуждается также отсутствие микробной популяции в кишечнике у младенцев после рождения, что исключает существенную дотацию менахинонов микробного происхождения [9]. Наконец, в развитии дефицита витамина К у младенцев имеет значение исключительно грудное вскармливание, которое не удовлетворяет потребности ребенка в витамине К [6].

Витамин К участвует в  $\gamma$ -карбоксилировании витамин-К-зависимых протеинов, которыми являются плазменные факторы свертывающей – противосвертывающей систем крови [7]. Если карбоксилирования белка-предшественника протромбина как главного прокоагулянтного белка не происходит, то образуется субстанция, индуцированная отсутствием витамина К – PIVKA-II (protein induced in vitamin K absence). Таким образом, PIVKA-II способен выступать чувствительным показателем дефицита витамина К. Протромбиновый коагуляционный потенциал в случаях накопления PIVKA-II снижается, развивается склонность к патологической кровоточивости, а сам PIVKA-II проявляет

свойства умеренного антикоагулянта [8]. В последние годы появились высокоспецифичные методы, основанные на методике ELISA, определения плазменных концентраций «недостаточно  $\gamma$ -карбокситированных белков». Тест PIVKA-II выявляет с высокой эффективностью скрытые витамин-К-дефицитные состояния у детей и взрослых при условии обнаружения плазменных концентраций  $>2\text{нг/мл}$  или  $40\text{ Аи/мл}$  [8].

Вероятно, одним из самых ранних, но немногочисленных исследований, посвященных изучению PIVKA-II у новорожденных, была работа J. Boos et al. 1989 [5], в которой установлено, что 21 % новорожденных в возрасте первых 8 дней жизни демонстрирует присутствие этого протеина в крови, определенного методом иммунного электрофореза, а профилактическое введение витамина К снижает их число до 9 %. Существенно изменились наши представления о становлении и роли микробного биоценоза кишечника грудных детей, когда заселение микрофлорой взрослого типа у них происходит уже в возрасте примерно одного месяца. Изменения в практике вскармливания детей привели к запрету любых пищевых добавок и так называемых солидных продуктов питания (прикорма) сверх грудного молока вплоть до 6-месячного возраста детей. К настоящему времени становится ясно, что скрытые витамин-К-дефицитные состояния могут возобновляться у новорожденных и грудных детей даже после профилактического введения витамина К. Поздние формы геморрагической болезни новорожденных начали встречаться чаще, что отметили зарубежные педиатры [3]. В Турции высокая летальность на фоне витамин-К-дефицитных кровоизлияний приняла характер эпидемии [10]. По данным немногочисленных публикаций последнего десятилетия [8], уже более 50 % современных новорожденных в течение первых дней жизни демонстрируют позитивные тесты на PIVKA-II. Таким образом, изучение становления синтеза протромбина как главного прокоагулянтного протеина плазмы во взаимосвязи с оценкой обеспеченности детей витамином К является актуальной задачей педиатрии, решение которой позволит совершенствовать профилактику ряда осложнений перинатального периода.

### Цель работы

Изучить содержание PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence) в сыворотке крови как интегративного показателя скрытого дефицита витамина К в возрастном аспекте у детей с рождения до 6 месяцев жизни, которые находились на грудном вскармливании.

### Материалы и методы исследования

Сывороточные концентрации PIVKA-II исследованы у 178 случайно отобранных детей в возрасте от 1 суток до 6 месяцев, которые родились без родовых повреждений в сроке 38–41 неделя с массой от 2800 до 4200 г. Роды произошли естественным путем с оценкой по шкале В. Апгар 7–10 баллов. Все дети с момента рождения находились исключительно на грудном вскармливании. В периоде новорожденности (с 1 по 28

день жизни) обследовано 127 детей. По различным, в основном социальным, причинам профилактического введения витамина  $K_1$  в виде однократной инъекции после родов не получили 96 (75,6 %) детей из 127. Однако 31 ребенок (28 %) из 127, обследованный в периоде новорожденности, получал профилактическую инъекцию 1 мг витамина  $K_1$  в первые часы после рождения согласно приказу МЗ Украины № 152 от 4.04.2005 г. [1]. В течение неонатального периода у детей отсутствовали проявления синдрома сгущения желчи и нарушения пищеварения, хотя гипербилирубинемия определялась у 25 (19,7 %) детей. Профилактическое введение витамина  $K_1$  (канавита) не влияло на частоту возникновения и интенсивность неонатальной желтухи у новорожденных.

В возрасте от 1 до 6 месяцев обследован 51 ребенок. Профилактическую инъекцию 1 мг витамина  $K_1$  в первые часы после рождения получили 25 (48 %) детей из 51, которые вскармливались исключительно материнским молоком и развивались нормально. 26 детей из 51 (52 %) обследованы в течение 7 дней после окончания 7–10-дневного курса парентерального введения антибиотиков цефалоспоринового ряда, так как находились на лечении в стационаре по поводу респираторных заболеваний.

Венозную кровь для лабораторных исследований у детей забирали после информированного согласия родителей. Каждому исследованию сопутствовала медицинская информация, касающаяся анамнеза жизни, истории родов и истории болезни. Исследование реализовано на базе Запорожского областного перинатального центра и отделения патологии новорожденных и детей первых месяцев жизни на базе городской детской многопрофильной больницы № 5 г. Запорожья.

Имуноферментный анализ для определения PIVKA-II проводился в сертифицированной центральной научно-исследовательской лаборатории ЗГМУ. Для этого использовали набор ANTIBODY RESEARCH PIVKA-II ELISA Kit (США) и анализатор SirioS производства SEACa/RADIM Company (КНР).

Полученный таким образом за десять месяцев 2015 г. массив рандомизированных данных позволил сформировать когорты детей, группируя их по действию одного из факторов-предикторов появления в крови повышенной концентрации субстанции PIVKA-II. Изучили влияние возраста, факта профилактического введения витамина  $K_1$  (канавита), состояния функции печени и обмена билирубина, прецедента назначения антибиотиков. Статистическую обработку лабораторных и клинических данных осуществляли с использованием сертифицированных программ Statistica (лицензия № 31415426535897).

### Результаты и их обсуждение

Как следует из данных (рис. 1), 62 % детей, которые не получили постнатальную профилактическую инъекцию витамина  $K_1$  в раннем неонатальном периоде, то есть в возрасте от одних до семи суток, характеризовались аномально высокими сывороточными концентрациями PIVKA-II, превышающими допустимые значения нормы



40 Au/ml ( $74,0 \pm 11,6$  Au/ml). Хорошо видно, что по мере приближения к окончанию периода новорожденности обнаружение высоких концентраций PIVKA-II становилось все более редким, средний уровень протеина у детей 8–28 дней составил  $49,5 \pm 6,1$  Au/ml и был ниже, чем у детей в неонатальном периоде ( $p < 0,05$ ).

Неонатальные желтухи не влияли на процессы карбоксилирования протромбина. Так, коэффициенты парной корреляции ( $R$ ) между концентрацией PIVKA-II и общим и непрямым билирубином ( $R$ , соответственно,  $-0,14$  и  $0,18$ ), активностью аланинаминотрансферазы и аспартаттрансферазы ( $0,09$  и  $0,12$ ) и уровнем общего сывороточного белка ( $0,21$ ;  $p > 0,05$ ) были достаточно низкими.

Статистически отличные ( $p < 0,05$ ) результаты от данных, приведенных выше, показаны на рисунке 2. Подавляющее число наблюдений (92 %) концентраций PIVKA-II у детей, получивших профилактическую дозу витамина  $K_1$  сразу после рождения, были в пределах нормы в течение раннего периода новорожденности ( $43,9 \pm 5,6$  Au/ml) и в последующий период до 28 дня жизни ( $>40$  Au/ml).

Продолжая график рассеивания концентраций PIVKA-II (рис. 3) во времени наблюдали преимущественно нормальные концентрации ( $32,2 \pm 5,9$  Au/ml) у детей в возрасте от 1 до 6 месяцев даже с учетом того, что они не получили дотации витамина К после рождения профилактически в виде инъекции и с пищей, так как находились на вскармливании материнским молоком, не способным удовлетворять физиологические потребности ребенка в витамине К.

Ситуация с выявлением PIVKA-II в сыворотке крови резко меняется при исследовании детей, получивших курс антибактериальной терапии. Как видно из данных (рис. 4), в момент окончания антибиотикотерапии более чем у половины детей в возрасте от 1 до 6 месяцев выявляются повышенные, а иногда и очень высокие значения PIVKA-II ( $97,8 \pm 30,9$  Au/ml), что отличает их от детей, не получавших лечение антибиотиками ( $p < 0,05$ ).

У новорожденных аномально высокие концентрации PIVKA-II как показатели незавершенности процессов синтеза протромбина формируются внутриутробно, так как почти все дети в наших наблюдениях, не получившие профилактическую инъекцию витамина К, имели подобные нарушения в первые 7 дней жизни после рождения. В периоде новорожденности у детей обнаружение PIVKA-II напрямую связано с внутриутробным дефицитом витамина К, который можно отнести к природной особенности новорожденных. Назначение витамина К в первые сутки жизни у 92 % здоровых детей в течение нескольких часов нормализует процесс карбоксилирования белка – предшественника протромбина и преодолевает дефицит витамина К. Эффективность возможности предупреждения геморрагической болезни новорожденных, ассоциированной с витамином К, достаточно высокая, так как практически не наблюдаются аномально повышенные концентрации PIVKA-II у этой группы детей.

У младенцев, не получивших витамин К после рождения, процессы карбоксилирования протромбина естественным путем нормализуются к возрасту 1 месяца. Несмотря на то, что дети и в этом возрастном

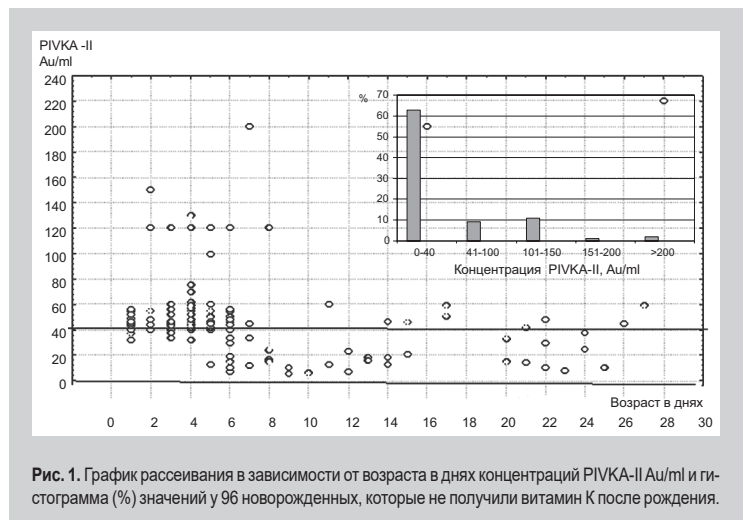


Рис. 1. График рассеивания в зависимости от возраста в днях концентраций PIVKA-II Au/ml и гистограмма (%) значений у 96 новорожденных, которые не получили витамин К после рождения.

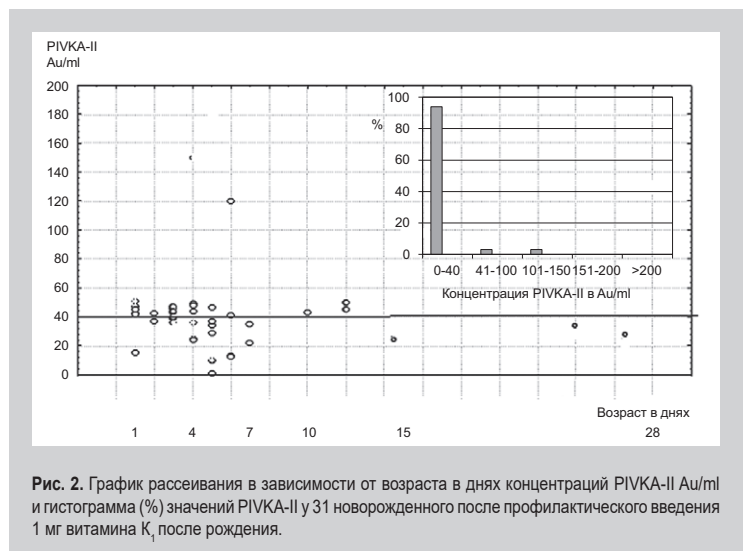


Рис. 2. График рассеивания в зависимости от возраста в днях концентраций PIVKA-II Au/ml и гистограмма (%) значений PIVKA-II у 31 новорожденного после профилактического введения 1 мг витамина  $K_1$  после рождения.

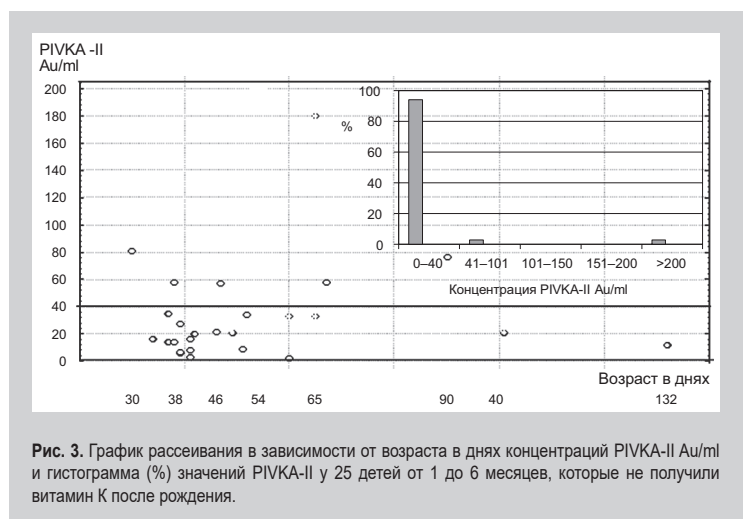


Рис. 3. График рассеивания в зависимости от возраста в днях концентраций PIVKA-II Au/ml и гистограмма (%) значений PIVKA-II у 25 детей от 1 до 6 месяцев, которые не получили витамин К после рождения.

периоде испытывают существенный дефицит витамина К в пище, получая лишь грудное молоко, у 94 % младенцев устанавливаются нормальные значения PIVKA-II, что свидетельствует о самопроизвольном преодолении витамин-К-дефицитного состояния.

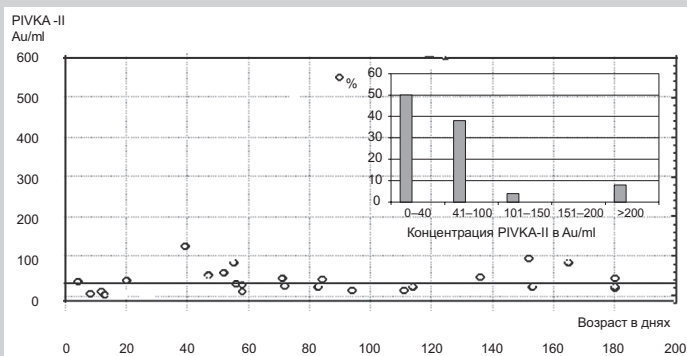


Рис. 4. График рассеивания в зависимости от возраста в днях концентраций PIVKA-II Au/ml и гистограмма (%) значений PIVKA-II у 26 детей грудного возраста на грудном вскармливании после курса антибиотикотерапии.

Естественным объяснением этого феномена может быть признана высокая менаквинон-продуцирующая функция кишечного микробиома толстого кишечника, имеющего определяющее значение в организации цикла витамина К у младенцев, что существенно отличает маленьких детей от взрослых. Подтверждением этого факта служат также наши наблюдения возобновления витаминного дефицита с появлением в крови высоких концентраций PIVKA-II у младенцев, получивших антибиотики, которые способны существенно нарушать состояние микрофлоры толстого кишечника и их витамин-продуцирующую функцию.

## Выводы

1. У детей первых 7 дней жизни в условиях, когда по тем или иным причинам витамин К<sub>1</sub> новорожденному не вводился, у подавляющего большинства детей наблюдается появление в крови предшественника протромбина PIVKA-II, что свидетельствует о внутриутробном дефиците витамина К у плода и риске геморрагических осложнений у новорожденного.

2. Введение витамина К<sub>1</sub> новорожденным после рождения в виде однократной внутримышечной инъекции эффективно нормализует процессы карбоксилирования протромбина и повышенные концентрации PIVKA-II не выявляются.

3. У детей, не получивших витамин К<sub>1</sub> после рождения, в течение первого месяца жизни наблюдается самопроизвольная нормализация процессов карбоксилирования протромбина даже с учетом условий, когда дети получают пищу с низким содержанием витамина К – грудное молоко. Поэтому следует признать существенную роль формирования активно продуцирующей витамин К<sub>2</sub> (менахиноны) микрофлоры толстого кишечника и их активное всасывание у здоровых грудных детей, что поддерживает цикл витамина К.

4. У детей в возрасте от 1 до 6 месяцев, которые находились на грудном вскармливании и получали антибиотики, способные негативно воздействовать на кишечный микробиом, могут возобновляться признаки скрытого витаминного дефицита и риск геморрагических расстройств, что находит подтверждение в появлении высоких показателей PIVKA-II в период грудного детства.

## Список литературы

- [1] Наказ МОЗ України «Про затвердження Протоколу медичного догляду за здоровою новонародженою дитиною» від 04.04.2005 р. №152 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://babykrok.com.ua/upload/intext/Neonatalogiya/2\\_152.pdf](http://babykrok.com.ua/upload/intext/Neonatalogiya/2_152.pdf).
- [2] Особенности гемостаза у новорожденных детей / Е.И. Дорофеева, В.Г. Демихов, Е.В. Демихова и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – №1(53). – С. 44–47.
- [3] Проблемы лечения геморрагической болезни у новорожденных / И.М. Красталева, Г.А. Шишко, О.В. Севрук, Л.А. Тимошина // Медицинские новости. – 2014. – №9(240). – С. 60–62.
- [4] Alarcon P. Neonatal hematology pathogenesis, diagnosis, and Management of Hematologic Problems 2nd Edition / P. Alarcon, E. Werner, R.D. Christensen. – Cambridge University Press, 2013.
- [5] Boos J. Vitamin K-dependent coagulation parameters during the first six days of life: incidence of PIVKA II in newborns / J. Boos, H. Pollmann, H.C. Dominick // *Pediatr Hematol Oncol.* – 1989. – Vol. 6(2). – P. 113–9.
- [6] Burke C.W. Vitamin K Deficiency Bleeding / C.W. Burke // *J. Pediatr Health Care.* – 2013. – Vol. 27. – №3. – P. 215–221.
- [7] Vitamin K metabolism: Current knowledge and future research / D.J. Card., R. Gorska, J. Cutler, D.J. Harrington // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2014. – Vol. 58. – P. 1590–1600.
- [8] Vitamin K<sub>1</sub> versus vitamin K<sub>2</sub> for prevention of subclinical vitamin deficiency: a randomized controlled trial / D. Chawla, A.K. Deorari, R. Saxena et al. // *Indian Pediatrics.* – 2007. – №44(11). – P. 817–822.
- [9] Motta M. Developmental haemostasis in moderate and late preterm infants / M. Motta, F.G. Russo // *Ital. J. Pediatr.* – 2014. – Vol. 40. – P. 38.
- [10] Vitamin K prophylaxis for prevention of vitamin K deficiency bleeding: a systematic review / M.J. Sankar, A. Chandrasekaran, P. Kumar, et al. // *J Perinatol.* – 2016. – Vol. 5(36). – P. 29–35.

## References

- [1] Ministry of Health of Ukraine (2005) *Pro zatverdzhennia Protokolu medychnoho dohliadu za zdorovoiu novonarozhdzenoiu dytynoiu vid 04.04.2005 r. №152* [Order of the Ministry of Health of Ukraine "On approval of the protocol of medical care for a healthy newborn child" of April, 4, 2005 №152] [in Ukrainian].
- [2] Dorofeeva, E. I., Demikhov, V. G., Demikhova, E. V., Skobin, V. B., Zharov, I. A., & Morshakova, E. F. (2013) Osobennosti gemostaza u novorozhdenykh detej [Peculiarities of hemostasis in newborns]. *Tromboz, gemostaz i reologiya*, 1(53), 44–47. [in Russian].
- [3] Krastisialova, I. M., Shishko, G. A., Seuruk, O. V., & Timoshina, L. A. (2014) Problemy lecheniya gemorragicheskoy bolezni u novorozhdenykh [Problems in the treatment of hemorrhagic disease in newborns]. *Medicinskie novosti*, 9, 60–62. [in Russian].
- [4] Alarcon, P., Werner, E., & Christensen, R. D. (2013) Neonatal hematology pathogenesis, diagnosis, and Management of Hematologic Problems. Cambridge University Press.
- [5] Boos, J., Pollmann, H., & Dominick, H. C. (1989) Vitamin K dependent coagulation parameters during the first six days of life: incidence of PIVKA II in newborns. *Pediatr Hematol Oncol.*, 6(2), 113–9. doi: 10.3109/08880018909034277.
- [6] Burke, C. W. (2013) Vitamin K Deficiency Bleeding. *Pediatr Health Care.*, 27(3), 215–221.
- [7] Card, D. J., Gorska, R., Cutler, J., & Harrington, D. J. (2014). Vitamin K metabolism: Current knowledge and future research. *Mol. Nutr. Food Res.*, 58, 1590–1600. doi: 10.1002/mnfr.201300683.
- [8] Chawla, D., Deorari, A. K., Saxena, R., Paul, V. K., Agarwal, R., Biswas, A., & Meena, A. (2007) Vitamin K<sub>1</sub> versus vitamin K<sub>2</sub> for prevention of subclinical vitamin deficiency: a randomized controlled trial. *Indian Pediatrics*, 44(11), 817–22.
- [9] Motta, M., & Russo, F. G. (2014) Developmental haemostasis in moderate and late preterm infants. *Ital. J. Pediatr.*, 40, 38. doi: 10.1186/1824-7288-40-S2-A38.
- [10] Sankar, M. J., Chandrasekaran, A., Kumar, P., Thukral, A., Agarwal, R., & Paul, V. K. (2016) Vitamin K prophylaxis is for prevention of vitamin K deficiency bleeding: a systematic review. *J Perinatol.*, 5(36), 29–35. doi: 10.1038/jp.2016.30.

## Сведения об авторах:

Иванько О. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Соляник А. В., ассистент каф. пропедевтики детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Пашенко И. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Відомості про авторів:**

Іванько О. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Соляник О. В., асистент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Пашченко І. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Information about authors:**

Ivanko O. G., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Solianik A. V., Assistant of the Department of Propaedeutics of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Pashchenko I. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 30.03.2017

Після доопрацювання / Revised: 08.08.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.10.2017



## Значение однонуклеотидных полиморфизмов генов семейства NFATC в развитии гипертрофии левого желудочка при первичной артериальной гипертензии у подростков

А. В. Товма, А. М. Камышный, А. В. Каменщик, О. Г. Иванько

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

### Ключевые слова:

гипертрофия левого желудочка, генетический полиморфизм, NFATC гены, высокое артериальное давление, подростки.

**Цель работы** – установить возможность ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов NFATC1 и NFATC4 с развитием концентрической гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) у подростков 16–18 лет с впервые выявленной первичной артериальной гипертензией (АГ).

**Материалы и методы.** В исследование включены 74 подростка в возрасте 16–18 лет (50 юношей и 24 девушки), у которых впервые в ходе профилактического медицинского осмотра выявлена первичная АГ. У 32 (43 %) подростков при эхокардиоскопии (ЭхоКС) установлены признаки концентрической ГЛЖ. У 42 (57 %) молодых людей с АГ группы контроля показатели ЭхоКС левого желудочка сердца были в пределах возрастной нормы. На следующем этапе исследования проводилось генотипирование с использованием образцов тотальной ДНК, выделенной из цельной венозной крови стандартным методом. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 282–286

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2017.3.118322

**E-mail:**  
ia175wewe@gmail.com,  
alexkamysnyi@gmail.com

**Результаты.** Как показали результаты генотипирования и статистический анализ, ассоциация SNP с ГЛЖ выявлена в отношении rs2229309 гена NFATC4 и не подтверждена для SNP (rs7240256, rs11665469, rs754505) гена NFATC1. Таким образом, статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ) частот встречаемости выявлены для гетерозиготного генотипа rs2229309 гена NFATC4, который почти в 2 раза чаще встречается у подростков с первичной АГ с предрасположенностью к раннему формированию ГЛЖ. Прогностическая чувствительность признака «гетерозиготный генотип CG rs2229309 гена NFATC4» в отношении развития концентрической ГЛЖ сердца у подростков в возрасте 16–18 лет с первичной АГ составила 46 %, специфичность – 74 %, точность – 62 %. Отношение шансов развития концентрической ГЛЖ сердца у подростков с выявленным признаком составило 2,43 с 95 % доверительным интервалом от 0,78 до 7,58. В этой группе больных также установлено преобладание носителей аллели G.

**Выводы.** У подростков с первичной артериальной гипертензией, выявленной в возрасте 16–18 лет, установлена клиническая ассоциация гетерозиготного состояния CG rs2229309 гена NFATC4 и более высокой частоты аллели G с формированием ГЛЖ в этом возрасте. Показатели генотипирования rs2229309 гена NFATC4 могут быть использованы для определения риска развития ГЛЖ у подростков с АГ.

### Ключові слова:

гіпертрофія лівого шлуночка, генетичний поліморфізм, NFATC гени, високий артеріальний тиск, підлітки.

## Значення однонуклеотидних поліморфізмів генів сімейства NFATC у розвитку гіпертрофії лівого шлуночка при первинній артеріальній гіпертензії в підлітків

А. В. Товма, О. М. Камишний, А. В. Каменщик, О. Г. Иванько

**Мета роботи** – встановити можливість асоціації однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) генів NFATC1 і NFATC4 з розвитком концентричної гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ) у підлітків 16–18 років із вперше виявленою первинною артеріальною гіпертензією (АГ).

**Матеріали та методи.** У дослідження включили 74 підлітки віком 16–18 років (50 юнаків і 24 дівчини), у яких уперше під час профілактичного медичного огляду виявлена первинна АГ. У 32 (43 %) підлітків при ехокардіоскопії (ЕхоКС) встановлені ознаки концентричної ГЛШ. У 42 (57 %) молодих людей з АГ групи контролю показники ЕхоКС лівого шлуночка серця були в межах вікової норми. На наступному етапі дослідження здійснювалось генотипування з використанням зразків тотальної ДНК, що виділена з цільної венозної крові стандартним методом. Молекулярно-генетичне дослідження здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу.

**Результати.** Як показали результати генотипування та статистичний аналіз, асоціація SNP із ГЛШ виявлена щодо rs2229309 гена NFATC4 та не підтверджена для SNP (rs7240256, rs11665469, rs754505) гена NFATC1. Отже, статистично значущі відмінності ( $p < 0,05$ ) частот наявності виявлені для гетерозиготного генотипу rs2229309 гена NFATC4, який майже вдвічі частіше виявляється в підлітків із первинною АГ зі схильністю до раннього формування ГЛШ. Прогностична чутливість ознаки «гетерозиготний генотип CG rs2229309 гена NFATC4» щодо розвитку концентричної ГЛШ серця в підлітків віком 16–18 років із первинною АГ становила 46 %, специфічність – 74 %, точність – 62 %. Відношення шансів розвитку концентричної ГЛШ серця в підлітків із виявленою ознакою становило 2,43 із 95 % довірчим інтервалом від 0,78 до 7,58. У цій групі хворих також встановлено переважання носіїв алелі G.

**Висновки.** У підлітків із первинною артеріальною гіпертензією, котра виявлена у 16–18 років, встановлена клінічна асоціація гетерозиготного стану CG rs2229309 гена NFATC4 та вищої частоти алелі G з формуванням ГЛШ у цьому віці. Показники генотипування rs2229309 гена NFATC4 можуть бути використані для визначення ризику розвитку ГЛШ у підлітків з АГ.

## The role of single nucleotide polymorphisms of NFATC genes in the development of left ventricular hypertrophy in primary arterial hypertensive adolescents

A. V. Tovma, A. M. Kamyshnyi, A. V. Kamenshchuk, O. G. Ivanko

**The aim of the study** was to determine the possibility of association of the single nucleotide polymorphisms (SNP) of NFATC1 and NFATC4 genes with the development of concentric hypertrophy of the left ventricle (LVH) in adolescents aged 16-18 with newly diagnosed primary hypertension (AH).

**Materials and methods.** The study included 74 adolescents aged 16-18 years (50 boys and 24 girls) who for the first time in the course of preventive medical examination were identified as primary hypertensive carriers. According to the echocardiography (Echo-CS) the concentric hypertrophy of the left ventricle was shown in 32 (43 %) of adolescents. Other 42 (57 %) young people with AH were identified as a control group because their Echo-CS and electrocardiography (ECG) data were within the age limits. At the next stage of the study for all the patients the genotyping by a standard PCR method in a real time was performed using samples of total DNA isolated from the whole venous blood.

**Results.** As shown by the results of genotyping and statistical analysis SNP association with LVH was detected in relation to rs2229309 of the NFATC4 gene and not confirmed for SNP (rs7240256, rs11665469, rs754505) of the NFATC1 gene. Statistically significant differences of incidence ( $P < 0.05$ ) were found for the heterozygous genotype status of this SNP which is almost 2 times more common for adolescents with primary hypertension complicated with early LVH. Predictive significance of the sign "heterozygous genotype CG rs2229309 of the NFATC4 gene" for the development of concentric LVH in adolescents aged 16-18 with primary hypertension was sensitive in 46 %, specific in 74 % and accurate in 62 % of cases. The odds ratio of development of concentric LVH in the adolescents with the detected symptom was 2.43 with the 95 % confidence interval of 0.78 to 7.58. At the same moment the predominance of the G allele in these adolescents also was established.

**Conclusions.** There is an obvious association between the heterozygous condition of CG rs2229309 of NFATC4 gene and early LVH development in adolescents with primary arterial hypertension, diagnosed at the age of 16-18. Also this people are prone to be carriers of the G allele. The genotyping of rs2229309 of the NFATC4 gene can be useful in prognosis of the risk of LVH development in adolescents with AH.

**Key words:** left ventricular hypertrophy, genetic polymorphism, NFATC transcription factors, high blood pressure, adolescents.

**Pathologia**  
2017; 14 (3), 282-286

Артериальная гипертензия (АГ) является актуальной медико-социальной проблемой и интенсивно изучается не только в Украине, но и во всем мире [1]. Так как у части больных АГ берет свое начало еще в детстве, этот возрастной период представляет интерес с позиций уточнения патогенеза страдания и разработки новых организационных подходов в лечении. Первичная АГ у детей и подростков не всегда своевременно диагностируется, так как в большинстве наблюдений имеет бессимптомное течение [2]. Характерно, что уже в подростковом возрасте у больных развиваются поражения органов-мишеней. Чаще всего развивается гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ) сердца, которая выявляется у 38-41 % подростков с АГ в возрасте 18 лет [3]. Во время прогрессирования ГЛЖ возникает несоответствие между растущей потребностью гипертрофированного левого желудочка в кислороде и ограниченными возможностями доставки его с кровью с помощью коронарных сосудов. Увеличивается электрическая нестабильность сердца с возрастанием возможности возникновения пароксизмальной аритмии. К настоящему времени твердо установлено, что ГЛЖ сопровождается значительным повышением риска внезапной кардиальной смерти [4].

В связи с важным прогностическим значением необходимы критерии, которые позволили бы как можно раньше выявить риск развития ГЛЖ при АГ и в соответствии с величиной этого риска определять дальнейшую терапию. При АГ у детей ГЛЖ, вероятнее всего, представляет собой генетически детерминированную реакцию сердца на увеличение систолической нагрузки на левый желудочек, связанную с повышением общего системного сосудистого сопротивления. В связи с этим большое значение придается поиску генетических предикторов развития поражения сердца.

В частности, среди вероятно значимых маркеров выделяются исследования полиморфизмов (SNP) генов семейства NFATC. Среди них известно более 150 мутаций, которые приводят к возникновению гипертрофии сердечной мышцы в эксперименте и клинике, в том числе гены ионных каналов, регулирующих частоту сердечных сокращений, гены метаболизма миокарда [5]. Ранее нами установлено, что семейство SNP гена NFATC1 (rs7240256, rs11665469, rs754505) при сердечно-сосудистых нарушениях, которые сопровождаются врожденными пороками сердца, так и АГ, имеет адаптивный и стресс-индуцированный характер в отношении определенных гемодинамических нагрузок. Среди наиболее значимых SNP гена NFATC4 можно отметить rs2229309 (Gly160Ala), который влияет на метаболические пути синтеза кальциневрина. В свою очередь известно, что активация кальциневрином гена NFATC4 играет важную роль в развитии гипертрофии сердца. Вариация данного гена представлена SNP Gly160Ala (rs2229309), который влияет на увеличение массы и толщины стенки левого желудочка. Имеются работы, свидетельствующие о том, что неадекватная и, как оказалось, генетически детерминированная реакция сердца в виде ГЛЖ у спортсменов в ответ на усиленную физическую нагрузку приводит к прекращению роста спортивных достижений с развитием кардиомиопатии и возрастанием риска внезапной сердечной смерти [6]. Данные изменения были ассоциированы именно с аллелями SNP rs2229309 гена NFATC4.

Таким образом, гены семейства NFATC участвуют в развитии физиологической и патологической ГЛЖ и могут быть перспективными биологическими маркерами при выявлении предрасположенности к раннему развитию поражения сердца как органа мишени у юных пациентов с АГ. Однако на сегодняшний день данные

исследований ассоциации SNP гена NFATC4 с развитием ГЛЖ при АГ у детей и подростков отсутствуют.

### Цель работы

Установить возможность ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов NFATC1 и NFATC4 с развитием концентрической ГЛЖ у подростков 16–18 лет с впервые выявленной первичной АГ.

### Материалы и методы исследования

В исследование включили 74 подростка в возрасте 16–18 лет (50 юношей и 24 девушки), у которых впервые в ходе профилактического медицинского осмотра и дальнейшего углубленного клинического исследования выявлена первичная АГ. Диагноз был установлен на основании многократных «офисных» измерений артериального давления (АД), суточного мониторинга АД с помощью прибора «Cardio Tens» (Венгрия) и исследований, позволивших исключить вторичную (симптоматическую) АГ. У всех больных установлена гипертензия 1 степени с колебаниями суточного АД, не превышающего 160/100 мм рт. ст., с нагрузкой гипертонией 30–60 % времени суток, отсутствием в анамнезе гипертензивных кризов. У 67 % подростков выявлен циркадный ритм АД типа «non dipper». У 32 (43 %) подростков при эхокардиографии (ЭхоКГ) установлены признаки концентрической ГЛЖ по классификации Ganau A. Признаками ГЛЖ считали превышение толщины задней стенки левого желудочка >0,9 см, межжелудочковой перегородки >0,8 см, индекса массы миокарда левого желудочка  $\geq 39,4$  г/рост в м<sup>2,7</sup> (95 перцентиль) для юношей и  $\geq 36,9$  г/рост в м<sup>2,7</sup> (95 перцентиль) для девушек при сохранных нормальных размерах камеры левого желудочка в диастолу [7], а также учитывали электрокардиографический показатель ГЛЖ – индекс Соколова–Лайона >34 мм [8,9]. Наличие трех из перечисленных критериев было основанием для отнесения подростка в клинико-экспериментальную когорту «АГ и ГЛЖ».

У 42 (57 %) молодых людей с АГ группы контроля

показатели ЭхоКГ левого желудочка сердца были в пределах возрастной нормы. Необходимо подчеркнуть, что подростки, вошедшие в группы наблюдения, характеризовались минимальным количеством факторов риска, нормальными показателями индекса массы тела и никогда не получали лечения по поводу АГ.

На следующем этапе нашего исследования проводилось генотипирование с использованием образцов тотальной ДНК, выделенной из цельной венозной крови стандартным методом с использованием набора реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ-ПЛЮС» («ЛиТех», Российская Федерация). Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени согласно инструкции производителя (Applied Biosystems, США). Генотипирование осуществляли с помощью TaqMan-зондов и набора TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems™) на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Набор TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems™) и TaqMan-зонды для анализа SNP исследуемых генов NFATC1 и NFATC4 изготовлены фирмой Thermo Scientific, США. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия  $\chi^2$ . Для сравнения частот аллелей между различными группами использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса. Значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ . Отношение шансов (OR) рассчитывали по формуле:  $OR = ad/bc$ , где  $a$  – частота анализируемой аллели у больных с ГЛЖ,  $b$  – частота данной аллели у больных без ГЛЖ в группе контроля,  $c$  и  $d$  – суммарная частота остальных аллелей в «случае» и «контроле» соответственно. Границы 95 % доверительного интервала (ДИ) для OR рассчитывали по методу Woolf [10]. Результаты наблюдений обработаны с помощью методов медицинской статистики с использованием сертифицированной программы Statistica v. 6.1 (лицензия программного пакета AXXR712D833214FAN5).

### Результаты и их обсуждение

Проведена оценка частоты отдельных полиморфных аллелей и вариантов генотипов по исследуемым генам. Как показали результаты генотипирования и статистический анализ, ассоциация SNP с ГЛЖ выявлена в отношении rs2229309 гена NFATC4 и не подтверждена для SNP (rs7240256, rs11665469, rs754505) гена NFATC1. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таким образом, статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ) частот встречаемости выявлены для гетерозиготного генотипа rs2229309 гена NFATC4, который почти в 2 раза чаще встречается у подростков с первичной АГ, предрасположенных к раннему формированию ГЛЖ. Математические преобразования данных (табл. 1) позволили рассчитать прогностическую значимость признака «гетерозиготный генотип CG rs2229309 гена NFATC4» в отношении развития концентрической ГЛЖ сердца у подростков в возрасте

Таблица 1. Частота встречаемости (%) генотипов генов NFATC у подростков с первичной АГ в зависимости от формирования ГЛЖ

Ген	SNP	Генотип	Частота, %		p
			Больные с ГЛЖ	Больные контрольной группы	
NFATC1	rs7240256	CC	12	7	>0,1
		TT	48	35	>0,1
		CT	40	58	>0,1
	rs11665469	CC	72	58	>0,1
		TT	12	16	>0,1
		CT	16	26	>0,1
rs754505	AA	28	35	>0,1	
	GG	48	52	>0,1	
	AG	28	13	>0,1	
NFATC4	rs2229309	CC	33	42	>0,1
		GG	21	33	0,05 < p < 0,1
		CG	46	25	<0,05*

\*: вероятность ошибки первого рода при сравнении различий между группами.



Таблица 2. Распределение частот встречаемости аллелей rs2229309 NFATC4 у подростков с АГ и развитием ГЛЖ

Аллели	АГ + ГЛЖ	АГ без ГЛЖ	$\chi^2$	p	OR	
	n = 32	n = 42			знач.	95 % CI
Частота аллели С	0,531	0,702	4,56	0,03	0,48	0,24–0,95
Частота аллели G	0,469	0,298			2,08	1,06–4,10

16–18 лет с первичной АГ [11]. Так, чувствительность данного признака составила 46 %, специфичность – 74 %, точность – 62 %. Отношение шансов развития концентрической ГЛЖ сердца у подростков в возрасте 16–18 лет с первичной АГ с выявленным признаком «гетерозиготный генотип CG rs2229309 гена NFATC4» составило 2,43 с 95 % доверительным интервалом 0,78–7,58.

В соответствии с законом Харди–Вайнберга проведено условие равновесия распределения генотипов в группах сравнения, что в дальнейшем позволило нам подойти к выбору мультипликативной модели наследования фенотипического признака ГЛЖ при первичной АГ у подростков (табл. 2).

Как следует из данных, представленных в таблице 2, установлено преобладание встречаемости аллели G rs2229309 гена NFATC4 в генотипе подростков, больных первичной АГ с ранним формированием ГЛЖ.

## Выводы

1. Установлена клиническая ассоциация гетерозиготного состояния CG rs2229309 гена NFATC4 с преобладанием больных АГ, носителей аллели G, при формировании ГЛЖ в юношеском возрасте.

2. Показатели генотипирования rs2229309 гена NFATC4 могут быть использованы для определения риска развития ГЛЖ у подростков с АГ.

**Перспективы дальнейших исследований** состоят в исследовании результатов применения генотипирования с целью улучшения результатов лечения юношеской АГ.

## Список литературы

- Mancia G. Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz // *J Hypertens.* – 2013. – №31(7). – P. 1281–357.
- Корнев Н.М. Артериальная гипертензия подросткового возраста: распространенность, механизмы формирования, подходы к лечению / Н.М. Корнев, Л.Ф. Богмат, Е.М. Носова // *Педиатрия, акушерство та гінекологія.* – 2010. – №72(4). – С. 68–69.
- Газиева Х.Ш. Изучение особенностей течения артериальной гипертензии у подростков и лиц молодого возраста / Х.Ш. Газиева, Б.М. Мирзаева, У.Ш. Усманова // *Молодой учёный.* – 2017. – №6(140). – С. 144–148.
- Генетические маркеры сердечно-сосудистой патологии спортсменов спорта высших достижений / А.С. Козлова, Т.Л. Лебедев, Ю.В. Малиновская, С.Б. Мельнов // *Экологический вестник.* – 2014. – №2(28). – С. 42–49.
- Каменщик А.В. Нуклеарный фактор активированных Т-клетин (NFATC) як можливий діагностичний і прогностичний маркер при клапанних вроджених вадах серця та гіпертрофії міокарда / А.В. Каменщик, О.Г. Іванько, А.В. Федченко // *Патологія.* – 2015. – №1. – С. 4–7.
- Ahmetov I.I. Current Progress in Sports Genomics / I.I. Ahmetov, O.N. Fedotovskaya // *Advances in clinical chemistry.* – 2015. – №70. – P. 247–314.
- Діагностика та класифікація первинної артеріальної гіпертензії у дітей / В.Г. Майданник, М.М. Корнев, М.В. Хайтович, Л.Ф. Богмат // *Педиатрия, акушерство та гінекологія.* – 2006. – №6. – С. 3–10.

- Ремоделирование левого желудочка: геометрические и электрокардиографические сопоставления / Ю.Э. Тергулова, Е.Т. Тергулова, С.Д. Маянская, З.К. Латипова // *Практическая медицина.* – 2014. – №3(79). – С. 149–154.
- Индекс Sokolow-Lyon у подростков с артериальной гипертензией в прогнозе концентрической гипертрофии левого желудочка сердца в отдаленный период наблюдения / О.Г. Іванько, А.В. Товма, А.В. Каменщик, М.В. Пацера // *Запорожский медицинский журнал.* – 2017. – №1(100). – С. 14–19.
- Szumilas M. Explaining Odds Ratios / M. Szumilas // *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry.* – 2010. – №19(3). – P. 227–229.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. Ю.А. Даниловой. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

## References

- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redón, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al. (2013). Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*, 31(7), 1281–357. doi: 10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc.
- Korenev, N. M., Bogmat, L. F., & Nosova, Ye. M. (2010). Arterial'naya gipertenziya podrostkovogo vozrasta: rasprostranennost', mekhanizmy formirovaniya, podkhody k lecheniyu [Hypertension prevalence of adolescent age: the formative mechanisms, approaches for treatment]. *Pediatrics, akusherstvo ta hinekologiya*, 72(4), 68–69. [in Russian].
- Gazieva, Kh. Sh., Mirzaeva, B. M., & Usmanova, U. Sh. (2017). Izucheniye osobennostey techeniya arterial'noy gipertenzii u podrostkov i lic molodogo vozrasta [Study of the features of the course of arterial hypertension in adolescents and young people]. *Molodoy ucheniy*, 6(140), 144–148. [in Russian].
- Kozlova, A. S., Lebed', T. L., Malinovskaya, Y. V., & Melnov, S. B. (2014). Geneticheskie markery serdechno-sosudistoy patologii sportmenov sporta vysshikh dostizheniy [Genetic markers of cardiovascular pathology in combat sport athletes]. *E'kologicheskij vestnik*, 2(28), 42–49. [in Russian].
- Kamenshchik, A. V., Ivanko, O. G., & Fedchenko, A. V. (2015). Nuklearnyi faktor aktivirovaniykh T-klytin (NFATC) yak mozhylyvyi diahnozychnyy i proghnostychnyy marker pry klapannykh vrodzhennykh vadakh sertsia ta hipertrofii miokarda [Nuclear factor of activated T-cells (NFATC) as a possible diagnostic and prognostic marker in congenital valvular diseases and myocardial hypertrophy]. *Pathologia*, 1, 4–7. [in Ukrainian]. doi: https://doi.org/10.14739/2310-1237.2015.1.42815.
- Ahmetov, I. I., & Fedotovskaya, O. N. (2015). Current Progress in Sports Genomics. *Advances in clinical chemistry*, 70, 247–314. doi: 10.1016/bs.acc.2015.03.003.
- Maidannik, V. H., Korenev, M. M., Khaityovych, M. V., & Bohmat, L. F. (2006). Diahnozytika ta klasyfikatsiya pervynnoi arterialnoi hipertenzii u ditei [Diagnosis and classification of primary arterial hypertension in children]. *Pediatrics, akusherstvo ta hinekologiya*, 6, 3–10. [in Ukrainian].
- Tergulov, Yu. E., Tergulova, E. T., Mayanskaya, S. D., & Latipova, Z. K. (2014). Remodelirovaniye levogo zheludochka: geometricheskie i e'lektrokardiograficheskie sopostavleniya [Remodeling of the left ventricle: geometrical and electrocardiographic comparisons]. *Prakticheskaiya medicina*, 3(79), 149–154. [in Russian].
- Ivanko, O. G., Tovma, A. V., Kamenshchik, A. V., & Patsera, M. V. (2017). Indeks Sokolow-Lyon u podrostkov s arterial'noy gipertenzey v prognoze koncentricheskoy gipertrofii levogo zheludochka serdca v otdalennyj period nablyudeniya [Prognostic role of Sokolow-Lyon criterion in further development of the left ventricular concentric hypertrophy in adolescents with arterial hypertension]. *Zaporozhye medical journal*, 1(100), 14–19. [in Russian]. doi: 10.14739/2310-1210.2017.1.91605.
- Szumilas, M. (2010). Explaining Odds Ratios. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*, 19(3), 227–229.
- Glanc, S. (1999). *Mediko-biologicheskaya statistika [Medical and Biological Statistics]*. Moscow: Praktika [in Russian].

## Сведения об авторах:

Товма А. В., аспирант, ассистент каф. пропедевтики детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор,  
зав. каф. мікробіології, вірусології і імунології,  
Запорізький державний медичний університет,  
Україна.

Каменщик А. В., канд. мед. наук, доцент каф. госпітальної  
педіатрії, Запорізький державний медичний університет,  
Україна.

Иванько О. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики  
детских болезней, Запорізький державний медичний університет,  
Україна.

### **Відомості про авторів:**

Товма А. В., аспірант, асистент каф. пропедевтики дитячих  
хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор,  
зав. каф. мікробіології, вірусології і імунології, Запорізький  
державний медичний університет, Україна.

Каменщик А. В., канд. мед. наук, доцент каф. госпітальної  
педіатрії, Запорізький державний медичний університет,  
Україна.

Иванько О. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики  
дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет,  
Україна.

### **Information about authors:**

Toyma A. V., Postgraduate Student, Assistant of the Department  
of Propedeutics of Childhood Diseases, Zaporizhzhia State Medical  
University, Ukraine.

Kamyshnyi A. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head  
of the Department of Microbiology, Virology and Immunology,  
Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kamenshchuk A. V., MD, PhD, Associate Professor  
of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State  
Medical University, Ukraine.

Ivanko O. G., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department  
of Propedeutics of Childhood Diseases, Zaporizhzhia State Medical  
University, Ukraine.

---

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

---

Надійшло до редакції / Received: 05.09.2017

Після доопрацювання / Revised: 26.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 19.10.2017

## Морфометричний аналіз «панцитокератин-позитивних» неопластичних уражень лімфатичних вузлів шиї

О. В. Пославська, І. С. Шпонька, П. О. Гриценко, О. А. Алексеєнко

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро

Метастази раку в лімфатичні вузли шиї з невідомим первинним джерелом є гістологічним діагнозом метастатичної карциноми без іншої клінічної маніфестації злочасного процесу. Крім ротоглотки та носоглотки метастаз у лімфатичні вузли шиї може виходити з будь-якого місця голови та шиї, а також іншого органа. Такі раки найчастіше діагностуються між п'ятим і сьомим десятиліттям із піком захворюваності в шостому та залишаються актуальною діагностичною проблемою.

**Мета роботи** – дослідити комплекс морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних характеристик елементів панцитокератин-позитивної пухлинної тканини метастатичного походження в лімфатичних вузлах шиї для вдосконалення діагностичних алгоритмів.

**Матеріали та методи.** Здійснили ретроспективне дослідження 41 випадку неопластичних уражень лімфатичних вузлів шиї без інших клінічних маніфестацій первинної локалізації за період із серпня 2016 по липень 2017 р. Середній вік пацієнтів становив  $47,68 \pm 16,41$  року (медіана 46).

**Результати.** Плоскоклітинні карциноми голови та шиї мають доступну візуалізацію та рідкісні фенотипи, що продукують метастатичні клітини раніше за збільшення первинного вогнища (тільки 2 з 41), тому не повинні підпадати під шифри раків невідомої первинної локалізації. Але кількість спостережень метастатичних уражень лімфатичних вузлів шиї 3 категорії «підтверджений рак невідомої первинної локалізації» нашого регіону істотно перевищує показники світової статистики внаслідок неповного обстеження пацієнтів на «добіопсійному» етапі.

**Висновки.** У діагностиці Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+) метастатичних уражень лімфатичних вузлів доцільно використовувати поряд із первинною панеллю ІГХ маркерів (Cytokeratin, Pan AE1/AE3, Vimentin, CD45, S100) об'єктивні параметри ядер пухлинних клітин (площа, периметр, коефіцієнт «круглості»), порівнюючи їх із розмірами звичайних лімфоцитів. Це зменшує суб'єктивність оцінювання та суттєво допомагає визначити діагностичний алгоритм другого етапу ІГХ дослідження.

**Ключові слова:** раки невідомої первинної локалізації, лімфатичні вузли шиї, ImageJ.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 287–292

**DOI:** 10.14739/2310-1237.2017.3.118730

**E-mail:** alexandra.poslavskaya@gmail.com

## Морфометрический анализ «панцитокератин-позитивных» неопластических поражений лимфатических узлов шеи

А. В. Пославская, И. С. Шпонька, П. А. Гриценко, А. А. Алексеенко

Метастаз рака в лимфатические узлы шеи из неизвестного первичного источника является гистологическим диагнозом метастатической карциномы без другой клинической манифестации злокачественного процесса. Кроме ротоглотки и носоглотки метастаз в лимфатические узлы шеи может исходить из любого места головы и шеи, а также иного органа. Такие раки чаще диагностируются между пятым и седьмым десятилетием с пиком заболеваемости в шестом и остаются актуальной диагностической проблемой.

**Цель работы** – исследовать комплекс морфологических, морфометрических и иммуногистохимических характеристик элементов панцитокератин-позитивной опухолевой ткани метастатического происхождения в лимфатических узлах шеи для усовершенствования диагностических алгоритмов.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ 41 случая неопластических поражений лимфатических узлов шеи без других клинических манифестаций первичной локализации за период с августа 2016 по июль 2017 г. Средний возраст пациентов составил  $47,68 \pm 16,41$  года (медіана 46).

**Результаты.** Плоскоклеточные карциномы головы и шеи имеют доступную визуализацию и редкие фенотипы, продуцирующие метастатические клетки ранее увеличения первичного очага (только 2 из 41), поэтому не должны подпадать под шифры раков неизвестной первичной локализации. Но количество наблюдаемых метастатических поражений лимфатических узлов шеи 3 категории «подтвержденный рак неизвестной первичной локализации» нашего региона значительно превышает показатели мировой статистики в результате неполного обследования пациентов на «добіопсійном» этапе.

**Выводы.** В диагностике Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+) метастатических поражений лимфатических узлов целесообразно использовать наряду с первичной панелью ІГХ маркеров (Cytokeratin, Pan AE1/AE3, Vimentin, CD45, S100) объективные параметры ядер опухолевых клеток (площадь, периметр, коэффициент «округлости»), сравнивая их с размерами обычных лимфоцитов. Это уменьшает субъективность оценки и существенно помогает определить диагностический алгоритм второго этапа ІГХ исследования.

**Ключевые слова:** раки неизвестной первичной локализации, лимфатические узлы шеи, ImageJ.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 287–292

## Morphometric analysis of “pancitokeratin-positive” neoplastic lesions of the lymph nodes of the neck

O. V. Poslavska, I. S. Shponka, P. A. Hritsenko, O. A. Alekseenko

Cancer metastasis to the lymph nodes of the neck from an unknown primary source is a histological diagnosis of metastatic carcinoma without another clinical manifestation of the malignant process. In addition to the oropharynx and nasopharynx,

**Key words:** neoplasms, lymph nodes, ImageJ.

**Pathologia** 2017; 14 (3), 287–292



metastasis to the lymph nodes of the neck can come from anywhere in the head and neck, as well as another organ. Such cancers are more often diagnosed between the fifth and seventh decades with a peak incidence in the sixth and remain an actual diagnostic problem.

**The aim of the work** was to investigate the complex of morphological, morphometric and immunohistochemical characteristics of elements of pancitokeratin-positive tumor tissue of metastatic origin in the lymph nodes of the neck for the improvement of diagnostic algorithms.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of 41 cases of neoplastic lesions of the lymph nodes of the neck was made without other clinical manifestations of primary localization during the period August 2016 – July 2017. The mean age of the patients was  $47.68 \pm 16.41$  years (median 46).

**Results.** Squamous cell carcinomas of the head and neck have an accessible visualization and rare phenotypes that produce metastatic cells before the increase in the primary focus (only 2 of 41), therefore should not fall under the ciphers of cancers of unknown primary localization. But the number of observations of metastatic lesions of the lymph nodes in the neck of category 3 “confirmed cancer of unknown primary localization” of our region is much higher than the world statistics, as a result of incomplete examination of patients at the “pre-biopsy stage”.

**Conclusions.** In the diagnosis of Cytokeratin, PAN AE1 / AE3 (+) metastatic lesions of the lymph nodes, it is advisable to use objective parameters of the nuclei of tumor cells (area, perimeter, roundness coefficient) along with the primary panel of IGH markers (Cytokeratin, PAN AE1 / AE3, Vimentin, CD45, S100), comparing them with the size of conventional lymphocytes. This reduces the subjectivity of the evaluation and significantly helps to determine the diagnostic algorithm of the second stage of the IHC study.

Рак із невідомою первинною локалізацією (РНПЛ) визначається як метастатичний рак без відомої ділянки походження. Національним інститутом із догляду за здоров'ям (National Institute for Health and Care Excellence (NICE)) на підставі визначення рівня діагностичних заходів відокремлені три різні підгрупи РНПЛ. У першій категорії («злоякісні новоутворення невідомого походження») пацієнти отримували діагноз на підставі тільки клінічного обстеження. У другій категорії («попередній РНПЛ») пацієнти проходили, принаймні, рутинні морфологічні дослідження, тобто метастатичний рак був підтверджений цитологічно або гістологічно, але походження залишилось невідомим. У третій категорії («підтверджений РНПЛ») метастатичний рак підтверджений гістопатологічно, та всі відповідні спеціалізовані дослідження (наприклад ІГХ) не змогли визначити місце походження. Частота цих підтипів РНПЛ невідома, але, за даними різних авторів, 3 категорія – саме «підтверджений РНПЛ» – є рідкістю. Але різні фактори можуть впливати на діагностичний пошук, запобігаючи виконанню повного алгоритму необхідних діагностичних заходів, наприклад, серед людей похилого віку до 50 % онкологічних захворювань можуть бути класифіковані як «злоякісні новоутворення невідомого походження» [1–3].

Підвищення частоти захворюваності на РНПЛ за останні десятиріччя спостерігалась у розвинутих країнах, і це пов'язано з досягненнями в діагностичних заходах. За останні роки показники смертності таких осіб трохи знизились, але все одно залишаються надто високими, і більшість пацієнтів мають поганий прогноз [4–6].

Метастази раку в лімфатичні вузли ший з невідомим первинним джерелом є гістологічним діагнозом метастатичної карциноми без іншої клінічної маніфестації злоякісного процесу. Крім ротоглотки та носоглотки, метастаз у лімфатичні вузли ший може виходити з будь-якого місця голови та ший, а також іншого органа. Такі раки найчастіше діагностуються між п'ятим і шостим десятиліттям із піком захворюваності в шостому десятилітті та залишаються актуальною діагностичною проблемою [7,8].

### Мета роботи

Дослідити комплекс морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних характеристик елементів панцитокератин-позитивної пухлинної тканини метастатичного походження в лімфатичних вузлах ший для вдосконалення діагностичних алгоритмів.

### Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективне дослідження 41 випадку неопластичних уражень лімфатичних вузлів ший (ЛВШ) (у 4 випадках поєднане з надключичною ділянкою) без інших клінічних маніфестацій первинної локалізації, тобто належали до першої категорії «злоякісні новоутворення невідомого походження» (пацієнти отримали діагноз на підставі проведення лише клінічного обстеження).

Всі зразки були доставлені в морфологічний відділ лікувально-діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м. Дніпро) після первинного морфологічного дослідження для ІГХ диференційної діагностики за період із серпня 2016 по липень 2017 р. Середній вік пацієнтів становив  $47,68 \pm 16,41$  року (медіана 46).

**Морфометричний метод.** Камерою для мікроскопа Zeiss Primo Star – AxioCam ERc 5s із ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 (blue edition) інформативні поля зору зафіксовані в форматі JPG та опрацьовані у програмі ImageJ із визначенням периметра, площі та круглості ядер (рис. 1) згідно з методикою, що описана в публікаціях [9,10].

**Імуногістохімічний метод.** ІГХ дослідження здійснили згідно з протоколами компанії ThermoScientific (TS), (США). У зрізах завтовшки 4 мкм використовували систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) з виявленням білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США). Характеристики моноклональних антитіл занесені в *таблицю 1*.

**Статистичний аналіз.** Показники розмірів площин, периметрів і коефіцієнта круглості клітин зазначали статистичного опрацювання у програмах

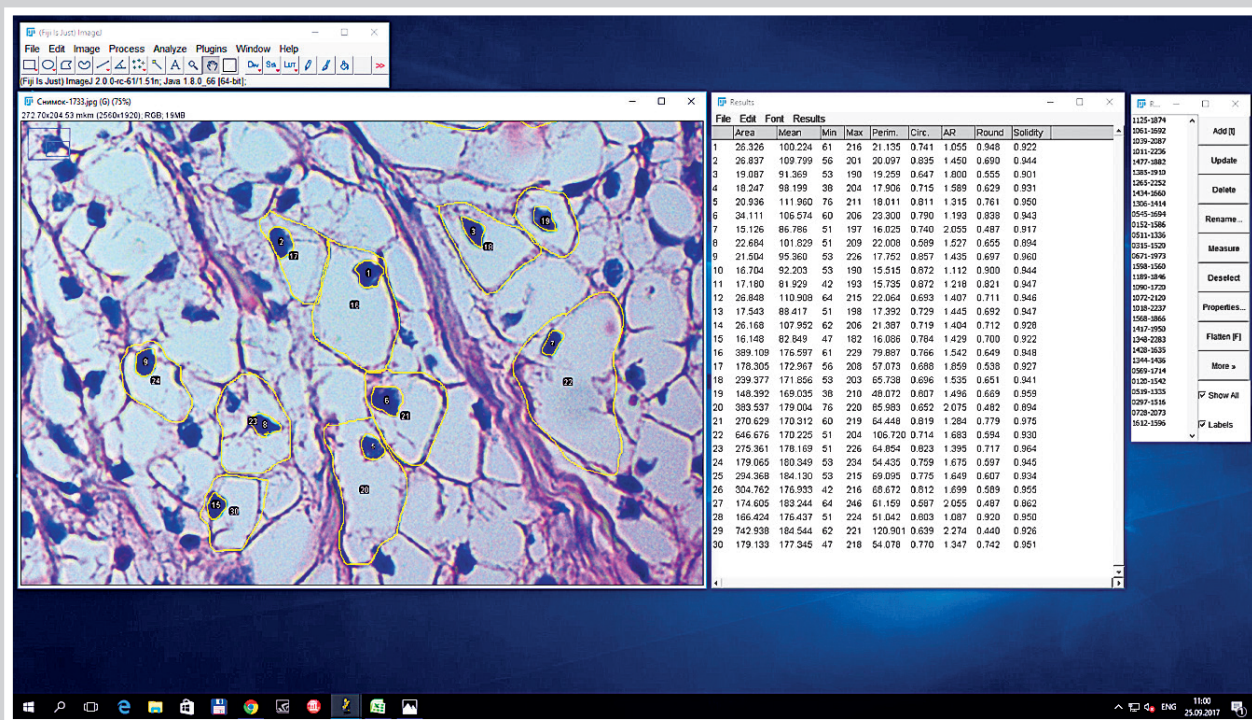


Рис. 1. Визначення параметрів клітин та їхніх ядер метастазу світлоклітинного раку в лімфатичні вузли шії програмою ImageJ.

ImageJ і Microsoft Excel із розрахунком мінімального, максимального, медіани, середнього арифметичного та стандартного відхилення.

## Результати та їх обговорення

Для розрахунку еталона розмірів звичайної лімфоїдної тканини в мікрофотографіях зрізів ЛВШ із кортикальною гіперплазією (без непластичного uszkodження) у програмі ImageJ визначені морфометричні параметри звичайних лімфоцитів для дальшого порівняння їхніх розмірів із параметрами непластичних клітин (табл. 2). Окрім площі та периметра об'єктів ця програма дає можливість розрахувати коефіцієнти «круглості», що надає більшу інформацію про варіант відмінності пухлинних клітин порівняно з лімфоїдною тканиною (рис. 2 А).

Показники таблиці 2 демонструють невеликі за площею  $16,738 \pm 2,693$  мкм<sup>2</sup> (від 11,708 до 23,028 мкм<sup>2</sup>) і периметром  $15,993 \pm 1,541$  мкм (від 13,127 до 19,008 мкм), здебільшого однакові (невеликі стандартні відхилення), помірної круглості ( $0,746 \pm 0,098$ ) клітини, що були відібрані як еталони оцінювання параметрів для неопластичних клітин.

Для встановлення лінії детермінації РБПЛ використана первинна панель ІГХ маркерів до проміжних філаментів Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (епітеліальне походження), загального лейкоцитарного антигена CD45 (гемопоетичне), Vimentin (мезенхімальне), S100 (меланоцитарне). Окрім позитивності на ці маркери (для зменшення суб'єктивності оцінювання) ми розраховували середні розміри ядер неопластичних клітин у програмі ImageJ.

Таблиця 1. Первинні моноклональні антитіла

Первинні антитіла	Клон (розведення)	Локалізація специфічної реакції
Cytokeratin, Pan	AE1/AE3 (1:200)	Цитоплазма
Vimentin	V9 (1:250)	Цитоплазма
CD45	Ab-3 (1:200)	Мембрана
S100	Ab-1 (1:100)	Цитоплазма

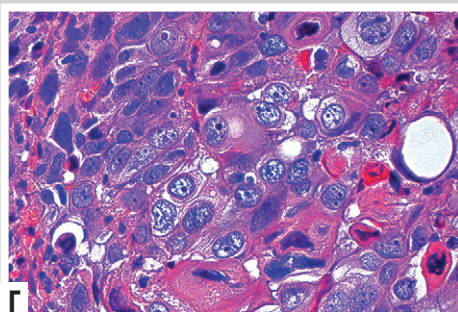
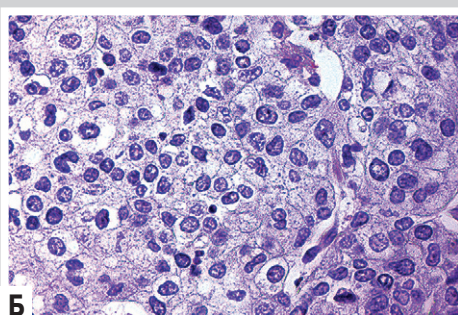
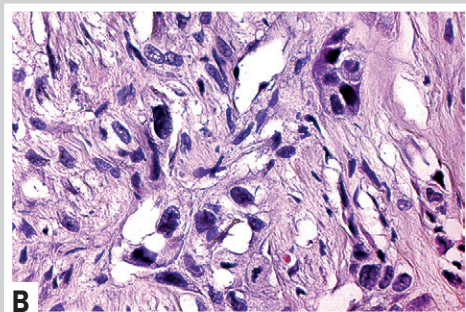
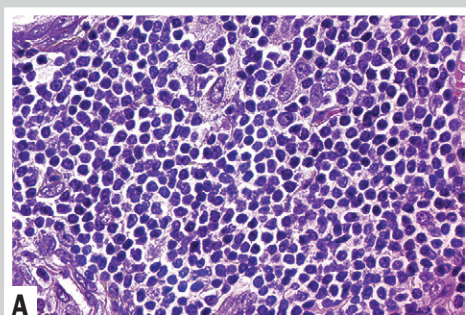
Таблиця 2. Показники морфометричного дослідження звичайних лімфоцитів лімфатичних вузлів шії у програмі ImageJ, мкм<sup>2</sup>, мкм

Показники морфометрії лімфоцитів ЛВШ	Площа (мкм <sup>2</sup> )	Периметр (мкм)	Коефіцієнт «круглості» (параметр ImageJ)
Середнє значення	16,738	15,993	0,746
Стандартне відхилення	2,693	1,541	0,098
Мінімальне значення	11,708	13,127	0,514
Максимальне значення	23,028	19,008	0,927

Перша ланка ІГХ дослідження (Cytokeratin, Pan AE1/AE3; Vimentin; CD45, S100) виявила 5 доволі різних фенотипів метастатичних уражень:

- 10 із 41 (24,39 %) Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивних (+); Vimentin – строго негативних (-), CD45 (-) – негативних, S100 (-) – негативних;
- 4 з 41 (9,8 %) Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивних (+); Vimentin – позитивних (+); CD45 (-) – негативних; S100 (-) – негативних;
- 23 з 41 (56,10 %) Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – негативних (-); Vimentin – частково позитивних (+/-), CD45 (+) – позитивних; S100 (-) – негативних;
- 2 з 41 (4,88 %) Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – негативних (-); Vimentin – строго позитивних (+); CD45 (-) – негативних, S100 (+) – позитивних;





**Рис. 2.**  
**А.** Лімфоцити лімфатичного вузла ший, забарвлення Г-Е, (×400).

**Б.** Поліморфноядерні клітини середнього розміру та помірно круглості з фенотипом Cytokeratin, Pan (+), Vimentin (-), CD45 (-), S100 (-), Г-Е, (×400).

**В.** Поодинокі анапластичні Cytokeratin, Pan (+), Vimentin (-) клітини серед фіброзної тканини, Г-Е, (×400).

**Г.** Метастаз помірно диференційованого плоскоклітинного раку легенів із крупними клітинами, фенотип Cytokeratin, Pan (+), Vimentin (-), CD45 (-), S100 (-), Г-Е, (×400).

– 2 з 41 (4,88 %) Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – негативних (-); Vimentin – строго позитивних (+); CD45 (-) – негативних, S100 (-) – негативних.

Перші два фенотипу, Cytokeratin, Pan AE1/AE3 «+» ушкоджень (14 із 41, 34,15 %) характеризувались «епітеліоїдною» формою (круглі або овальні клітини), що мали розташування «гніздами» та десмопластичну реакцію строми із судинами, які підтримували трофіку та розділяли пухлинну тканину на групи однорідних клітин. Вони поділялися на Vimentin – строго негативні (-) та Vimentin позитивні (+), і таким чином будуть проаналізовані далі.

За середніми розмірами ядер клітин із фенотипу Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивних (+); Vimentin – строго негативних (-), CD45 (-) – негативних, S100 (-) – негативних (всього 10) можна було виділити 3 підгрупи.

1.1 Підгрупа (1 із 10 спостережень) характеризувалась невеликими розмірами ядер, які тільки в 1,5 раза перевищували звичайні лімфоцити ЛВШ. Пухлинна тканина складалась із поліморфноядерних клітин ( $26,611 \pm 10,182 \text{ мкм}^2$  і  $22,684 \pm 7,902 \text{ мкм}$ ), що мали форму ближчу до овальної ( $0,615 \pm 0,099$ ). Діагноз, який відповідав такому розміру, був метастазом помірно диференційованої інфільтруючої протокової аденокарциноми молочної залози.

1.2 Розміри ядер другої підгрупи (6 із 10 спостережень) варіювали від  $32,423$  до  $41,138 \text{ мкм}^2$  за площею та від  $23,283$  до  $25,014 \text{ мкм}$  за периметром (тобто в 2,5–3 рази більші, ніж нормальні лімфоцити (рис. 2 Б), коефіцієнт круглості змінювався за формою: від овальних до круглих клітин (від 0,690 до 0,754). Діагнози другого етапу ІГХ у цій підгрупі відзначились втратою ступеня диференціювання та здебільшого відповідали низькодиференційованим формам раку та інколи являли собою лише окремі групи клітин серед фіброзної тканини (рис. 2 В) (у 3 випадках вдалося встановити напрям аденогенного диференціювання (СК7(+)) раки,

але тільки одна аденокарцинома експресувала органоспецифічний антиген яєчників), в 1 – напрям плоскоклітинного (НМВ(+)) спостереження), інші 2 виявилися зовсім недиференційованими раками ).

1.3 Третя підгрупа з великими ядрами (в 3,5–4,5 рази більші за звичайні лімфоцити) представлена 2 плоскоклітинними раками та нейроендокринним варіантом (3 з 10): розміри ядер коївались від  $48,184$  до  $62,725 \text{ мкм}^2$  за площею та від  $27,696$  до  $32,903 \text{ мкм}$  за периметром; цікавою виявилася зміна коефіцієнта круглості зі збільшенням розміру (чим менші клітини, тим цей показник був «кругліший» (від 0,745 до 0,687). Але лише в 1 випадку вдалося припустити органоспецифічне диференціювання – плоскоклітинний рак легенів (рис. 2 Г).

Фенотип Cytokeratin, Pan AE1/AE3 – позитивний (+); Vimentin – позитивний (+), CD45 (-) – негативний, S100 (-) – негативний представлений чотирма різними варіантами пухлинного процесу.

Перший (1 із 14 спостережень, 7,41 %) представлений світлим поліморфними клітинами великих розмірів з оптично пустою цитоплазмою та чіткими межами (площа  $150,886 \pm 70,252 \text{ мкм}^2$  і периметр  $49,956 \pm 11,324 \text{ мкм}$ , коефіцієнт круглості 0,618 (показник значно менше одиниці в наслідок поліморфізму), а також корявими ядрами середніх розмірів (площа  $20,164 \pm 7,386 \text{ мкм}^2$  і периметр  $18,398 \pm 5,654 \text{ мкм}$ , коефіцієнт круглості 0,633) щодо звичайних лімфоцитів ЛВШ (рис. 1). Діагноз після другої панелі ІГХ виявився метастазом світлоклітинного нирковоклітинного раку.

Другий представник такого фенотипу (1 із 14 спостережень, 7,41 %) мав подібні параметри ядер середнього розміру (1,5 рази більше лімфоцитів), як-от: площа  $27,738 \pm 8,373 \text{ мкм}^2$  і периметр  $21,596 \pm 5,753 \text{ мкм}$ , коефіцієнт круглості 0,629, але істотно менші клітини зі скудною еозинофільною цитоплазмою, що після другої ланки ІГХ відповідало метастазу папілярного раку щитоподібної залози.



Наступні варіанти Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+); Vimentin (+), CD45 (-), S100 (-) фенотипу (2 з 14 спостережень, 14,29 %) мали у 2,5–3 рази більші, ніж лімфоцити, круглі ядра (площа  $41,138 \pm 5,447$  мкм<sup>2</sup> і периметр  $25,014 \pm 2,353$  мкм, коефіцієнт круглості 0,754) і відповідали метастазам недиференційованого раку аденогенного походження.

Аналізуючи процеси метастазування в лімфатичні вузли шиї для РБПЛ різних літературних джерел [1–5], спостерігали тенденцію до абсолютної більшості серед метастатичних процесів саме плоскоклітинних варіантів диференціювання. У нашому дослідженні за рік ми отримали тільки 3 плоскоклітинні карциноми з 14 Cytokeratin, Pan AE1/AE3 «+» ушкоджень (21,43 %), а інші аденогенні або недиференційовані карциноми. Із цих трьох тільки в одному випадку органоспецифічна локалізація встановлена з певною вірогідністю (легені). На підставі цього вважаємо: плоскоклітинні карциноми голови та шиї мають доступну візуалізацію та, вірогідно, вкрай рідкі фенотипи, котрі продукують метастатичні клітини раніше, збільшення первинного вогнища, що висувається як одна з теорій розвитку РБПЛ.

Звертаючись до класифікації NICE [7], що розподіляє всі РБПЛ на 3 категорії за ступенем верифікованості, можна підсумувати: за рік дослідження 41 біоптату пацієнтів із збільшеними лімфатичними вузлами шиї без іншої клінічної маніфестації, тобто ті пухлини, що мали 1 категорію РБПЛ «злюкисні новоутворення невідомого походження», після 1 етапу ІГХ розподілились на 2 підгрупи:

1) інші «не раки» (27 із 41; 65,85 %) з фенотипами Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (-); Vimentin (+/-) або (+), CD45 (+) або (-), S100 (-) або (+): а саме: 23 лімфоми, 2 меланоми, 2 саркоми;

2) категорія 2 «попередній РНПЛ» (14 із 41; 34,15 %) із фенотипами Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+); Vimentin (-) або (+), CD45 (-), S100 (-).

Після другого етапу ІГХ із 14 спостережень «попередніх РНПЛ» 9 (64,29 %) залишилось без встановленої точної первинної локалізації з діагнозами: метастаз недиференційованого раку, метастаз помірно або низькодиференційованої аденокарциноми, метастаз помірно або низькодиференційованого плоскоклітинного раку без реакцій з органоспецифічними маркерами, метастаз недиференційованого аденогенного раку. До того ж тільки 2 спостереження з цієї когорти попали у список «сприятливих фенотипів» як плоскоклітинна карцинома, що вражає лімфатичні вузли шиї. Треба відзначити, більшість пацієнтів тільки після такого «незрозумілого» заключення ІГХ аналізу біоптатів спеціалісти направляють «на пошук локалізації» – КТ, МРТ тощо, навівно розраховуючи на відповідь морфолога, забуваючи про клініко-морфологічний підхід до формування діагнозу. Як результат, такі випадки потрапляють у категорію 3 «підтверджений РНПЛ», спотворюючи показники світової статистики.

## Висновки

1. У діагностиці Cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+) метастатичних уражень лімфатичних вузлів доцільно

використовувати поряд із первинною панеллю ІГХ маркерів (Cytokeratin, Pan AE1/AE3, Vimentin, CD45, S100) морфометричні параметри ядер пухлинних клітин (площа, периметр, коефіцієнт «круглості»), порівнюючи їх із розмірами звичайних лімфоцитів. Опрацювання цифрових мікрофотографій зрізів у програмі ImageJ, що у вільному доступі, не потребує додаткових економічних витрат, зменшує суб'єктивність оцінювання та суттєво допомагає визначити діагностичний алгоритм другого етапу ІГХ дослідження.

2. Плоскоклітинні карциноми голови та шиї мають доступну візуалізацію та рідкісні фенотипи, що продукують метастатичні клітини раніше за збільшення первинного вогнища (тільки 2 з 41 спостереження збільшення лімфатичних вузлів без інших клінічних маніфестацій), тому не повинні підпадати під шифри раків невідомої первинної локалізації.

2. Кількість спостережень метастатичних уражень лімфатичних вузлів шиї 3 категорії «підтверджений рак невідомої первинної локалізації» нашого регіону значно перевищує показники світової статистики внаслідок неповного обстеження пацієнтів на «добіопсійному» етапі.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні фенотипів неопластичних уражень лімфатичних вузлів інших локалізацій щодо раків без встановленої первинної локалізації, порівнянні даних наших досліджень зі світовими показниками та аналізі можливих факторів впливу.

**Фінансування.** Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827, термін виконання 2016–2018).

## Список літератури

- [1] Cancer of unknown primary (CUP) presenting as a Spigelian hernia: a case report / A. Carollo, T. Rosenkranz, D.J. Smith // *J Surg Case Rep.* – 2017. – Vol. 2017. – №4. – P. rjw218.
- [2] Carcinoma of Unknown Primary Site: Outcomes in Patients with a Colorectal Molecular Profile Treated with Site Specific Chemotherapy / F.A. Greco, W.J. Lenington, D.R. Spigel et al. // *Journal of Cancer Therapy.* – 2012. – Vol. 3. – P. 37–43.
- [3] Health service utilisation and investigations before diagnosis of cancer of unknown primary (CUP): A population-based nested case-control study in Australian Government Department of Veterans' Affairs clients / C.M. Vajdic, A.L. Schaffer, T.A. Dobbins et al. // *Cancer Epidemiol.* – 2015. – Vol. 39. – №4. – P. 585–592.
- [4] Lin F. Immunohistochemistry in Undifferentiated Neoplasm / Tumor of Uncertain Origin / F. Lin, H. Liu // *Arch Pathol Lab Med.* – 2014. – Vol. 138. – P. 1583–1610.
- [5] Molecular assignment of tissue of origin in cancer of unknown primary may not predict response to therapy or outcome: a systematic literature review / G. Pentheroudakis, F.A. Greco, N. Pavlidis // *Cancer Treat Rev.* – 2009. – Vol. 35. – №3. – P. 221–227.
- [6] Performance and clinical evaluation of the 92-gene real-time PCR assay for tumor classification / M.G. Erlander, X.-J. Ma, N.C. Kesty et al. // *The Journal of Molecular Diagnostics.* – 2011. – Vol. 13. – №5. – P. 493–502.
- [7] Vajdic C.M. Cancer of unknown primary site / C.M. Vajdic, D. Goldstein // *Aust Fam Physician.* – 2015. – Vol. 44. – №9. – P. 640–643.
- [8] Varadhachary G.R. Cancer of unknown primary site / G.R. Varadhachary, M.N. Raber // *N. engl. J. Med.* – 2014. – Vol. 371. – P. 757–765.
- [9] Пославська О.В. Методологія використання програмного забезпечення для аналізу цифрових мікро-фотографій на базі курсу патоморфології з метою підвищення професійного рівня студентів, аспірантів, здобувачів вищих медичних закладів / О.В. Пославська // *Морфологія.* – 2015. – Т. 9. – №3. – С. 122–126.

- [10] Пославська О.В. Визначення лінійних розмірів та площ окремих морфологічних об'єктів на мікрофотографіях за допомогою програми ImageJ / О.В. Пославська // Морфологія. – 2016. – Т. 10. – №3. – С. 377–381.

#### References

- [1] Carollo, A., Rosenkranz, T., & Smith, D. J. (2017) Cancer of unknown primary (CUP) presenting as a Spigelian hernia: a case report. *J Surg Case Rep*, 2017(4), rjw218. doi: 10.1093/jscr/rjw218.
- [2] Greco, F. A., Lenington, W. J., Spigel, D. R., Varadhachary, G. R., & Hainsworth, J. D. (2012) Carcinoma of Unknown Primary Site: Outcomes in Patients with a Colorectal Molecular Profile Treated with Site Specific Chemotherapy. *Journal of Cancer Therapy*, 3, 37–43. doi: 10.4236/jct.2012.31005.
- [3] Vajdic, C. M., Schaffer, A. L., Dobbins, T. A., Ward, R. L., Er, C. C., & Pearson, S. A. (2015) Health service utilisation and investigations before diagnosis of cancer of unknown primary (CUP): A population-based nested case-control study in Australian Government Department of Veterans' Affairs clients. *Cancer Epidemiol*, 39(4), 585–592. doi: 10.1016/j.canep.2015.02.006.
- [4] Lin, F., & Haiyan, Liu. (2014) Immunohistochemistry in Undifferentiated Neoplasm / Tumor of Uncertain Origin. *Arch Pathol Lab Med.*, 138, 1583–1610. doi: 10.5858/arpa.2014-0061-RA.
- [5] Pentheroudakis, G., Greco, F. A., & Pavlidis, N. (2009) Molecular assignment of tissue of origin in cancer of unknown primary may not predict response to therapy or outcome: a systematic literature review. *Cancer Treat Rev.*, 35(3), 221–227. doi: 10.1016/j.ctrv.2008.10.003.
- [6] Erlander, M. G., Ma, X. J., Kesty, N. C., Bao, L., Salunga, R., & Schnabel, C. A. (2011) Performance and clinical evaluation of the 92-gene real-time PCR assay for tumor classification. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 13(5), 493–502. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.04.004.
- [7] Vajdic, C. M., & Goldstein, D. (2015) Cancer of unknown primary site. *Aust Fam Physician*, 44(9), 640–643.
- [8] Varadhachary, G. R., & Raber, M. N. (2014) Cancer of unknown primary site. *N. engl. J. Med.*, 371, 757–765. doi: 10.1056/NEJMra1303917.
- [9] Poslavskaya, O. V. (2015) Metodolohiia vykorystannia prohramnoho zabezpechennia dlia analizu tsyfrovyykh mikrofotohrafii na bazi kursu patomorfologii z metoiu pidvyshchennia profesiinoho rivnia studentiv i naukovtsiv [Methodology for the use of software for the analysis of digital micrographs on the base of pathomorphology course in order to increase the professional level of students and scientists]. *Morpholohiia*, 9(3), 122–6. [in Ukrainian].
- [10] Poslavskaya, O. V. (2016) Vyznachennia liniinykh rozmiriv ta plosch okremykh morfologichnykh ob'ektiv na mikrofotohrafiiakh za dopomohoiu prohramy ImageJ [Determination of linear dimensions and square surfaces areas of morphological objects on micrographs using ImageJ software]. *Morpholohiia*, 10(3), 377–81. [in Ukrainian].

#### Відомості про авторів:

Пославська О. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Шпонька І. С., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Грищенко П. О., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Алексеєнко О. А., канд. мед. наук, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

#### Сведения об авторах:

Пославская А. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Шпонька И. С., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Грищенко П. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Алексеенко О. А., канд. мед. наук, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

#### Information about authors:

Poslavska O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

Shponka I. S., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Prorector of State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

Hritsenko P. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

Alekseenko O. A., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

#### Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 25.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 31.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2017

# Прогностичне значення циркулюючого N-термінального фрагмента промозкового натрійуретичного пептиду в пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна (за результатами трирічного спостереження)

Б. Б. Самура

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Мета роботи** – вивчення прогностичного значення циркулюючого NT-pro-MHUP у виникненні кардіоваскулярних подій пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна.

**Матеріали та методи.** Вибірка становила 36 пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна. Плазму крові набирали для визначення рівня циркулюючого NT-pro-MHUP за допомогою імуносорбентного методу. Клінічні візити здійснювали кожен місяць протягом 3 років після включення в дослідження, під час котрих фіксували кардіоваскулярні події.

**Результати.** За період спостереження у 8 (22,2 %) пацієнтів виявили прогресію лімфоми Ходжкіна, 4 (11,1 %) пацієнти загинули внаслідок причин, що не пов'язані з патологією серцево-судинної системи, 4 (11,1 %) пацієнти вибули з дослідження внаслідок відсутності на черговому візиті. В 11 (30,6 %) хворих зафіксували 34 кардіоваскулярні події: 2 смерті з кардіоваскулярної причини, 16 кардіальних аритмій, 6 кардіальних ішемічних подій, 1 інсульт, 4 випадки виникнення хронічної серцевої недостатності, 5 госпіталізацій, що пов'язані з кардіоваскулярними причинами. Медіана циркулюючого NT-pro-MHUP у пацієнтів без кардіоваскулярних подій становила 5,68 (2,34–7,97) пг/мл, у пацієнтів з кардіоваскулярними подіями – 13,60 (4,83–17,67) (p = 0,072). Суттєва різниця виявлена при аналізі рівня NT-pro-MHUP залежно від виникнення серцевої недостатності протягом 3 років. Так, у пацієнтів без серцевої недостатності та з виникненням серцевої недостатності медіана рівня циркулюючого NT-pro-MHUP становила 5,68 (3,21–9,65) і 27,09 (21,7–29,59) пг/мл відповідно (p < 0,001). Результати вказують на прямий зв'язок NT-pro-MHUP із фракцією викиду лівого шлуночка (r = -0,503, p = 0,024). Мультиваріантний логістичний регресійний аналіз виявив незалежну значущість циркулюючого NT-pro-MHUP для прогнозу кардіоваскулярних подій (відношення шансів = 1,179; 95 % ДІ 1,043–1,334; p = 0,008) протягом 3 років, тоді як цукровий діабет 2 типу, гіпертензія, ожиріння не мали прогностичних властивостей.

**Висновки.** Встановлено, що протягом 3 років після лікування лімфоми Ходжкіна у 55 % пацієнтів виникли кардіоваскулярні події. В пацієнтів із виникненням серцевої недостатності порівняно з пацієнтами без виникнення серцевої недостатності протягом 3 років виявили вищі значення циркулюючого NT-pro-MHUP. Серед пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна підвищення циркулюючого NT-pro-MHUP може бути пов'язаним із виникненням кардіоваскулярних подій протягом 3 років.

## Прогностическое значение циркулирующего N-терминального фрагмента промозгового натрийуретического пептида у пациентов после лечения лимфомы Ходжкина (по результатам трехлетнего наблюдения)

Б. Б. Самура

**Цель работы** – изучение прогностической значимости циркулирующего NT-pro-MHUP в возникновении кардиоваскулярных событий пациентов после лечения лимфомы Ходжкина.

**Материалы и методы.** Выборка состояла из 36 пациентов после лечения лимфомы Ходжкина. Забор плазмы крови производился для определения уровня циркулирующего NT-pro-MHUP с помощью иммуносорбентного метода. Клинические визиты осуществляли каждый месяц на протяжении 3 лет после включения в исследование, во время которых фиксировали кардиоваскулярные события.

**Результаты.** За период наблюдения у 8 (22,2 %) пациентов выявили прогрессию лимфомы Ходжкина, 4 пациента (11,1 %) погибли вследствие причин, не связанных с сердечно-сосудистой системой, 4 (11,1 %) человека выбыли из исследования в связи с отсутствием на очередном визите. У 11 (30,6 %) человек зафиксировано 34 кардиоваскулярных события: 2 смерти вследствие кардиоваскулярной причины, 16 кардиальных аритмий, 6 кардиальных ишемических событий, 1 инсульт, 4 случая возникновения хронической сердечной недостаточности, 5 госпитализаций, связанных с кардиоваскулярными причинами. Медиана циркулирующего NT-pro-MHUP у пациентов без кардиоваскулярных событий составила 5,68 (2,34–7,97) пг/мл, у пациентов с кардиоваскулярными событиями – 13,60 (4,83–17,67) пг/мл (p = 0,072). Существенная разница выявлена при анализе уровня NT-pro-MHUP в зависимости от возникновения сердечной недостаточности на протяжении 3 лет. Так, у пациентов без сердечной недостаточности и с возникшей сердечной недостаточностью медиана уровня циркулирующего NT-pro-MHUP составила 5,68 (3,21–9,65) пг/мл и 27,09 (21,7–29,59) соответственно (p < 0,001). Полученные данные указывают на прямую связь NT-pro-MHUP с фракцией выброса левого желудочка (r = -0,503, p = 0,024). Мультивариантный логистический регрессионный анализ показал, что циркулирующий NT-pro-MHUP является независимым прогностическим фактором возникновения кардиоваскулярных событий (отношение шансов = 1,179; 95 % ДИ 1,043–1,334; p = 0,008) на протяжении 3 лет. В то же время наличие сахарного диабета, артериальной гипертензии, ожирения не показало прогностической значимости.

**Ключові слова:**  
NT-pro-MHUP,  
кардіоваскулярні події,  
лімфома Ходжкіна,  
прогноз.

**Патологія.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 293–297

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118732

**E-mail:**  
samura@ukr.net

**Ключевые слова:**  
NT-pro-MHUP,  
кардиоваскулярные события,  
лимфома Ходжкина,  
прогноз.

**Патология.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 293–297



**Выводы.** Установлено, что на протяжении 3 лет после лечения лимфомы Ходжкина у 55 % пациентов возникли кардиоваскулярные события. У пациентов с возникшей сердечной недостаточностью в течение 3 лет выявили более высокие значения циркулирующего NT-pro-MHUP. Среди пациентов после лечения лимфомы Ходжкина повышение циркулирующего NT-pro-MHUP может быть связано с возникновением кардиоваскулярных событий на протяжении 3 лет.

**Key words:**

NT-proBNP, cardiovascular events, Hodgkin lymphoma, prognosis..

**Pathologia**

2017; 14 (3), 293–297

## Predictive value of circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients after treatment of Hodgkin lymphoma (a 3-year prospective study)

B. B. Samura

We aimed to evaluate the prognostic value of circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in appearance of cardiovascular events in patients after treatment of Hodgkin lymphoma.

**Methods:** Blood samples for biomarkers measurements were collected. ELISA method for measurements of circulating level of NT-proBNP was used.

**Results:** During observation period progression of Hodgkin lymphoma was proved in 8 (22.2 %) patients, 4 (11.1 %) persons were excluded for poor follow-up. Thirty four cumulative clinical events occurred in 11 patients (30.6 %) within the follow-up, with their distribution being as follows: 2 cardiovascular deaths, 16 cardiac arrhythmias, 6 cardiac ischemic events, 1 stroke, 4 chronic heart failures and 5 hospital admissions for cardiovascular reasons. 4 deaths were not related with cardiovascular pathology or cardiovascular reasons. Medians of circulating NT-proBNP levels in free-events subject cohort and subject cohort with cardiovascular events were 5.68 (2.34–7.97) pg/ml and 13.60 (4.83–17.67) pg/ml ( $P = 0.072$ ). The differences in circulating NT-proBNP levels depending on appearance of heart failure during 3 years were significant. Medians of circulating NT-proBNP levels in patients without heart failure and patients with heart failure were 5.68 (3.21–9.65) pg/ml and 27.09 (21.7–29.59) pg/ml ( $P < 0.001$ ). NT-proBNP positively correlated with ejection fraction of left ventricle ( $r = -0.503$ ,  $P = 0.024$ ). In multivariate logistic regression circulating NT-proBNP independently predicted cumulative cardiovascular events (odds ratio = 1,179; 95 % CI = 1,043–1,334;  $P = 0.008$ ) within 3 years of observation period.

**Conclusion:** During 3 years after treatment of Hodgkin lymphoma 55 % of patients experienced cardiovascular events. Much higher levels of circulating NT-proBNP were found in patients with heart failure in comparing with patients without heart failure. Among patients after treatment of Hodgkin lymphoma increased circulating NT-proBNP may associate with increased cumulative cardiovascular events during 3 years.

З моменту впровадження сучасної комбінованої хіміотерапії та радіотерапії лімфома Ходжкіна стала висококурабельною неоплазією з 5-річним виживанням понад 80 % [2,5,10]. На жаль, тривалість та якість життя пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна знижені внаслідок виникнення пізніх побічних ефектів лікування [7]. До частих пізніх негативних подій після лікування лімфоми Ходжкіна належать вторинні неоплазії, кардіоваскулярні захворювання [11], дисфункція цитоподібної залози, порушення фертильності, рання менопауза, хронічна втома [1]. Кардіоваскулярні захворювання є найпоширенішою причиною смерті після вторинних пухлин у пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна [6].

Як хіміотерапія, так і променева терапія можуть бути причиною виникнення кардіоваскулярної токсичності. Хіміотерапія, особливо антрацикліни, збільшують ризик виникнення серцевої недостатності та вад серця. Променева терапія підвищує ризик ішемічної хвороби серця, вад серця, серцевої недостатності та перикардиту [9]. Комбінація негативних ефектів хіміотерапії, променевої терапії та загальноновизначених кардіоваскулярних факторів ризику (гіпертензія, тютюнопаління, гіподинамія тощо) є причиною виникнення кардіоваскулярних подій протягом 25 років після лікування лімфом. Тому пацієнти після лікування лімфоми Ходжкіна тривалий час потребують спостереження для виявлення кардіоваскулярних подій.

Важливим питанням є прогнозування виникнення кардіоваскулярних подій із застосуванням прогностичних маркерів [3], одними з них є мозковий натрійуретичний пептид (МНУП) і N-термінальний фрагмент його попередника (NT-pro-MHUP) [6,8]. Вони застосо-

вуються для оцінювання дисфункції шлуночків і мають предикторні властивості щодо до кардіоваскулярних подій і смерті [5,9,11].

### Мета роботи

З'ясування прогностичного значення циркулюючого NT-pro-MHUP у виникненні кардіоваскулярних подій у пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна.

### Матеріали і методи дослідження

Вибірка включала 36 пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна, які перебували під спостереженням у гематологічному відділенні КУ «Запорізька обласна клінічна лікарня» ЗОР у 2009–2016 роках.

Діагноз лімфоми Ходжкіна встановлювався згідно з клінічними протоколами [4]. Пацієнти отримували курси хіміотерапії першої лінії по програмах ABVD (доксорубіцин, блеоміцин, вінбластин, дакарбазин), BEACOPP-II (блеоміцин, етопозид, доксорубіцин, циклофосфамід, вінкрістин, прокарбазин, преднізолон), BEACOPP-II (escalated) (блеоміцин, етопозид, доксорубіцин, циклофосфамід, вінкрістин, прокарбазин, преднізолон), а також променеву терапію в дозі 20–40 Gy. При резистентних формах або рецидивах застосовували курси хіміотерапії другої лінії по програмах ESHAP (етопозид, метилпреднізолон, цитарабін, цисплатин), DHAP (дексаметазон, цисплатин, цитарабін), GDP (гемцитабін, дексаметазон, цисплатин), ICE (етопозид, іфосфамід, карбоплатин), MINE (мітоксантрон, іфосфамід, етопозид).

Після лікування в усіх пацієнтів досягнута щонайменше часткова ремісія лімфоми Ходжкіна згідно з критеріями В. D. Cheson (2014). Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Після підписання інформованої згоди всім пацієнтам здійснили загальноклінічне дослідження, ехокардіографію, доплерографію трансмітрального кровотоку, а також взяли зразки крові. Дослідники суворо дотримувались усіх вимог щодо клінічних досліджень.

Оцінювання кардіогемодинаміки здійснювалось за допомогою трансторакальної ехокардіографії на сканері «MyLab 50» (Італія). Зразки крові для визначення рівня NT-pro-MHUP набирали вранці (7:00–8:00) в охолоджені пробірки та центрифугували зі швидкістю 6000 обертів за хвилину протягом 15 хвилин. Після цього плазму заморожували та зберігали при температурі не нижче ніж  $-35^{\circ}\text{C}$ . Вміст NT-pro-MHUP вимірювали за допомогою техніки ELISA з застосуванням наборів Quantikine ELISA Kit (R&G, United Kingdom).

У плазмі крові концентрацію глюкози, глікованого гемоглобіну (HbA1c), загального холестерину (ЗХ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), тригліцериди, креатинін, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) визначали згідно зі стандартними методиками.

Клінічні візити здійснювали кожен місяць протягом 3 років після включення в дослідження, під час яких фіксували кардіоваскулярні події: інсульт, транзиторну ішемічну атаку, кардіоваскулярну смерть, коронарні ішемічні події (інфаркт міокарда, нестабільну стенокардію), госпіталізації, які пов'язані з кардіоваскулярними причинами, вперше встановлену хронічну серцеву недостатність. Кардіоваскулярні події оцінювали згідно з загальними термінологічними критеріями небажаних подій Національного інституту раку (National Cancer Institute's (NCI's) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), version 4.03), що розроблені для підрахунку гострих і хронічних станів у пацієнтів з онкологічними захворюваннями, в тому числі після лікування.

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програми SPSS для Windows v. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Для кожної з безперервних величин залежно від їхнього типу розподілу визначали або середнє (M) і стандартне відхилення ( $\sigma$ ), або медіану та квартилі розподілу. Порівнюючи групи пацієнтів за основними показниками (залежно від типу розподілу показників) застосовували непарний t-критерій Стьюдента або U-критерій Манна–Уїтні, двосторонній точний

критерій Фішера та критерій  $\chi^2$ . Потенційні фактори (вік, стать, куріння, систолічний артеріальний тиск (САТ), діастолічний артеріальний тиск (ДАТ), NT-pro-MHUP, глюкоза, холестерин, тригліцериди, ЛПНЩ, креатинін, HbA1c, які можуть бути пов'язані з кардіоваскулярними подіями, ідентифікували спочатку за допомогою уніваріантного аналізу, потім – за допомогою мультиваріантного регресійного аналізу. При  $p < 0,05$  різницю значень вважали статистично значущою.

## Результати та їх обговорення

За період спостереження у 8 (22,2 %) пацієнтів виявили прогресію лімфоми Ходжкіна, 4 (11,1 %) пацієнти загинули внаслідок причин, що не пов'язані з патологією серцево-судинної системи, 4 (11,1 %) пацієнти вибули з дослідження внаслідок відсутності на черговому візиті. У 11 (30,6 %) пацієнтів зафіксовано 34 кардіоваскулярні події: 2 смерті внаслідок кардіоваскулярної причини, 16 кардіальних аритмій, 6 кардіальних ішемічних подій, 1 інсульт, 4 випадки виникнення хронічної серцевої недостатності, 5 госпіталізацій, котрі пов'язані з кардіоваскулярними причинами. Залежно від виникнення кардіоваскулярних подій пацієнтів поділили на групи.

Не виявлено статистично значущих відмінностей за демографічними показниками (вік), факторами ризику (тютюнопаління, артеріальна гіпертензія, маса тіла, ожиріння), біохімічними показниками (креатинін, ЗХ, ЛПНЩ, глюкоза) між обома когортами пацієнтів. Також статистично не відрізнялись САТ, ДАТ, частота серцевих скорочень (ЧСС), фракція викиду лівого шлуночка (ФВ), відношення кровотоку діастолічного наповнення лівого шлуночка до кровотоку під час систоли передсердь (E/A), відношення кровотоку діастолічного наповнення лівого шлуночка до ранньої діастолічної міокардіальної швидкості (E/E'm). Групи статистично відрізнялись за статтю ( $p = 0,02$ ), рівнем ЛПВЩ ( $p = 0,045$ ).

Пацієнти з артеріальною гіпертензією отримували інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (ІАПФ) або антагоністи рецепторів ангіотензину II (АРА II), ацетилсаліцилову кислоту або інші антиагреганти, статини, у зв'язку з тим, що ознаки серцевої недостатності спостерігали у групі з кардіоваскулярними подіями, де частіше застосовували ІАПФ, АРА II, антагоністи мінералкортикоїдних рецепторів, діуретини (табл. 1).

У пацієнтів без кардіоваскулярних і з кардіоваскулярними подіями медіана рівня циркулюючого

Таблиця 1. Загальна характеристика пацієнтів

Показник, одиниці вимірювання	Група 1 (n = 9)	Група 2 (n = 11)	p
Вік, роки	31,33 ± 5,48	33,36 ± 13,65	0,68
Чоловіки, n (%)	2 (22,2)	8 (72,7)	0,03
Артеріальна гіпертензія, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	0,86
Дисліпідемія, n (%)	0 (0)	5 (45,5)	0,02
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	21,05 ± 3,19	25,36 ± 5,88	0,06
Ожиріння, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	0,86
Надлишкова маса тіла, n (%)	0 (0)	2 (18,2)	0,17
Прихильність до куріння, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	0,86
ШКФ, мл/хв/1,73 м <sup>2</sup>	104,2 ± 12,94	112,5 ± 18,01	0,26
HbA1c, %	4,93 ± 0,90	5,12 ± 0,70	0,61
Глюкоза, ммоль/л	4,30 ± 0,69	4,27 ± 0,40	0,91

Продовження табл. 1.

Показник, одиниці вимірювання	Група 1 (n = 9)	Група 2 (n = 11)	p
Креатинін, мкмоль/л	69,11 ± 15,41	82,55 ± 23,75	0,16
ЗХ, ммоль/л	4,33 ± 0,24	4,66 ± 0,54	0,11
ЛПНП, ммоль/л	3,09 ± 0,15	3,25 ± 0,50	0,38
ЛПВП, ммоль/л	1,18 ± 0,09	1,06 ± 0,15	0,045
САТ, мм рт. ст.	124,0 ± 6,12	124,1 ± 4,16	0,97
ЧСС, ударів за 1 хв	79,33 ± 13,88	72,0 ± 7,11	0,14
ФВ, %	58,01 ± 3,24	57,61 ± 5,14	0,84
Е/А, од.	0,97 (0,90–1,13)	1,0 (0,94–1,15)	0,70
Е/Е', од.	6,73 (5,47–8,11)	7,18 (5,0–8,0)	0,99
ІАПФ або АРАІІ, n (%)	0 (0)	5 (45,5)	0,02
Статини, n (%)	0 (0)	4 (36,4)	0,04
Діуретики, n (%)	0 (0)	2 (18,4)	0,18
Антагоністи мінералкортикоїдних рецепторів, n (%)	0 (0)	1 (9,1)	0,86
<b>Стадія лімфому Ходжкіна (класифікація Ann Arbor)</b>			
I	1	2	
II	4	2	
III	3	5	
IV	1	2	
Лікування лімфому Ходжкіна. Хіміотерапія без променевої терапії, n (%)	2 (22,2)	2 (18,4)	0,82
Хіміотерапія з променевою терапією без опромінення середостіння, n (%)	5 (55,6)	1 (9,1)	0,02
Хіміотерапія з променевою терапією з опроміненням середостіння, n (%)	3 (33,3)	8 (72,7)	0,08
<b>Доза опромінення середостіння</b>			
≤29 Gy, n (%)	2 (22,2)	1 (9,1)	0,41
30–35 Gy, n (%)	1 (11,1)	2 (18,1)	0,66
≥36 Gy, n (%)	0 (0)	5 (45,5)	0,02
<b>Кумулятивна доза антрациклінів</b>			
≤200 мг/м <sup>2</sup>	3 (33,3)	3 (27,3)	0,77
201–325 мг/м <sup>2</sup>	4 (44,4)	5 (45,5)	0,96
≥326 мг/м <sup>2</sup>	2 (22,2)	3 (27,3)	0,80

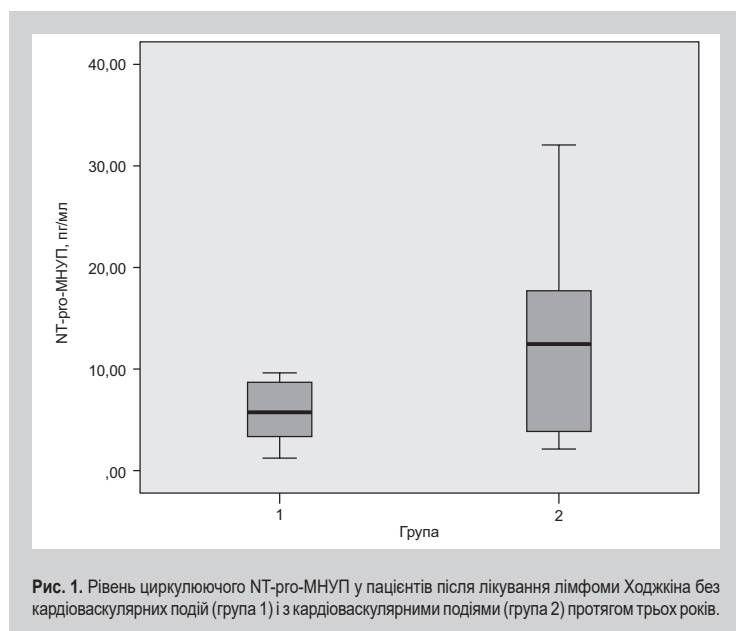


Рис. 1. Рівень циркулюючого NT-про-МНУП у пацієнтів після лікування лімфому Ходжкіна без кардіоваскулярних подій (група 1) і з кардіоваскулярними подіями (група 2) протягом трьох років.

NT-про-МНУП становила 5,68 (2,34–7,97) пг/мл і 13,60 (4,83–17,67) пг/мл відповідно ( $p = 0,072$ ) (рис. 1).

Відзначимо, що статистично суттєва різниця виявлена під час аналізу цієї самої когорти пацієнтів, але залежно від виникнення серцевої недостатності протягом трьох років. Так, у пацієнтів без серцевої недостатності та з виникненням серцевої недостатності медіана рівня циркулюючого NT-про-МНУП становила

5,68 (3,21–9,65) пг/мл і 27,09 (21,7–29,59) пг/мл відповідно ( $p < 0,001$ ) (рис. 2).

Результати вказують на прямий зв'язок NT-про-МНУП із ФВ ( $r = -0,503$ ,  $p = 0,024$ ). Для розділення двох когорт пацієнтів за допомогою рівня NT-про-МНУП застосовували уніваріантний і мультиваріантний регресійний аналіз. При уніваріантному регресійному аналізі основними факторами, які незалежно пов'язані з кардіоваскулярними подіями, були NT-про-BNP, Е/Е', ФВ.

Мультиваріантний логістичний регресійний аналіз виявив незалежну значущість циркулюючого NT-про-МНУП для прогнозу кардіоваскулярних подій (відношення шансів [ВШ] = 1,179; 95 % ДІ 1,043–1,334;  $p = 0,008$ ) протягом 3 років тоді, як цукровий діабет 2 типу, гіпертензія, ожиріння не мали прогностичних властивостей.

Незважаючи на міжнародні протоколи лікування лімфому Ходжкіна, є розбіжності в результатах лікування пацієнтів у межах великих досліджень [2]. Це може бути пов'язано з високим кардіоваскулярним ризиком у пацієнтів після лікування лімфому Ходжкіна [11].

Підвищення рівня NT-про-МНУП пов'язане з підвищенням ризику кардіоваскулярних подій у хворих на лімфому Ходжкіна. До того ж прогностична потужність NT-про-МНУП була вищою при комбінації з ФВ. Необхідно відзначити, що використання результатів аналізу рівня NT-про-МНУП як прогностичного маркера кардіоваскулярних подій ускладнене у зв'язку з тим, що натрійуретичні пептиди є прогностичними індикаторами серцевої недостатності. Необхідно надалі здійснювати пошук маркерів прогнозу кардіоваскулярних подій у хворих на лімфому Ходжкіна.



## Висновки

1. Протягом трьох років після лікування лімфоми Ходжкіна у 30,6 % пацієнтів виявили кардіоваскулярні події.

2. У пацієнтів із виникненням серцевої недостатності порівняно з пацієнтами без виникнення серцевої недостатності протягом трьох років виявили вищі значення циркулюючого NT-pro-MHUP.

3. Встановлено, що серед пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна підвищення циркулюючого NT-pro-MHUP може бути пов'язане з виникненням кардіоваскулярних подій протягом трьох років, хоча прогностичне значення ізольованого застосування цього біомаркера недостатнє.

4. Перспективним є вивчення значення комбінації NT-pro-MHUP з іншими біологічними маркерами у прогнозі кардіоваскулярних подій у пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна.

## Список літератури

- [1] Socio-medical situation for long-term survivors of Hodgkin's disease: a survey of 459 patients treated at one institution / A.F. Abrahamsen, J.H. Longe, E. Hannisdal, et al. // *Eur. J. Cancer.* – 1998. – Vol. 34(12). – P. 1865–1870.
- [2] What are the Key Statistics about Hodgkin Disease? / American Cancer Society. – 2015. – Retrieved from <http://www.cancer.org/cancer/hodgkindisease/detailedguide/hodgkin-disease-key-statistics>.
- [3] Utility of high-sensitivity cardiac troponin T in patients receiving anthracycline chemotherapy / A.H. Blaes, A. Rehman, D.M. Vock, et al. // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2015. – Vol. 24(11). – P. 591–594.
- [4] Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification / B.D. Cheson, R.I. Fisher, S.F. Barrington, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32(27). – P. 3059–3068.
- [5] European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Lymphoma Group and the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte (GELA) Survival after Hodgkin lymphoma: causes of death and excess mortality in patients treated in 8 consecutive trials / O. Favier, N. Heutte, A. Stamatoullas-Bastard, et al. // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115(8). – P. 1680–1691.
- [6] Adapted Treatment Guided by Interim PET-CT Scan in Advanced Hodgkin's Lymphoma / P. Johnson, M. Federico, A. Kirkwood, et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 374(25). – P. 2419–2429.
- [7] Mortality is persistently increased in Hodgkin's lymphoma survivors / C.E. Kiserud, J.H. Loge, A. Fosså, et al. // *Eur. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 46(9). – P. 1632–1639.
- [8] Cardiac function in survivors of acute lymphoblastic leukaemia and Hodgkin's lymphoma / M. Krawczuk-Rybak, L. Dakowicz, A. Hryniewicz, et al. // *Paediatr. Child. Health.* – 2011. – Vol. 47(7). – P. 455–459.
- [9] Results of a trial of PET-directed therapy for early-stage Hodgkin's lymphoma / J. Radford, T. Illidge, N. Counsell, et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 372(17). – P. 1598–1607.
- [10] Sivkovich S.O. Diagnostics, prognosis factors, and treatment of malignant lymphoproliferative disease Hodgkin Disease / S.O. Sivkovich, O.A. Kysel'ova // *Lik. Sprava.* – 2012. – Vol. 1–2. – P. 56–63.
- [11] Cardiovascular disease after Hodgkin lymphoma treatment: 40-year disease risk / F.A. van Nimwegen, M. Schaapveld, C.P. Janus, et al. // *JAMA Intern. Med.* – 2015. – Vol. 175(6). – P. 1007–1017.

## References

- [1] Abrahamsen, A. F., Loge, J. H., Hannisdal, E., Holte, H., & Kvaloy, S. (1998) Socio-medical situation for long-term survivors of Hodgkin's disease: a survey of 459 patients treated at one institution. *Eur. J. Cancer.*, 34(12), 1865–1870. doi: [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(98\)00269-X](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(98)00269-X).
- [2] (2015) American Cancer Society. What are the Key Statistics about Hodgkin Disease? Retrieved from <http://www.cancer.org/cancer/hodgkindisease/detailedguide/hodgkin-disease-key-statistics>.
- [3] Blaes, A. H., Rehman, A., Vock, D. M., Luo, X., Menge, M., Yee, D., et al. (2015) Utility of high-sensitivity cardiac troponin T in patients receiving anthracycline chemotherapy. *Vasc. Health Risk Manag.*, 24(11), 591–594. doi: 10.2147/VHRM.S89842.
- [4] Cheson, B. D., Fisher, R. I., Barrington, S. F., Cavalli, F., Schwartz, L. H., Zucca, E., & Lister, T. A. (2014) Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J. Clin. Oncol.*, 32(27), 3059–3068. doi: 10.1200/JCO.2013.54.8800.

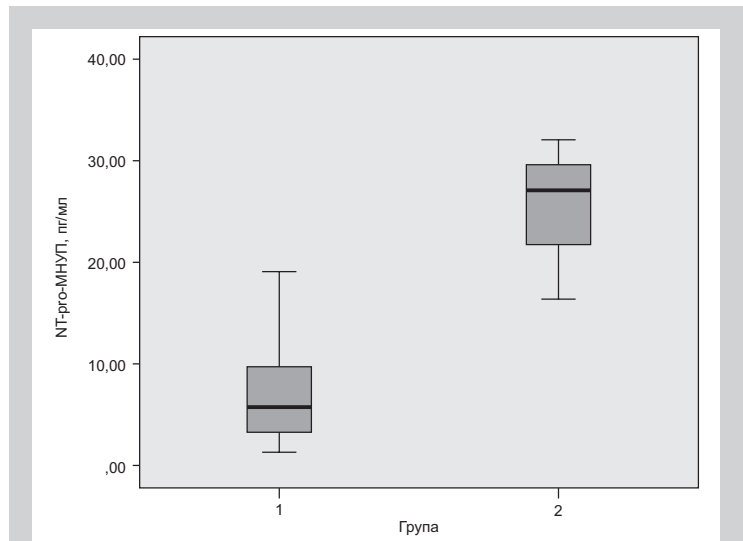


Рис. 2. Рівень циркулюючого NT-pro-MHUP у пацієнтів після лікування лімфоми Ходжкіна без серцевої недостатності (група 1) і з виникненням серцевої недостатності (група 2) протягом трьох років.

- [5] Favier, O., Heutte, N., Stamatoullas-Bastard, A., Carde, P., Van't Veer, M. B., Aleman, B. M., et al. (2009) European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Lymphoma Group and the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte (GELA) Survival after Hodgkin lymphoma: causes of death and excess mortality in patients treated in 8 consecutive trials. *Cancer*, 115(8), 1680–1691. doi: 10.1002/cncr.24178.
- [6] Johnson, P., Federico, M., Kirkwood, A., Fosså, A., Berkahn, L., Carella, A., et al. (2016) Adapted Treatment Guided by Interim PET-CT Scan in Advanced Hodgkin's Lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 374(25), 2419–2429. doi: 10.1056/NEJMoa1510093.
- [7] Kiserud, C. E., Loge, J. H., Fosså, A., Holte, H., Cvancarova, M., & Fosså, S. D. (2010) Mortality is persistently increased in Hodgkin's lymphoma survivors. *Eur. J. Cancer*, 46(9), 1632–1639. doi: 10.1016/j.ejca.2010.02.010.
- [8] Krawczuk-Rybak, M., Dakowicz, L., Hryniewicz, A., Maksymiuk, A., Zelazowska-Rutkowska, B., & Wysocka, J. (2011) Cardiac function in survivors of acute lymphoblastic leukaemia and Hodgkin's lymphoma. *Paediatr. Child. Health*, 47(7), 455–459. doi: 10.1111/j.1440-1754.2010.01991.x.
- [9] Radford, J., Illidge, T., Counsell, N., Hancock, B., Pettengell, R., Johnson, P., et al. (2015) Results of a trial of PET-directed therapy for early-stage Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 372(17), 1598–1607. doi: 10.1056/NEJMoa1408648.
- [10] Sivkovich, S. O., & Kysel'ova, O. A. (2012) Diagnostics, prognosis factors, and treatment of malignant lymphoproliferative disease, Hodgkin Disease. *Lik. Sprava*, 1–2, 56–63.
- [11] van Nimwegen, F. A., Schaapveld, M., Janus, C. P., Krol, A. D., Petersen, E. J., Raemaekers, J. M., et al. (2015) Cardiovascular disease after Hodgkin lymphoma treatment: 40-year disease risk. *JAMA Intern. Med.*, 175(6), 1007–1017. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.1180.

## Відомості про автора:

Самура Б. Б., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішніх хвороб З, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторе:

Самура Б. Б., канд. мед. наук, доцент каф. внутренних болезней З, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Information about author:

Samura B. B., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Diseases № 3, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 31.08.2017

Після доопрацювання / Revised: 18.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 11.10.2017

## Нарушение резервной фильтрационной способности почек при раннем ревматоидном артрите

А. В. Прыткова

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

### Ключевые слова:

функциональный почечный резерв, ревматоидный артрит, гломерулярная фильтрация.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 298–304

### DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118733

### E-mail:

annzreal@bigmir.net

**Цель работы** – исследование резервной фильтрационной способности почек у больных в дебюте ревматоидного артрита как потенциального маркера субклинической ренальной дисфункции.

**Материалы и методы.** В исследование включены 47 больных в возрасте старше 18 лет с ранним ревматоидным артритом (рРА) (продолжительность симптомов заболевания – не более 12 месяцев). Возраст пациентов в среднем составил  $50,71 \pm 2,25$  года (от 18 до 76 лет), 80 % из них – женщины, средняя продолжительность заболевания на момент первичного исследования составила  $9,21 \pm 0,43$  месяца.

**Результаты.** При определении функционального почечного резерва (ФПР) путем оценки прироста скорости клубочковой фильтрации (СКФ) после проведения пероральной нагрузочной пробы в целом по группе больных с рРА зафиксировано статистически значимое изменение отмеченного показателя относительно группы контроля: у больных рРА ФПР оказался достоверно ниже на 34,6 % в сравнении с практически здоровыми лицами, при этом базальная СКФ Cockcroft–Gault в этих группах достоверно не отличалась. Среди общей когорты пациентов с рРА сохранный ФПР был отмечен почти у трети больных (32 %), в других случаях регистрировалась та или иная степень его снижения. Аналогичная динамика, отличающаяся лишь величиной различий, наблюдалась и для показателя соотношения альбумин/креатинин (А/К) мочи: в целом у больных рРА он оказался выше в 6,3 раза в сравнении с практически здоровыми лицами. Распространенность в целом по группе пациентов с рРА микроальбуминурии (МАУ) составила около 38 %.

**Выводы.** У больных рРА уже в дебюте заболевания имеет место нарушение функционального статуса почек, которое проявляется в ухудшении резервной гломерулярной фильтрации: ФПР при рРА был на 34,6 % ниже, чем у практически здоровых лиц, а количество пациентов с нарушенным ФПР – достоверно выше, чем в контрольной группе ( $\chi^2 = 13,79$ ,  $p < 0,01$ ). Проведенный корреляционный анализ по Пирсону ( $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ ) позволяет подтвердить и наличие негативной сопряженности между выраженностью уринарной экскреции микропротеина и степенью тяжести внутриклубочковой гипертензии.

### Ключові слова:

функціональний нирковий резерв, ревматоїдний артрит, гломерулярна фільтрація.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 298–304

## Порушення резервної фільтраційної здатності нирок при ранньому ревматоїдному артриті

Г. В. Прыткова

**Мета роботи** – дослідження резервної фільтраційної здатності нирок у хворих у дебюті ревматоїдного артриту як потенційного маркера субклінічної ренальної дисфункції.

**Матеріали та методи.** У дослідження включили 47 хворих, які старші за 18 років, із раннім ревматоїдним артритом (рРА) (тривалість симптомів захворювання – не більше ніж 12 місяців). Вік пацієнтів у середньому становив  $50,71 \pm 2,25$  року (від 18 до 76 років), 80 % із них – жінки, середня тривалість захворювання на момент первинного дослідження становила  $9,21 \pm 0,43$  місяця.

**Результати.** Під час визначення функціонального ниркового резерву (ФНР) шляхом оцінювання приросту швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) після проведення пероральної навантажувальної проби загалом по групі хворих із рРА зафіксовано статистично значущу зміну цього показника щодо групи контролю: у хворих на рРА ФНР виявився вірогідно нижчим на 34,6 % порівняно з практично здоровими особами, при цьому базальна ШКФ Cockcroft–Gault у цих групах вірогідно не відрізнялась. Серед загальної когорти пацієнтів із рРА збережений ФНР відзначений майже у третині хворих (32 %), в інших випадках реєструвався той чи той ступінь його зниження. Аналогічна динаміка, що відрізняється тільки величиною відмінностей, спостерігалась і для показника співвідношення альбумін/креатинін (А/К) сечі: загалом у хворих на рРА він виявився вищим у 6,3 раза порівняно з практично здоровими особами. Поширеність загалом по групі пацієнтів із рРА мікроальбумінурії становила майже 38 %.

**Висновки.** У хворих на рРА вже в дебюті захворювання спостерігали порушення функціонального статусу нирок, котре проявляється в погіршенні резервної гломерулярної фільтрації: ФНР при рРА був на 34,6 % нижчим, ніж у практично здорових осіб, а кількість пацієнтів із порушеним ФНР – вірогідно вища, ніж у контрольній групі ( $\chi^2 = 13,79$ ,  $p < 0,01$ ). Проведений кореляційний аналіз за Пірсоном ( $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ ) дає можливість також підтвердити наявність негативної асоціації між виразністю уринарної екскреції мікропротеїну та ступенем тяжкості внутрішньоклубочкової гіпертензії.

### Key words:

functional renal reserve, rheumatoid arthritis, glomerular filtration rate.

Pathologia 2017; 14 (3), 298–304

## Violation of reserve filtration capacity of kidneys in patients with early rheumatoid arthritis

A. V. Prytkova

**Objective:** to investigate the reserve filtration capacity of the kidneys in patients with rheumatoid arthritis onset as a potential marker of subclinical renal dysfunction.

**Materials and methods.** 47 patients over the age of 18 years with early rheumatoid arthritis (eRA) were included into this study (duration of symptoms of the disease is no more than 12 months). The average age of patients was  $50.71 \pm 2.25$  years

(from 18 to 76 years), 80 % of them were women, the average duration of the disease at the time of the initial study was  $9.21 \pm 0.43$  months.

**Results.** When we were determining the functional renal reserve (FRR) by evaluating the increase in the glomerular filtration rate (GFR) after the oral loading test, a statistically significant change was noted in the group of patients with eRA in FRR in comparison with the control group – 34.6 % in comparison with practically healthy persons, while basal GFR Cockcroft-Gault in these groups did not differ significantly. Among the general population of patients with eRA, the preserved FRR was noted in a third of cases (32 %), in other cases, a certain degree of its decrease was recorded. A similar dynamics, differing only in the magnitude of differences, was observed for albumin-creatinine ratio – A/C urine: overall, in eRA patients, it was 6.3 times higher in comparison with practically healthy persons. The prevalence of patients with microalbuminuria for the group with the eRA was about 38 %.

**Conclusion.** In patients with eRA, already in the onset of the disease, there is a disruption of the functional status of the kidneys, which manifests itself in the worsening of reserve glomerular filtration: EDF in eRA was 34.6 % lower than in practically healthy individuals, and the number of patients with impaired FRR was significantly higher than in the control group ( $\chi^2 = 13.79$ ,  $P < 0.01$ ). The Pearson correlation analysis ( $r = -0.57$ ,  $P < 0.05$ ) also confirms the presence of negative association between the expression of urinary microprotein excretion and the severity of intraglomerular hypertension.

Ревматоидный артрит (РА) является самым частым аутоиммунным заболеванием человека [1] и занимает одно из ведущих мест среди болезней костно-мышечной системы и соединительной ткани по своей медицинской и социальной значимости. Особенностью РА является прогрессирующее течение, которое приводит к генерализации патологического процесса с вовлечением новых суставов и внесуставных структур, формированием необратимых изменений, влекущих быструю инвалидизацию больных; характерно также снижение восприимчивости к проводимой терапии [2].

Одним из наиболее тяжелых висцеральных проявлений РА является нефропатия, которая занимает особое место, поскольку остается фактором, определяющим не только тяжесть течения и прогноз заболевания, но и его исход. Нефропатия чаще проявляется незначительными, неспецифическими изменениями в анализах мочи, которые, однако, могут соответствовать выраженным структурным и функциональным почечным нарушениям [3]. По данным разных авторов, почечная патология выявляется у 20–60 % пациентов с РА и может быть связана с развитием иммунокомплексного гломерулонефрита, а также носить ятрогенный характер, обусловленный проводимой противоревматической терапией (острый и хронический интерстициальный нефрит) [4]. Исходом ревматоидной нефропатии является развитие нефросклероза, уменьшение числа функционирующих нефронов с формированием хронической почечной недостаточности, что обуславливает важность своевременной диагностики поражения почек при РА и начала терапии [5].

В частности, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) оказывают негативное влияние на функциональное состояние почек у больных РА. Влияние НПВП на почки зависит от уровня селективности [6]. Стандартные НПВП снижают в равной степени почечный кровоток и скорость клубочковой фильтрации (СКФ), ингибиторы циклооксигеназы типа 2 (ЦОГ-2) умеренно снижают почечный кровоток, что не влияет на уровень СКФ. Уязвимость почек для побочных эффектов НПВП обусловлена также тем, что изоформы циклооксигеназы, участвующие в выработке цитопротективных и противовоспалительных факторов, играют определенную физиологическую роль для почечной ткани. Поэтому при использовании

как селективных, так и неселективных НПВП потенциальный риск развития нефротического побочного действия достаточно высок [6].

При длительном течении заболевания возможно развитие вторичного амилоидоза почек. Ряд авторов отмечает, что функциональное состояние почек у больных РА I и II степени активности воспалительного процесса характеризуется снижением СКФ, канальцевой реабсорбции, нарушением транспорта электролитов, микропротеинурией [7].

Почки поражаются при раннем ревматоидном артрите (рРА) чаще, чем это диагностируется. По данным разных авторов, среди пациентов с РА поражение почек при жизни диагностируется только в 52 % случаев [8]. По частоте поражения почек РА стоит на третьем месте, уступая таким заболеваниям, как системная красная волчанка и системные васкулиты. Терминальная почечная недостаточность является самой частой причиной смерти больных РА в додиализный период нефрологии [8].

При анализе аутопсий у больных РА среди почечной патологии преобладал нефросклероз (90 %), несколько меньшей частотой наблюдаются тубулоинтерстициальные изменения (41 %), гломерулонефрит по типу мембранозного или мембранно-пролиферативного (43 %), амилоидоз почек (11 %) и почечный васкулит (6 %) [9]. Наиболее значимым проявлением поражения почек в рамках РА является амилоидоз почек, приводящий к развитию почечной недостаточности и смерти больных. При РА отсутствуют специфические проявления поражений почки, что не позволяет клиницистам ввести понятие «ревматоидная почка». Можно выделить только ряд наиболее часто встречающихся клинических проявлений почечной дисфункции при РА [10].

У больных рРА в динамике имеют место определенные сдвиги в функциональном состоянии почек. Это также подтверждается и тем, что у больных рРА в динамике заболевания повышается количество белка в моче. В условиях рРА происходит нарушение целостности тубулярного эпителия почечных канальцев. На это обстоятельство указывает заметный прирост уровня ферментов в моче, свидетельствующий о повреждении цитоплазматических мембран тубулярного эпителия с выходом в просвет канальцев компонентов цитозоля. Наличие менее выраженной ферментурии



у больных в дебюте РА подтверждает данное предположение. Видимо, в начальных стадиях болезни тубуло-эпителиальная система почек не повреждается и, возможно, выход энзимов осуществляется за счет изменения проницаемости цитомембраны. По мере прогрессирования болезни и приема лекарственных средств усиливается агрессивное воздействие на почечную паренхиму с последующим формированием цитодеструктивных процессов [11].

Патогенетической основой развития почечной дисфункции при рРА считают микроциркуляторные изменения, хроническое аутоиммунное воспаление, нарушение реологии крови, васкулиты. Частота иммунокомплексных васкулитов при РА составляет 64 % по данным биопсии кожи, нарастая по мере увеличения давности болезни [12]. Результатом вовлечения сосудистого русла и клеток крови в ревматоидное воспаление является развитие хронического ДВС-синдрома различной степени выраженности. Это приводит к нарушению микроциркуляции, что способствует развитию дегенеративно-дистрофических процессов в различных органах и тканях, в первую очередь в почках, наиболее зависящих от своевременного и значительного обмена газов крови. ДВС-синдром у больных РА рассматривается как один из факторов, определяющих хронизацию болезни и ее прогноз. С другой стороны, аутоиммунное воспаление связано с формированием иммунных комплексов и компонентов комплемента в тканях, что ведет к уменьшению числа функционирующих элементов в органах и, как следствие, – развитию органной недостаточности [13].

Почки при РА могут первично поражаться как за счет основного заболевания (антигенная агрессия соединительнотканной стромы почек), так и за счет сопутствующей патологии самой почки, что создает дополнительные условия для реализации почечных побочных эффектов НПВП. Несмотря на некоторую общность механизмов развития повреждения почек при РА и других нефропатиях, хроническое воспалительное заболевание суставов, по-видимому, не может стать причиной необратимой утраты функции почек, за исключением ревматоидного амилоидоза [14]. РА может привести к снижению функции почек или усугубить уже имеющиеся нарушения. Однако углубленные научные исследования, посвященные проблемам почечной патологии при РА, в отличие от изучения почечной дисфункции при сахарном диабете, артериальной гипертензии и так далее, отсутствуют. Редкие сведения о результатах биопсии или аутопсии почек при РА в основном сводятся к изучению амилоидной почки при суставной патологии. Между тем о поражении различных элементов нефрона, других тканевых элементов почек практически не упоминается. Отсутствует систематизация поражений почек при РА, тем более их патогенеза. Изучение почечной дисфункции при РА необходимо с точки зрения совершенствования подходов к торможению прогрессирования патологии почек [14].

Таким образом, поражение почек ассоциируется с тяжелым течением рРА. Это обстоятельство определяет необходимость мониторинга функции почек у таких больных, обуславливает научный интерес к нефроло-

гическим проблемам при рРА. Несмотря на длительный срок изучения РА, многие аспекты поражения почек при рРА остаются не раскрытыми. Во многих исследованиях отсутствует детализация распространенности различных проявлений хронической болезни почек в зависимости от тяжести и течения рРА. Между тем изучение распространенности клинических проявлений поражения почек при рРА поможет клиническому врачу оценить значимость различных сторон почечной дисфункции для прогрессирования хронического заболевания. Теоретически и практически важным является выявление сочетаний устойчивых ассоциаций между проявлениями почечной дисфункции, способствующих прогрессированию хронических воспалительных заболеваний суставов. Перспективность дифференцированного подхода к оценке почечной дисфункции в зависимости от анатомического и функционального классов рРА, течения заболевания обусловлена открывающимися возможностями в прогнозировании исходов рРА и возможностями профилактики неблагоприятной динамики заболевания.

### Цель работы

Исследование резервной фильтрационной способности почек у больных в дебюте ревматоидного артрита как потенциального маркера субклинической ренальной дисфункции.

### Материалы и методы исследования

В исследование включены 47 больных в возрасте старше 18 лет, с ранним РА (продолжительность симптомов заболевания – не более 12 месяцев). Возраст пациентов в среднем составил  $50,71 \pm 2,25$  года (от 18 до 76 лет), 80 % из них – женщины, средняя продолжительность заболевания на момент первичного исследования составила  $9,21 \pm 0,43$  месяца.

Большинство больных имели серопозитивный вариант заболевания (по ревматоидному фактору либо по циклическому цитруллин-содержащему пептиду), клиническая активность процесса согласно категоризации индекса DAS28 относилась к «высокой» активности, с умеренным нарушением функционального статуса по данным опросника HAQ (Health Assessment Questionnaire). На момент включения 24 пациента в качестве терапии регулярно принимали нестероидные противовоспалительные препараты, остальные – глюкокортикоиды.

В качестве контрольной группы обследовали 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по гендерным характеристикам и возрасту с основной группой ( $48,33 \pm 2,74$ ; 15 женщин).

Среди лабораторных показателей всем пациентам проводился традиционный общеклинический (включая лейкоцитарную формулу и скорость оседания эритроцитов (СОЭ)) и биохимический анализы крови, определение острофазовых реактантов (уровень С-реактивного протеина (СРП)).

Рассчитывали также величину соотношения альбумин/креатинин (А/К) утренней порции мочи:  $A/K = \text{альбумин мочи/креатинин мочи (мг/г креатинина)}$ .

Выраженность альбуминурии (АУ) регистрировали с учетом пола по шкале: норма – <17 мг/г креатинина для мужчин, <25 мг/г креатинина для женщин; микроальбуминурия (МАУ) – 17–250 мг/г креатинина для мужчин, 25–355 мг/г креатинина для женщин; протеинурия – >250 мг/г креатинина для мужчин, >355 мг/г креатинина для женщин.

Для полуколичественной экспресс-оценки степени экскреции альбумина с мочой также использовали оригинальные реагентные индикаторные тест-полоски: стрип-тест (Combur<sup>9</sup> Test<sup>®</sup> D, Roche Diagnostics GmbH (ФРГ)). Полоска опускалась в сосуд с мочой на 5 секунд, и через 3 минуты её окрас сравнивали со шкалой на коробке. Отмечали 6 возможных вариантов при определении АУ тест-полосками: «альбумин в моче не определяется»; «следы альбуминов» (около 150 мг/л); «300 мг/л»; «1000 мг/л»; «2000 мг/л»; «>2000 мг/л».

Оценку функционального почечного резерва (ФПР), являющегося клиническим маркером интрагломерулярной гиперфилтрации и гипертензии, проводили модифицированным методом, используя показатели клиренса эндогенного креатинина до и через 2 часа после проведения пероральной нагрузки белком в условиях адекватного водного режима. Методика проведения: утром, сразу после сна и исходного опорожнения мочевого пузыря, большой для получения достаточного минутного диуреза выпивает негазированную воду или некрепкого чая без сахара (из расчета 10 мл/кг массы тела). Точно отмечают время окончания мочеиспускания, больной ложится в постель (начало первого сбора мочи) и строго на протяжении 2 часов мочится в отдельную посуду. В середине первого сбора мочи из вены брали 5 мл крови (концентрация креатинина сыворотки). В каждой порции определяют объем мочи и вычисляют минутный диурез и концентрацию креатинина мочи. Затем по формуле для каждой порции мочи вычисляют исходный (базальный) клиренс эндогенного креатинина (КК<sub>1</sub>):  $KK_1 = (U_1/P_1) \cdot V_1$  (мл/мин), где U<sub>1</sub> – концентрация креатинина мочи (мкмоль/л); P<sub>1</sub> – концентрация креатинина крови (мкмоль/л); V<sub>1</sub> – скорость мочеотделения (мл/мин).

После этого пациент принимает белковую пищу в течение 15–30 минут и вторую пероральную водную нагрузку (из расчета 10 мл/кг массы тела), затем продолжают сбор мочи в течение последующих 2 часов (начало второго сбора мочи) и также через час (в середине второго сбора мочи) берут 6–8 мл крови из вены. Вышеописанным образом рассчитывают и стимулированный клиренс креатинина. Каждое мочеиспускание требует перорального восполнения аналогичным объемом негазированной воды (адекватный водный режим). ФПР, количественной мерой которого является разность между стимулированным клиренсом эндогенного креатинина (КК<sub>2</sub>) и его базальным уровнем, выраженная в процентах от исходного показателя КК<sub>1</sub>, рассчитывали по формуле:  $ФПР = ((KК_2 - KК_1) / KК_1) \times 100$  (%), где КК<sub>1</sub> – исходная величина клиренса эндогенного креатинина, КК<sub>2</sub> – значение клиренса эндогенного креатинина после проведения пробы.

Прирост КК после пероральной нагрузки белком по сравнению с базальной величиной, составляющий

более чем 10 %, расценивали как сохраненный ФПР, при недостаточном приросте (в пределах 5–10 % или менее 5 %) трактовали как сниженный или истощенный ФПР соответственно.

СКФ рассчитывали по формуле Cockcroft–Gault:

$$\frac{[140 - \text{возраст (лет)}] \times [\text{масса тела (кг)}]}{72 \times \text{плазменный креатинин (мкмоль/л)}} \times 88.$$

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы Statistica<sup>®</sup> for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), Microsoft Excel 2003. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Данные представляли в виде: среднее значение ± стандартная ошибка средней величины ( $M \pm m$ ). Для проверки гипотезы о нормальности распределения вариантов, выраженных в количественной шкале, применяли критерий Шапиро–Уилка. Когда невозможно было отбросить нулевую гипотезу о нормальности распределения, использовали параметрические методы анализа данных, в противоположном случае – непараметрические. Сравнение групп по качественному признаку, а также при исследовании частот встречаемости показателей проводили при помощи критерия  $\chi^2$  с анализом таблиц сопряженности с поправкой Йейтса. Оценку достоверности коэффициентов корреляции Пирсона проводили, сравнивая рассчитанные коэффициенты с критическими (исходя из свойств коэффициентов корреляции и степеней свободы).

## Результаты и их обсуждение

Полученные данные показывают, что при оценке резервной фильтрационной способности почек в целом по группе пациентов с рРА отмечено достоверное изменение этого показателя в сравнении с практически здоровыми лицами. Прирост СКФ после протеиновой пероральной нагрузочной пробы у больных рРА оказался статистически значимо ниже практически в 1,5 раза (6,71 % vs. 10,26 %,  $\Delta 34,6$  %) в сравнении с практически здоровыми лицами при исходной сопоставимости СКФ<sub>Cockcroft-Gault</sub>, что указывает на наличие элевации гидростатического давления в капиллярах клубочков с развитием интрагломерулярной гипертензии.

Оценка базальной СКФ при рРА указывала, что у части больных с рРА имеет место повышение базальной СКФ<sub>Cockcroft-Gault</sub>. Это говорит о наличии такого патологического процесса как гиперфилтрация, что наряду с внутриклубочковой гипертензией является универсальным механизмом формирования нефросклероза ( $\chi^2 = 4,61$ ,  $p < 0,05$ ).

Интересно, что среди всей когорты больных с рРА сохраненный ФПР отмечен только у 15 пациентов (31,9 %), в других случаях регистрировалась та или иная степень его снижения: 16 больных характеризовались недостаточным приростом СКФ после проведения пробы (ФПР составил 5–10 %), а у 11 больных разница между стимулируемой и базальной СКФ не



**Таблица 1.** Уровень уринарной экскреции альбумина у больных с ранним РА в зависимости от сохранности почечного резерва

Показатель, единица измерения	Больные с РА	
	ФПР >10 % (n = 15)	ФПР <10 % (n = 32)
Соотношение альбумин/креатинин мочи, мг/г креатинина	56,71 ± 5,55	89,85 ± 15,97*

\*: статистическая значимость различий между группами p < 0,05.

превышала 5 % (в норме >10 %). При этом следует отметить, что у 5 обследованных регистрировался негативный ФПР, то есть у этих пациентов стимулируемая гломерулярная фильтрация оказалась даже ниже, чем исходная, указывая на то, что нефроны находятся на максимальном функциональном уровне, и физиологическое потенцирование их путем употребления высокобелковой пищи не приводит к элевации уровня депурационной функции. Распределение больных rPA на группы в зависимости от степени нарушения ФПР показано на рисунке 1.

Однако тот факт, что под понятием «гиперфильтрация» подразумевают не только абсолютное увеличение значения базальной СКФ, но и недостаточный прирост СКФ в ответ на стимуляцию, позволил нам (после определения резервной фильтрационной способности почек) диагностировать более чем у половины всей обследуемой группы больных (68 %) начальные проявления гиперперфузионного поражения почек ( $\chi^2 = 13,79$ , p < 0,01). Различий в показателях сывороточного креатинина, мочевины, электролитов не зарегистрировано.

Анализируя полученные результаты, отметили: исходное повышение СКФ (более 140 мл/мин) регистрировалось у 25,53 % больных, что указывает на наличие гиперфильтрации у четверти обследованных даже без проведения дополнительной протеиновой стимуляции.

Ранним признаком поражения почек является микроальбуминурия, хорошо изученная при диагностике начальной диабетической, а также при сердечно-сосудистой нефропатии. Исследования уровня альбумина в моче при rPA единичны, их результаты противоречивы, что определяет актуальность проблемы изучения поражения почек при этой патологии. У

наших пациентов с rPA соотношение A/K мочи составило  $77,54 \pm 10,52$  мг/г креатинина, что в 6,3 раза выше показателя подгруппы контроля. Распространенность в целом по группе пациентов с rPA МАУ составила около 38 %. Учитывая указанные данные, можно отметить, что уже в дебюте rPA имеет место нарушение функционального состояния почек, которое характеризуется повышением экскреции альбумина с мочой, причем вероятность развития нефропатии вследствие проводимого лечения минимальная.

Далее провели анализ уровня альбуминурии в зависимости от выраженности нарушения ФПР. Данные приведены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, выраженность различий составила +36,88 % (p < 0,05) в сравнении с лицами при ФПР <10 %, что указывает на более выраженную «порозность» почечного фильтра при снижении ренального резерва фильтрации на фоне РА.

Эти результаты и проведенный корреляционный анализ по Пирсону (r = -0,57, p < 0,05) позволяют подтвердить наличие негативной сопряженности между выраженностью уринарной экскреции микропротеина и степенью тяжести внутривисочечковой гипертензии у больных с rPA.

В настоящее время для диагностики хронического поражения почек используется ряд маркеров: повышенная альбуминурия или протеинурия, стойкое изменение в осадке мочи, изменение электролитного состава крови, изменения почек по данным лучевых методов исследования, патоморфологические изменения в ткани почек, выявленные во время прижизненной нефробиопсии, стойкое снижение СКФ.

Результаты свидетельствуют: для нефропатии при rPA не свойственна яркая клиническая и лабораторная симптоматика, например, макрогематурия, острая анурия, выраженные отеки и так далее. Более характерным является латентное течение без выраженных клинических признаков поражения почек, с небольшими изменениями в анализах мочи (микрогематурия, изолированная или небольшая протеинурия), как правило, без артериальной гипертензии, что затрудняет раннюю диагностику заболевания почек, позволяющую своевременно начать специфическую терапию и замедлить прогрессирование болезни. Интерпретация мочевого синдрома, данных анамнеза и клинических симптомов позволяет лишь с небольшой долей вероятности предположить тот или иной вариант поражения почек. Однако латентное течение нефропатии у большинства больных rPA (выраженная протеинурия с формированием нефротического синдрома характерна в основном для амилоидоза почек) предопределяет проведение этой диагностической манипуляции в редких случаях. Между тем даже минимальные изменения в моче иногда соответствуют серьезным структурным и функциональным нарушениям в почках, впервые привлекая внимание врача уже на этапе формирования почечной недостаточности, что диктует необходимость поиска доступных маркеров для ранней диагностики нефропатии при rPA. В нашем случае клинически значимых различий при сопоставлении с контролем выявлено не было.



В качестве скрининговых при рРА мы использовали стандартные методы диагностики поражения почек. Это, прежде всего, общий анализ мочи, анализ мочи по Зимницкому, Фольгарду, Нечипоренко. Если при разовом анализе мочи неоднократно выявляется концентрация альбумина более 20 мг/л, то проводится оценка суточной. При выявлении в моче, собранной за сутки, концентрации альбумина более 30 мг с подтверждением этого значения в последующих анализах мочи, повторенных через 6 и 12 недель, диагностируется нефропатия. При наличии протеинурии мы ежемесячно проводили оценку суточной протеинурии. Определение МАУ с использованием иммунотурбидиметрического метода прикроватной диагностики и лиганд-рецепторного анализа у больных рРА показывает высокую чувствительность (85 % и 100 % соответственно) и специфичность (80 % и 71,4 % соответственно). Измерение концентрации альбумина в моче лиганд-рецепторным методом может быть использовано в группах риска развития амилоидоза для скринингового выявления поражения почек. Вместе с тем необходимо учитывать, что научное общество нефрологов понизило планку микроальбуминурии до 10 мг/сутки или до 10 мг альбумина на 1 г креатинина, что существенно повышает частоту обнаружения почечной патологии, переводя из плоскости нормы в плоскость патологии стойкие значения альбуминурии от 10 до 20 мг/сутки.

В последние годы было показано, что более чувствительным маркером нарушения функции почек по сравнению с креатинином является цистатин С (CysC). CysC – наиболее часто встречающийся внеклеточный ингибитор цистеиновых протеаз, который синтезируется большинством клеток и секретируется в биологические жидкости: плазму, плевральную, асцитическую, цереброспинальную жидкости. Молекулярная масса CysC невелика (13,5 kDa), что позволяет эффективно элиминировать его через почки и делает информативным маркером СКФ. Для оценки функции почек была разработана формула, позволяющая определять СКФ с учетом уровня CysC [5].

Одной из важнейших функций почек является регуляция внеклеточной жидкости. Способность почек к осмотическому разведению и концентрированию мочи отражает их суммарную функцию, поскольку в этих процессах принимают участие как клубочковый, так и канальцевый аппарат почек. Для оценки состояния этой функции почек используются методы определения относительной плотности мочи, а также исследования мочи по Зимницкому и проба с сухоядением. В работах, посвященных диагностике почечных нарушений у больных рРА, диагностическая чувствительность и специфичность методов изучения концентрационной функции почек не отражалась [12].

На сегодняшний день возрастает значимость биопсии почек при РА. Объем терапии может сильно меняться в зависимости от патогистологической картины, почечной дисфункции при этом заболевании. Однако целенаправленные исследования с прижизненным изучением морфологических изменений почек очень малочисленны. Гломерулонефрит при биопсии почек выявляется значительно реже ревматоидного

амилоидоза и развивается в начале болезни при быстропрогрессирующем течении РА. При выявлении гломерулонефрита у больных РА при биопсии почек чаще встречаются мембранозный, мембранозно-пролиферативный очаговый или диффузный гломерулонефриты. Иногда гломерулонефрит возникает много лет спустя после стихания воспалительных проявлений в суставах. Учитывая распространенность амилоидоза почек при РА, выделяют ряд специфических методик (золотой стандарт – пункционная нефробиопсия с иммунотипированием амилоида в биоптате), направленных на выявление этой патологии [15]. РА характеризуется повышением циркуляции в крови белка-предшественника амилоидных фибрилл, который, образуя нерастворимые комплексы с гликозаминогликанами, формирует отложения амилоида А. Основной локализацией отложений амилоида А при РА являются почки, что приводит к развитию почечной недостаточности. Однако длительное время амилоидоз протекает бессимптомно, а отложения амилоида имеют обратимый характер, уменьшаются на фоне иммуносупрессивной терапии и нарастают при рецидиве болезни. В связи с этим ранняя диагностика поражения почек у больных РА имеет важное клиническое значение.

Разработка методов исследования функций почек при ведении больных рРА на основе активного использования функциональных проб позволит модернизировать систему профилактики и своевременного выявления поражения органов-мишеней при хронических воспалительных заболеваниях суставов. Кроме того, изучение морфологических изменений почек в комплексе с оценкой клинических проявлений почечной дисфункции будет способствовать пониманию патогенеза висцеропатий при рРА и их связи с основным заболеванием.

## Выводы

1. У больных РА уже в дебюте заболевания имеет место нарушение функционального статуса почек, которое проявляется в ухудшении резервной гломерулярной фильтрации: ФПР при рРА был на 34,6 % ниже, чем у практически здоровых лиц, а количество пациентов с нарушенным ФПР достоверно выше, чем в контрольной группе ( $\chi^2 = 13,79$ ,  $p < 0,01$ ).

2. Формирование нефропатии при раннем РА характеризуется не только повышением экскреции микроальбумина с мочой в 6,3 раза ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой контроля, но и сопровождается снижением ренального резерва фильтрации.

3. Проведенный корреляционный анализ по Пирсону ( $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ ) позволяет подтвердить наличие негативной сопряженности между выраженностью уринарной экскреции микропротеина и степенью тяжести внутриклубочковой гипертензии.

**Перспективы дальнейших исследований.** Планируется изучить влияние иммунобиологической терапии на параметры, характеризующие функциональный статус почек при раннем РА, с соответствующей клинической оценкой нефропротективного эффекта.

## Список литературы

- [1] Яременко О.Б. Диагностика ревматоидного артрита на ранних стадиях / О.Б. Яременко // Здоровье Украины. – 2008. – №5(1). – С. 63–65.
- [2] Афанасьев И.А. Особенности течения заболевания у больных ревматоидным артритом в зависимости от наличия ревматоидного фактора / И.А. Афанасьев // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2013. – Т. 3. – №3. – С. 769.
- [3] Амирджанова В.Н. Ревматоидный артрит и качество жизни больных: методология исследований, валидация инструментов, оценка эффективности терапии: автореферат диссертации на соискание ученой степени д.мед.н. / В.Н. Амирджанова. – М., 2008. – 46 с.
- [4] Elevated rheumatoid factor and long term risk of rheumatoid arthritis: a prospective cohort study / S.F. Nielsen, S.E. Bojesen, P. Schnohr, B.G. Nordestgaard // *BMJ*. – 2012. – Vol. 345. – P. 5244.
- [5] Батюшин М.М. Клинические проявления и факторы риска поражения почек при ревматоидном артрите / М.М. Батюшин, Е.А. Выставкина // Фундаментальные исследования. – 2012. – №2–2. – С. 249–252.
- [6] Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит: диагностика, лечение / Р.М. Балабанова // *Врач*. – 2012. – №5. – С. 6–9.
- [7] EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCIIT) / B. Combe, R. Landewe, C. Lukas, et al. // *Ann. Rheum. Dis.* – 2007. – Vol. 66. – P. 34–45.
- [8] Kidney disease in RA patients: prevalence and implication on RA-related drugs management: the MATRIX study / S. Karie, F. Gandjbakhch, N. Janus et al. // *Rheumatology*. – 2008. – Vol. 47. – P. 350–354.
- [9] Ikeda S. Diagnosis and treatment in systemic amyloidosis / S. Ikeda // *Rinsho Byori*. – 2008. – Vol. 56(2). – P. 121–129.
- [10] Anticitrulin antibody and the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis / M.J. Hays Salinas, S. Retamozo, L. Vettorazzi et al. // *Medicina*. – 2013. – Vol. 73(1). – P. 21–25.
- [11] Современные методы лабораторной диагностики ревматоидного артрита / А.А. Новиков, Е.Н. Александрова, М.В. Черкасова, Е.Л. Насонов // Научно-практическая ревматология. – 2010. – №1. – С. 31–45.
- [12] Современные принципы диагностики и лечения хронической болезни почек: методическое руководство для врачей [Электронный ресурс] / М.Ю. Швецов, И.Н. Бобкова, И.Б. Колина, Е.С. Камышова; под ред. Е.М. Шиловой. – Саратов, 2011. – Ч. 2. – Режим доступа: <http://www.hdl3.ru/article/1436/>.
- [13] Держанова О.Ю. Применение основных иммунологических показателей ревматоидного артрита в клинической практике / О.Ю. Держанова // Альманах современной науки и образования. – 2013. – Т. 72(5). – С. 60–62.
- [14] Клинико-морфологический анализ лекарственных поражений почек при терапии нестероидными противовоспалительными препаратами / М.М. Батюшин, А.З. Мационис, П.Е. Повилайтите и др. // *Нефрология и диализ*. – 2009. – Т. 11. – №1. – С. 44–48.
- [15] Клинико-лабораторные и морфологические особенности поражения почек у больных ревматоидным артритом / А.А. Хрюстов, Л.А. Соколова, Т.И. Баранова, Н.Б. Крохина // *Уральский медицинский журнал*. – 2009. – №7. – С. 115–117.
- [8] Karie, S., Gandjbakhch, F., Janus, N., Launay-Vacher, V., Rozenberg, S., Mai, Ba C. U., et al. (2008). Kidney disease in RA patients: prevalence and implication on RA-related drugs management: the MATRIX study. *Revmatologiya*, 47, 350–354. doi: 10.1093/rheumatology/kem370.
- [9] Ikeda, S. (2008). Diagnosis and treatment in systemic amyloidosis. *Rinsho Byori*, 2(56), 121–129.
- [10] Hays Salinas, M. J., Retamozo, S., Vettorazzi, L., Peano, N., Cuiza, P. E., Menescardi, M. S., et al. (2013). Anticitrulin antibody and the extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Meditsina*, 73(1), 21–25.
- [11] Novikov, A. A., Aleksandrova, E. N., Cherkasova, M. V., & Nasonov, E. L. (2010). Sovremennyye metody laboratornoj diagnostiki revmatoidnogo artrita [Current methods for laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis]. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*, 1, 31–45 [in Russian].
- [12] Shvecov, M. Yu., Bobkova, I. N., Kolina, I. B., & Kamysheva, Ye. S. (2011). *Sovremennyye metody diagnostiki i lecheniya khronicheskoy bolezni pochek: metodicheskoye rukovodstvo dlya vrachej [Modern principles of diagnosis and treatment of chronic kidney disease: a methodical guide for doctors]*. Saratov. Retrieved from <http://www.hdl3.ru/article/1436/> [in Russian].
- [13] Derganova, O. Yu. (2013). Primenenie osnovnykh immunologicheskikh pokazatelej revmatoidnogo artrita v klinicheskoy praktike [Application of the basic immunological parameters of rheumatoid arthritis in clinical practice]. *Al'manakh sovremennoj nauki i obrazovaniya*, 72(5), 60–62 [in Russian].
- [14] Batyushin, M. M., Macionis, A. E., Povilaite, P. E., Dmitrieva, O. V., & Terent'ev, V. P. (2009). Kliniko-morfologicheskij analiz lekarstvennykh sredstv posle lecheniya nesteroidnymi protivovospalitel'nymi preparatami [A clinical-morphological analysis of the medicinal kidney lesions during therapy with non-steroid anti-inflammatory drugs]. *Nefrologiya i dializ*, 11(1), 44–48 [in Russian].
- [15] Khryustov, A. A., Sokolova, L. A., Baranova, T. I., & Krochina, N. B. (2009). Kliniko-laboratornye i morfologicheskie osobennosti porazheniya pochek u bol'nykh revmatoidnym artritom [Clinico-laboratorian and morphological peculiarities of renal lesion in patients with rheumatoid arthritis]. *Ural'skij medicinskij zhurnal*, 7, 115–117 [in Russian].

## References

- [1] Yaremenko, O. B. (2008). Diagnostika revmatoidnogo artrita na rannikh stadiyakh [Diagnosis of rheumatoid arthritis in early stages]. *Zdorov'ye Ukrainy*, 5(1), 63–65 [in Russian].
- [2] Afanas'yev, I. A. (2013). Osobennosti techeniya zabolevaniya u bol'nykh revmatoidnogo faktora [Features of the course of the disease in patients with rheumatoid arthritis, depending on the presence of rheumatoid factor]. *Byulleten' medicinskikh Internet-konferencij*, 3(3), 769 [in Russian].
- [3] Amirdzhanova, V. N. (2008). *Revmatoidnyy artrit i kachestvo zhizni bol'nykh: metodologiya issledovaniy, validatsiya instrumentov, ocenka effektivnosti terapii* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Rheumatoid arthritis and quality of life of patients: research methodology, instrument validation, evaluation of the effectiveness of therapy. Dr. med. sci. diss.]. Moscow [in Russian].
- [4] Nielsen, S. F., Bojesen, S. E., Schnohr, P., & Nordestgaard, B. G. (2012). Elevated rheumatoid factor and long term risk of rheumatoid arthritis: a prospective cohort study. *BMJ*, 345, 5244. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.e5244>.
- [5] Batyushin, M. M., & Vystavkina, E. A. (2012). Klinicheskie proyavleniya i faktory riska porazheniya pochek pri revmatoidnom artrite [Clinical manifestations and risk factors of renal lesions in rheumatoid arthritis]. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2–2, 249–252 [in Russian].
- [6] Balabanova, R. (2012). *Revmatoidnyy artrit: diagnostika, lechenie* [Rheumatoid arthritis: diagnosis, treatment]. *Vrach*, 5, 6–9 [in Russian].
- [7] Combe, B., Landewe, R., Lukas, C., Bolosiu, H. D., Breedveld, F., Dougados, M., et al. (2007). EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. *Ann. Rheum. Dis*, 66, 34–45. doi: 10.1136/ard.2005.044354.

## Сведения об авторе:

Прыткова А. В., соискатель каф. внутренних болезней 3, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Відомості про автора:

Прыткова Г. В., здобувач каф. внутрішніх хвороб 3, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about author:

Prytkova G. V., Applicant of the Department of Internal Diseases 3, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 23.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 08.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 09.11.2017

## Імуногістохімічні особливості хронічних гастродуоденітів у дітей із дисплазією сполучної тканини

О. М. Муквіч<sup>1</sup>, Т. Д. Задорожна<sup>1</sup>, О. В. Лавренчук<sup>2</sup>, Т. М. Арчакова<sup>1</sup>,  
С. М. Килихевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут акушерства педіатрії і гінекології НАМН України», м. Київ, <sup>2</sup>КНП «Центр первинної медико-санітарної допомоги № 1» Шевченківського району м. Києва, Україна

Особливості перебігу хронічних гастродуоденітів (ХГД), що асоційовані з дисплазією сполучної тканини (ДСТ), необхідно враховувати при прогнозуванні перебігу хвороби та визначенні тактики терапії. Важливе значення має оцінювання гістохімічних та імуногістохімічних змін СО шлунка та дванадцятипалої кишки (ДПК), як-от: експресії колагену IV типу, що дає змогу здійснити точнішу діагностику ХГД, визначити прогноз і скорегувати терапію.

**Мета роботи** – визначити гістохімічні та імуногістохімічні особливості СО шлунка та ДПК при ХГД у дітей із ДСТ.

**Матеріали та методи.** У 63 дітей із ХГД проведені гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні дослідження біоптатів шлунка та ДПК. Оцінений рівень експресії Collagen Typ IV (Ab-3), (Thermo Scientific) непрямым стрептавідин-пероксидазним методом і вміст глікозаміногліканів (ГАГ) за допомогою PAS-реакції.

**Результати.** У більшості пацієнтів без ознак ДСТ спостерігали виразне PAS-позитивне забарвлення в епітелії, OR = 7,0 (CI 1,14–42,971), а діти, в яких ХГД перебігає на тлі ДСТ, у 87,5 % демонструють її зниження або відсутність. Найбільша частота дітей із PAS-негативною реакцією встановлена у групах із вираженими проявами ДСТ. У дітей із поєднаною патологією інтенсивність експресії колагену IV типу у БМ поверхнього епітелію та епітелію залоз перевищує показник у дітей без ознак дисплазії в 1,72 раза ( $p = 0,003$ ), а щодо розповсюдженості – в 1,6 раза ( $p = 0,009$ ).

**Висновки.** Найбільша кількість дітей із PAS-негативною реакцією встановлена в групах із вираженими проявами ДСТ, що визначає порушення слиноутворення, зниження муцинів і мукоїдів, зміни фізико-хімічних властивостей слизу з формуванням слизової дистрофії, що в умовах зниження регенерації епітелію призводить до її атрофії. При ХГД у дітей із ДСТ експресія колагену IV типу у БМ поверхнього епітелію та епітелію залоз перевищує показник у дітей без ознак дисплазії в 1,72 раза, а щодо розповсюдженості – в 1,6 раза, що визначає порушення будови епітеліальних, судинних БМ і стає однією з головних причин прогресування фіброзу.

### Ключові слова:

діти, дисплазія сполучної тканини, гастродуоденіт, глікозаміноглікани, колаген IV тип.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 305–309

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2017.3.118734

**E-mail:**  
ov.lavrenchuk@gmail.com

## Иммуногистохимические особенности хронических гастродуоденитов у детей с дисплазией соединительной ткани

Е. Н. Муквич, Т. Д. Задорожная, О. В. Лавренчук, Т. Н. Арчакова, С. Н. Килихевич

Особенности течения хронических гастродуоденитов (ХГД), ассоциированных с дисплазией соединительной ткани (ДСТ), необходимо учитывать при прогнозировании течения болезни и определении тактики терапии. Важное значение имеет оценка гистохимических и иммуногистохимических изменений СО желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК), а именно: экспрессия коллагена IV типа, что позволит провести более точную диагностику ХГД, определить прогноз и скорректировать терапию.

**Цель работы** – определить гистохимические и иммуногистохимические особенности СО желудка и ДПК при ХГД у детей с ДСТ.

**Материалы и методы.** У 63 детей с ХГД проведены гистологические, гистохимические и иммуногистохимические исследования биоптатов желудка и ДПК. Оценены уровень экспрессии Collagen Typ IV (Ab-3), (Thermo Scientific) непрямым стрептавідин-пероксидазным методом и содержание глікозаміногліканів (ГАГ) с помощью PAS-реакции.

**Результаты.** У большего количества пациентов без признаков ДСТ наблюдалась отчетливая PAS-положительная окраска в эпителии, OR = 7,0 (CI 1,14–42,971), а дети, у которых ХГД протекает на фоне ДСТ, в 87,5 % демонстрируют ее снижение или отсутствие. Наибольшая частота детей с PAS-отрицательной реакцией установлена в группах с выраженными проявлениями ДСТ. У детей с сочетанной патологией интенсивность экспрессии коллагена IV типа в БМ поверхностного эпителия и эпителия желез превышает показатель у детей без признаков дисплазии в 1,72 раза ( $p = 0,003$ ), а по распространенности – в 1,6 раза ( $p = 0,009$ ).

**Выводы.** Наибольшее количество детей с PAS-отрицательной реакцией установлено в группах с выраженными проявлениями ДСТ, что определяет нарушение слизеобразования, снижение муцинов и мукоидов и изменения физико-химических свойств слизи с формированием слизистой дистрофии, в условиях снижения регенерации эпителия приводит к ее атрофии. При ХГД у детей с ДСТ экспрессия коллагена IV типа в БМ поверхностного эпителия и эпителия желез превышает показатель у детей без признаков дисплазии в 1,72 раза, а по распространенности – в 1,6 раза, что определяет нарушение строения эпителиальных, сосудистых БМ и является одной из главных причин прогрессирования фиброза.

### Ключевые слова:

дети, дисплазия соединительной ткани, гастродуоденит, глікозаміноглікани, коллаген IV тип.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 305–309



**Key words:**

children,  
connective tissue  
diseases gastritis  
hypertrophic,  
gastro-duodenitis,  
glycosaminoglycans,  
collagen type IV.

**Pathologia**

2017; 14 (3), 305–309

## Immuno-histochemical features of chronic gastro-duodenitis in children with connective tissue dysplasia

O. M. Mukvich, T. D. Zadorozhnaja, O. V. Lavrenchuk, T. N. Archakova, S. M. Kylyhevych

Better predicting the outcome of chronic gastro-duodenitis (CGD) and plan therapeutic intervention in children with connective tissue dysplasia (CTD) requires the accurate account of the pathological processes associated with CTD. Evaluations of histochemical and immune-histochemical changes in the small intestinal (SI) and stomach mucosa, particularly changes in collagen IV expression, improve the diagnostics of chronic CGD and predicting the disease outcome, providing a rationale for therapy approaches.

**The aim of research:** to define histochemical and immuno-histochemical characteristics of stomach and duodenal mucus in children with CGD combined with CTD.

**Materials and methods.** Stomach and SI biopsies from 63 children with CTD were examined using histological, histochemical and immune-histochemical approaches. Collagen Type IV (Ab-3) expression in each group was measured indirectly via streptavidin-peroxidase assay (Thermo Scientific), while the content of neutral glycosaminoglycans was examined by PAS-staining.

**Results.** Most patients without CTD have elevated PAS-reaction OR = 7.0 (CI 1.14–42.971), when 87.5 % of children with CGD on a CTD background show significant decrease or absence of PAS-positive staining. The highest number of children with PAS-negative staining was identified in the groups with pronounced CTD. In children with the combined pathologies, the intensity of Collagen IV expression in BM of surface and glandular epithelium is 1.72 times ( $P = 0.003$ ) higher than in children without dysplasia while its spread is also 1.6 times higher ( $P = 0.009$ )

**Conclusions.** The greatest number of children having PAS-negative staining was found in a group with well manifested CTD, which reflects the changes in saliva production, the decrease in mucins and mucoids, and also changes in physicochemical properties of the mucus that lead to a true mucus dystrophy. In children having CGD combined with CTD, the Collagen IV expression in BM of surface and glandular epithelium is 1.72 times higher than in children without dysplasia, while its spread is 1.6 times higher. This indicates the damage of epithelial and endothelial BM and is one of the major causes of fibrosis development.

В останні роки суттєво зростає кількість дітей із генетично зумовленими змінами екстрацелюлярного матриксу: порушеннями співвідношення колагенів різних типів, причини виникнення яких можуть відбуватись внаслідок аномального синтезу, збірки колагену або надмірної його деградації [1]. Порушення фібрилогенезу та метаболізму сполучної тканини призводить до її трансформації, що супроводжується зниженням репарації, порушенням ангіогенезу, наслідком яких є рання хронізація запального процесу [2]. Перебіг патологічних процесів, що асоційовані з дисплазією сполучної тканини (ДСТ), має свої особливості, котрі необхідно враховувати при прогнозуванні перебігу захворювань і визначенні тактики терапії такої категорії дітей. Закономірним є негативний вплив диспластикозалежних змін на перебіг захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ), який містить найбільшу кількість колагену [3]. Отже, в умовах персоніфікованого підходу до вибору терапевтичних заходів особливого значення набувають структуральні зміни слизової оболонки шлунка (СОШ) при хронічних гастродуоденітах (ХГД) у дітей, що асоціюються з дезорганізацією екстрацелюлярного матриксу.

Для дослідження механізмів пошкодження слизових оболонок шлунка та ДПК важливе значення має оцінювання гістохімічних та імуногістохімічних їхніх змін, що дає змогу не тільки здійснити точнішу діагностику ХГД, а й визначити прогноз подальшого перебігу хвороби та обґрунтувати необхідність інтенсифікації терапевтичних заходів. Визначення експресії молекул колагену IV типу, що є основним структурним елементом БМ клітин, забезпечуючи їх нерозчинність і механічну стабільність, представляє науковий і практичний інтерес [4].

### Мета роботи

Визначення гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних особливостей СОШ і ДПК при ХГД у дітей із дисплазією сполучної тканини.

### Матеріали і методи дослідження

У 63 дітей із морфологічно верифікованим діагнозом ХГД проведені гістохімічні та імуногістохімічні дослідження біоптатів шлунка та ДПК. Біопсію взяли згідно з загальною декларацією з біоетики та прав людини, що ухвалена Генеральною конференцією ЮНЕСКО 19 жовтня 2005 року.

Залежно від ступеня диспластичних проявів (за класифікацією Т. Мілковської-Дімітрової в модифікації Л. Н. Абакумової) [5] та ефективності відповіді на терапію (згідно з протоколом), яку оцінювали за кількістю рецидивів ХГД на рік, дітей поділили на групи:

група А – діти з кількістю балів ДСТ  $\leq 12$ , які мали задовільну відповідь на протоколу терапію, рецидиви не частіше 1 разу на рік і не потребували стаціонарного етапу лікування;

група В – діти з кількістю балів  $\leq 12$ , рецидивами частіше 2–3 разів на рік, при цьому чимала частина цих дітей мала обтяжений по хронічних захворюваннях ШКТ сімейний анамнез і потребувала госпіталізації;

група С – діти з помірним і вираженим (13–52 бали) ступенем дисплазії, частота рецидивів 1–2 рази на рік, без потреби в госпіталізації;

група D – діти з помірним і вираженим ступенем дисплазії, частими загостреннями, що зазвичай потребували стаціонарного етапу лікування.

Гістохімічні та імуногістохімічні дослідження біоптатів здійснені на мікроскопі (Olympus CX 31) із комп'ютерною приставкою з фотодокументуванням.

Слизоутворювальну функцію епітеліоцитів визначали за допомогою PAS-реакції з шифф-йодною кислотою. Результати оцінювались залежно від ступеня забарвлення препаратів і визначались кількістю плюсів: (+) – слабо виражена інтенсивність забарвлення, (++) – помірно виражене забарвлення, (+++) – виражене забарвлення, (++++) – різко виражена інтенсивність забарвлення.

Рівень експресії Collagen Typ IV (Ab-3), (Thermo Scientific) визначали непрямим стрептавідин-пероксидазним методом. Інтерпретацію результатів імунозабарвлення здійснили з використанням моноклональних антитіл до Collagen Typ IV, розповсюдженість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом у балах (від 0 до 3):

А) 0 – відсутнє видиме забарвлення, 1 – слабе забарвлення, 2 – помірне забарвлення, 3 – виражене забарвлення.

В) 0 – забарвлення відсутнє, 1 – менше ніж 10 % позитивно забарвлених БМ, 2 – понад 10 % і менше ніж 50 % позитивно забарвлених БМ, 3 – гомогенне забарвлення понад 50 % БМ.

Статистична вірогідність відмінності між групами вимірів встановлена за  $r$ -значеннями статистики двовибіркового непараметричного  $U$ -критерію Манна–Уїтні. Статистичну вірогідність між частотними даними у вигляді таблиці спряженості обчислили за точним тестом Фішера [7].

## Результати та їх обговорення

Встановили, що в дітей групи А у шлунку спостерігалось PAS-позитивне інтенсивно-рожеве забарвлення цитоплазми поверхневого епітелію та епітелію залоз.

У ДПК по апікальній зоні поверхневого епітелію у вигляді тонкої смужки, у вакуолях бокалоподібних клітин, у бруннерових залозах – забарвлення цитоплазми епітелію. PAS-реакція групи В була двох типів: у половини – знижена чи не проявлялась, а в іншій половини – підвищена, що може свідчити про порушення тканинної та судинної проникливості та наявність вираженішого запального процесу, ніж у дітей групи А. У більшості обстежених пацієнтів групи С (62,5 %) інтенсивність PAS-реакції була зниженою чи не проявлялась зовсім і тільки у третини (37,5 %) – підвищеною. У 87,5 % дітей групи D PAS-реакція знижена або не проявлялась взагалі, й тільки у 12,5 % – помірно виражена, що визначає вираженіше порушення в них позаклітинного матриксу.

Дані, наведені в *таблицях 1, 2*, демонструють, що більшість пацієнтів, які не мають ознак ДСТ (групи А та В), мають виразну PAS-реакцію. При цьому діти, в яких запальний процес перебігає на тлі ДСТ, у 87,5 % демонструють знижені та/або відсутні показники PAS-реакції.

Найбільша частота дітей із PAS-негативною реакцією встановлена у групі D. Між групами С і D виявили статистичну відмінність за 90-відсотковим рівнем значущості.

Отже, в умовах запалення в дітей із дезорганізацією СТ посилюється типова проліферативно-клітинна реакція, котра ще на ранніх стадіях набуває фіброзного характеру, поширюються диспротеїномічні

**Таблиця 1.** Гістохімічні особливості слизових оболонок шлунка та ДПК у дітей, абс. ч. (%)

Групи дітей	Значення PAS-реакції	
	Знижена та/або відсутня	Підвищена
Група А, n = 16	1 (6,3)	15 (93,7)
Група В, n = 14	7 (50,0)	7 (50,0)
Група С, n = 17	9 (52,9)	8 (47,1)
Група D, n = 16	14 (87,5)	2 (12,5)

**Таблиця 2.** Відношення шансів підвищеної PAS-реакції в різних підмножинах пацієнтів, які згруповані залежно від наявності ДСТ і частоти рецидивів

Групи дітей	Знижена/відсутня	Підвищена	OR	p	95 % LBCI	95 % UBCI
Поєднані множини пацієнтів. Фактор – відсутність ДСТ. Наслідок – підвищене значення PAS-реакції.						
A + B	8	22	7,7	0,013	2,603	22,777
C + D	23	10				
Пацієнти з нечастими рецидивами. Фактор – відсутність ДСТ. Наслідок – підвищене значення PAS-реакції.						
A	1	15	16,875	0,013	1,802	158,058
C	9	8				
Пацієнти з частими рецидивами. Фактор – відсутність ДСТ. Наслідок – підвищене значення PAS-реакції.						
B	7	7	7,0	0,035	1,14	42,971
D	2	14				

OR: відношення шансів; **p-значення**: вірогідність нульової гіпотези про випадковість результату; **LBCI** та **UBCI**: нижня та верхня межі довірчого інтервалу відношення шансів [7].

порушення та розвивається порушення слизопродукуючої функції епітеліоцитів, підґрунтям якого є зниження вмісту нейтральних (PAS-позитивних) ГАГ, що відіграють важливу роль у захисній функції СОШ і ДПК, перешкоджаючи проникненню зовнішніх агресивних агентів у підслизовий простір. Перивазальне зниження нейтральних ГАГ сприяє формуванню мікроциркуляторних порушень і посилює проникливість слизового бар'єра, що зумовлює формування гіперсенситивних процесів.

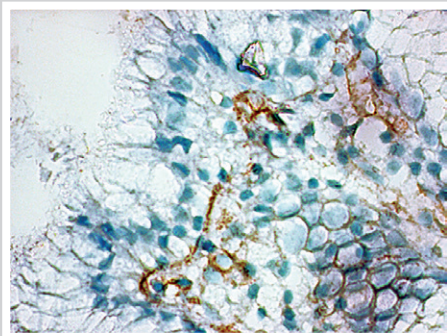
Зниження вмісту PAS-позитивних речовин у СОШ і ДПК у дітей із ХГД на тлі ДСТ визначає не тільки порушення слизоутворення та зниження муцинів і мукоїдів, але й зміни фізико-хімічних властивостей слизу, при якому багато секретуючих клітин гинуть і десквамуються, вивідні протоки залоз обтураються слизом, що призводить до розвитку кіст і надалі формування слизової атрофії. Інколи в залозистих структурах накопичується не справжній слиз, а слизоподібні речовини (псевдо-муцини). Слизова дистрофія, як правило, формується в результаті запального процесу СО будь-якого генезу, але її наслідки визначаються ступенем і тривалістю підвищеного слизоутворення, а також особливостями структури муцинів. У дітей без ДСТ регенерація епітелію призводить до повного відновлення СО, а при дезорганізації СТ вона атрофується, потім фіброзується, що, природно, позначається на функції органа. Дані, що одержали, відповідають дослідженню, в якому доведено вираженіше зниження рівня нейтральних глікозаміногліканів у дітей із тривалим і рецидивним перебігом ХГД [6].

При імуногістохімічному дослідженні СОШ і ДПК експресія колагену IV типу відзначалась у стінці судин

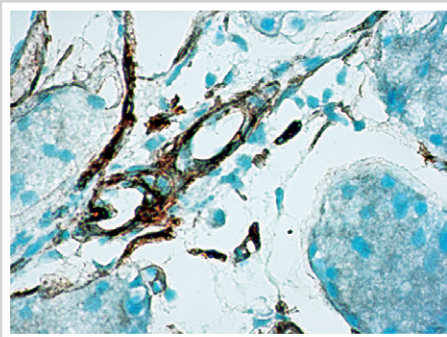
Таблиця 3. Інтенсивність і розповсюдженість експресії колагену IV типу при ХГД у дітей, бали.

Показник		Середнє значення експресії колагену IV типу		
		ХГД, N = 30	ХГД на тлі ДСТ, n = 33	P
Стінка судин власної пластинки	інтенсивність	2,23	2,12	0,45
	розповсюдженість	2,50	2,88	0,01
Базальна мембрана поверхневого епітелію та епітелію залоз	інтенсивність	0,67	1,15	0,003
	розповсюдженість	0,70	1,12	0,009

p-значення: вірогідність нульової гіпотези U-тесту Манна-Уїтні [7] про різницю між непараметричними показниками груп дітей із ХГД і ХГД на тлі ДСТ.



**Рис. 1.** Біоптат слизової оболонки шлунка. Експресія колагену IV типу виявляється у стінці судин у базальній мембрані поверхневого епітелію у вигляді тонкої, переривчастої смужки – інтенсивність – 1 бал, поширеність – 1 бал. Хронічний гастрит, помірний, неактивний. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії з МКАТ колагену IV типу (імуногістохімічне дослідження). Зб.: 10 × 40.



**Рис. 2.** Біоптат слизової оболонки шлунка. Експресія колагену IV тип виявляється у стінці судин базального відділку власної пластинки слизової оболонки шлунку – поширеність 3 бали, інтенсивність – 3 бали. Хронічний гастрит, помірний, неактивний. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії з МКАТ колагену IV типу (імуногістохімічне дослідження). Зб.: 10 × 40.

власної пластинки та у БМ частини залоз епітелію. Експресію колагену IV типу спостерігали у вигляді окремих позитивно забарвлених вогнищ у БМ поверхневого епітелію та поодиноких залозистих структурах. Експресія колагену в дітей із легкими проявами ДСТ була невиражена, спостерігалась, в основному, у стінці судин м'язової та власної пластинки з інтенсивністю та розповсюдженістю 1–2 бали, а у БМ поверхневого епітелію та епітелію крипт — у вигляді тонкої переривчастої смуги (рис. 1).

У дітей з асоційованою патологією експресія колагену IV типу у стінці судин власної пластинки була вираженішою з інтенсивністю та розповсюдженістю до 2–3 балів. У БМ також встановлена щільна експресія колагену IV типу з високою інтенсивністю та поширеністю (1–2 бали), що може свідчити про порушення будови епітеліальних і судинних БМ, тому що колаген IV типу входить до їхнього складу.

Дані наведені в таблиці 3 свідчать, що в дітей із поєднаною патологією інтенсивність експресії колагену IV типу у БМ поверхневого епітелію та епітелію залоз перевищує показник у дітей без ознак дисплазії в 1,72 раза ( $p = 0,003$ ), а щодо розповсюдженості – в 1,6 раза ( $p = 0,009$ ).

Дані, що одержали, показують: інтенсивна руйнація генетично зміненого колагену в дітей із ДСТ призводить до його відкладення в БМ, а отже збільшується проникнення у тканини білків і глікопротеїнів плазми крові, що посилює запальний процес і стає своєрідною причиною «замкнутого кола» (рис. 2).

Поряд з тим збільшення концентрації генетично змінених волокон колагену у БМ призводить до їхнього розрідження та розщеплення, а отже збільшує проникливість.

Слід також врахувати, що IV тип колагену є прямим маркером фіброзу тканин, а прогресування фіброзу тканин зумовлено зменшенням експресії матриксних протеаз і супроводжується зміною типу колагену позаклітинного матриксу та/або їхнє співвідношенням. Порушення синтезу колагену клітинами строми, яке проявляється збільшенням експресії колагену IV на ранніх стадіях ХГД, призводить до посилення продукції секреторними фібробластами колагену IV типу та формуванням фібротичних змін. Підвищення експресії колагену IV типу при ХГД, асоційованим із ДСТ, імовірно, зумовлено тим, що при запальних процесах у дітей із структурно зміненими колагеновими волокнами наявний послідовний розвиток раннього фіброзування тканин, який супроводжується збільшенням розрідження та розщеплення БМ. Інтенсивне та розповсюджене відкладення колагену у стінці судин призводить на прикінцевому етапі до їхньої оклюзії з формуванням мікроциркуляторних порушень [3], що, своєю чергою, збільшує тканинну гіпоксію та підтримує високу активність фіброгенезу. Є дослідження, де підтверджено підвищення експресії колагену 1 та 3 типів при ХГД на тлі ДСТ [4].

Отже, аналіз гістохімічних та імуногістохімічних даних вказує на те, що в дітей із запальними процесами на тлі ДСТ відбувається виражена експресія колагену IV типу, що визначає збільшення частоти проявів стромально-епітеліальної перебудови СОШ і свідчить про порушення трофічної функції власної пластинки СО та зниження якості регенераторних процесів. Порушення будови епітеліальних, судинних БМ стає однією з головних причин прогресування фіброгенезу.

## Висновки

1. Гістохімічно в СО біоптатів дітей із ХГД встановлено виражену інтенсивну PAS-реакцію, OR = 7,0 (CI 1,14–42,971) порівняно з дітьми з асоційованою патологією (ХГД на тлі ДСТ), в яких у 87,5 % виявляється її зниження та/або відсутність.

2. При ХГД у дітей із ДСТ експресія колагену IV типу у БМ поверхневого епітелію та епітелію залоз



перевищує показник у дітей без ознак дисплазії – в 1,72 раза, а щодо розповсюдженості – в 1,6 раза, що визначає порушення будови епітеліальних, судинних базальних мембран і стає однією з головних причин прогресування фіброзу в цієї категорії дітей.

3. Для оцінювання подальшого перебігу та прогнозу ХГД необхідним є врахування ознак ДСТ, наявність яких впливає на основні патогенетичні процеси в СОШ і СО ДПК. Порушення формування опорнотрофічних функцій СТ і периваскулярного екстрацелюлярного матриксу зумовлюють зниження регенераторної функції з розвитком атрофії СО та раннього формування фібротичних процесів, що може бути однією з основних причин частих рецидивів запального процесу та недостатньої ефективності терапевтичних заходів.

### Список літератури

- [1] Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М. : Изд-во иностр. лит-ры, 1962. – 962 с.
- [2] Calabro N.E. Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly / N.E. Calabro, N.J. Kristofik, T.R. Kyriakides // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1840. – P. 2396–2402.
- [3] Ангиогенез и васкулоэндотелиальный фактор роста, роль в патологии желудочно-кишечного тракта / О.В. Завьялова, Ю.М. Сливаковский, Н.Б. Захарова и др. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2014. – Вып. 110. – №10. – С. 77–82.
- [4] Нестеренко З.В. Современные аспекты диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта у детей с дисплазией соединительной ткани / З.В. Нестеренко // *Terra medica.* – 2016. – №3. – С. 19–23.
- [5] Аббакумова Л.Н. Клинические формы дисплазии соединительной ткани у детей : учебное пособие / Л.Н. Аббакумова. – СПб. : СПб-ГПМА, 2006. – 47 с.
- [6] Боброва В.И. Особливості цитопротекторної функції слизової оболонки шлунка в дітей при хронічному гастродуоденіті / В.И. Боброва // *Перинатология и педиатрия.* – 2014. – №3. – С. 55–59.
- [7] Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

### References

- [1] Pirs, E. (1962) *Gistokhimiya teoreticheskaya i prikladnaya [Theoretical and applied histochemistry]*. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoї literatury. [in Russian].
- [2] Calabro, N. E., Kristofik, N. J., & Kyriakides, T. R. (2014) Thrombospondin-2 and extracellular matrix assembly. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1840, 2396–2402. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.013.
- [3] Zavyalova, O. V., Spivakovskiy, Y. M., Zakharova, N. B., Chernenkov, Y. V., & Zlobina, O. V. (2014). Angiogenesis and vascular endothelial growth factor, role in the pathology of the gastrointestinal tract. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*, 110(10), 77–82. [in Russian].
- [4] Nesterenko, Z. V. (2016). Sovremennye aspekty diagnostiki zabolevanij zheludochno-kishechnogo trakta u detej s displaziej soedinitel'noj tkani [Modern aspects of diagnosis gastrointestinal disease in children with manifestations of connective tissue dysplasia]. *Terra medica*, 3, 19–23. [in Russian].
- [5] Abbakumova, L. N. (2006). *Klinicheskie formy displazii soedinitel'noj tkani u detej [Displazija soedinitel'noj tkani u detej]*. Saint Petersburg. [in Russian].
- [6] Bobrova, V. I. (2014) Osoblyvosti tsytoprotektoornoї funktsii slyzovoi obolonky shlunka v ditej pry khronichnomu gastroduodeniti [The features of cytoprotective function in children gastric mucosa with chronic gastroduodenitis]. *Perinatologiya i pediatriya* 3, 55–59. [in Ukrainian].
- [7] Glanz, S. (1998) *Mediko-biologicheskaya statistika [Medical and biological statistics]*. Moscow: Praktika [in Russian].

### Відомості про авторів:

Муквич О. М., д-р мед. наук, головний науковий співробітник відділення хвороб сполучної тканини у дітей, ДУ «Інститут акушерства педіатрії і гінекології НАМН України», м. Київ.  
Задорожна Т. Д., д-р мед. наук, професор, член-корр. НАМН України, керівник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут акушерства педіатрії і гінекології НАМН України», м. Київ.

Лавренчук О. В., дільничний педіатр, КНП «ЦПМСП № 1» Шевченківського району м. Києва, Україна.

Арчакова Т. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут акушерства педіатрії і гінекології НАМН України», м. Київ.

Килихевич С. М., канд. мед. наук, науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут акушерства педіатрії і гінекології НАМН України», м. Київ.

### Сведения об авторах:

Муквич Е. Н., д-р мед. наук, главный научный сотрудник отделения болезней соединительной ткани у детей, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев.

Задорожная Т. Д., д-р мед., профессор, член-корр. НАМН Украины, руководитель лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев.

Лавренчук О. В., участковый педиатр, КНП «ЦПМСП № 1» Шевченковского района г. Киева, Украина.

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

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

### Information about authors:

Mukvich O. M., MD, PhD, DSc, Chief Researcher, SI "Institute of pediatrics, obstetrics and gynaecology of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Zadorozhnaja T. D., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Head of the Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of pediatrics, obstetrics and gynaecology of NAMS Ukraine", Kyiv.

Lavrenchuk O. V., District Doctor, Public Non-Profit Enterprise "Center of primary medical and sanitary health #1", Shevchenko district, Kyiv, Ukraine.

Archakova T. N., MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of pediatrics, obstetrics and gynaecology of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kylyhevych S. M., MD, PhD, Researcher, Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of pediatrics, obstetrics and gynaecology of NAMS of Ukraine", Kyiv.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 06.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 01.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 04.11.2017

## Кровоток яєчників у жінок репродуктивного віку та ехографічне оцінювання впливу на нього субтотальної гістеректомії

Т. В. Лещева

Дніпровський медичний інститут традиційної та нетрадиційної медицини, м. Дніпро, Україна

### Ключові слова:

кровообіг яєчників, лейоміома, матка.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 310–313

### DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118737

### E-mail:

doctorolga11@gmail.com

**Мета роботи** – вивчити особливості кровопостачання яєчників після субтотальної гістеректомії в репродуктивному віці.

**Матеріали та методи.** Відповідно до мети та завдання до дослідження включено 150 жінок репродуктивного віку, які становили 4 групи. 125 пацієнок із них страждали на лейоміому матки, 100 з них виконали гістеректомію (ГЕ) – надпівову ампутацію матки (НАМ), що відповідає субтотальній ГЕ (СГЕ).

**Результати.** Обстежені здорові жінки з контрольної групи, де середній об'єм яєчників становив  $5,2 \pm 0,2$  см<sup>2</sup>. Цей показник не відрізнявся від параметрів здорових жінок репродуктивного віку. Під час дослідження структури яєчників та їхніх розмірів у пацієнок із лейоміомою матки привертало до себе увагу збільшення розмірів яєчників до  $6,0 \pm 0,4$  см<sup>2</sup> і присутність кістозних змін у деяких випадках. Також проаналізували кровотік в яєчникових артеріях, причому в жінок контрольної групи вивчали кровотік згідно з фазами менструального циклу. У хворих із лейоміомою матки дослідження проводили до операції та протягом року після неї.

**Висновки.** УЗД виявило поступове зменшення об'єму яєчників із часом у післяопераційний період. Дуплексне сканування з визначенням індексів, що характеризують кровотік, виявило незначне погіршення кровопостачання яєчників уже через 1 рік після ГЕ порівняно з хворими на лейоміому матки та здоровими жінками аналогічного віку. ІР виявився показником, що першим реагував на змінення тону судинного річища. У більшості оперованих хворих не виявили циклічних змін кровотоку в яєчничовій артерії, що характерно для жінок репродуктивного віку. Зміна кровотоку є більш ранньою та чутливою ознакою порушення функції яєчників. У 2,5 % хворих на лейоміому матки після СГЕ діагностовано кістозні змінення яєчників у поєднанні з різким пригніченням кровотоку, це дає змогу стверджувати, що кістозна зміна яєчників, по суті, є такою на тлі вираженої ішемії органа. Ці результати необхідно враховувати, розробляючи алгоритм ведення пацієнок після оперативного лікування лейоміоми матки в об'ємі СГЕ.

### Ключевые слова:

кровообеспечение яичников, лейомиома, матка.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 310–313

## Кровоток яичников у женщин репродуктивного возраста и эхографическая оценка влияния на него субтотальной гистерэктомии

Т. В. Лещева

**Цель работы** – изучить особенности кровоснабжения яичников после субтотальной гистерэктомии в репродуктивном возрасте.

**Материалы и методы.** В соответствии с целью и задачами в работу включено 150 женщин репродуктивного возраста, которые составили 4 группы. 125 пациенток из них страдали лейомиомой матки, 100 из которых выполнена гистерэктомия (ГЭ) – надвлагалищная ампутация матки (НАМ), что соответствует субтотальной ГЭ (СГЭ).

**Результаты.** Нами обследованы здоровые женщины контрольной группы, у которых средний объем яичников составил  $5,2 \pm 0,2$  см<sup>2</sup>. Этот показатель не отличался от параметров здоровых женщин репродуктивного возраста. При исследовании структуры яичников и их размеров у пациенток с лейомиомой матки обращали на себя внимание увеличение размеров яичников ( $6,0 \pm 0,4$  см<sup>2</sup>) и наличие в некоторых из них кистозных изменений. Также нами проанализирован кровоток в яичниковых артериях, причем у женщин контрольной группы изучали кровоток по фазам менструального цикла. У больных лейомиомой матки исследование проводилось до операции и в течение года после ее выполнения.

**Выводы.** УЗИ выявило постепенное уменьшение объема яичников по мере увеличения продолжительности послеоперационного периода. Дуплексное сканирование с определением индексов, характеризующих кровоток, выявило незначительное ухудшение кровоснабжения яичников уже через 1 год после удаления матки по сравнению с пациентками с лейомиомой матки и здоровыми женщинами аналогичного возраста. ІР оказался показателем, который первым реагировал на изменение тонуса сосудистого русла. У большинства оперированных больных нами не обнаружены циклические изменения кровотока в яичниковой артерии, что характерно для пациенток репродуктивного возраста. Изменение кровотока является ранним и более чувствительным признаком нарушения функции яичников. У 2,5 % больных лейомиомой матки после СГЭ диагностированы кистозные изменения яичников в сочетании с резким угнетением кровотока, это позволило нам утверждать, что кистозные изменения яичников, по сути, являются кистозными изменениями на фоне выраженной ишемии органа. Эти результаты необходимо учитывать при разработке алгоритма ведения пациенток после оперативного лечения миомы матки в объеме СГЭ.

### Key words:

ovarian blood supply, leiomyoma, uterus.

### Pathologia

2017; 14 (3), 310–313

## Ovarian blood supply in women of reproductive age and echo-graphic evaluation of influence of subtotal hysterectomy on it

T. V. Leshcheva

**Purpose of the study.** To study the peculiarities of ovarian blood supply after subtotal hysterectomy in the reproductive age.

**Materials and methods of research.** In accordance with the purpose and objectives of the work 150 women of reproductive age were included, there were 4 groups. 125 patients suffered from uterine leiomyoma, 100 of whom had a hysterectomy (HE) – a supravaginal uterus amputation (SUA), which corresponds to a subtotal HE (SHE).

**Results.** When examining a group of healthy women of the control group, we determined the average volume of the ovaries –  $5.2 \pm 0.2 \text{ cm}^2$ , which did not differ from the average size for healthy women of reproductive age. When studying the structure of the ovaries and their size, several large ovarian dimensions ( $6.0 \pm 0.4 \text{ cm}^2$ ) and the presence of cystic changes in some of them have attracted attention in patients with leiomyoma of the uterus. In addition to the study of the anatomical characteristics of the ovaries, we investigated the blood flow in the ovarian arteries, and the study of blood flow was carried out according to the phases of the menstrual cycle in the women of the control group, as well as in patients with uterine leiomyoma – one year before and after the operation.

**Conclusions.** Ultrasound showed a gradual decrease in volume as the duration of the postoperative period increased. Duplex scanning with the determination of indices characterizing the blood flow revealed a slight deterioration in the blood supply of the ovaries within 1 year after removal of the uterus compared with patients with uterine leiomyoma and healthy women of similar age. IER was the most sensitive index, which was the first to react to the change in the tone of the vascular bed. In more than half of operated patients we did not find any cyclic changes in the blood flow in the ovarian artery, which was characteristic of healthy patients of reproductive age. Change in blood flow is early and more sensitive sign of impaired ovarian function. Cystic ovarian changes, found in 2.5 % of patients with uterine leiomyoma after SHE, were combined with a sharp suppression of the blood flow, which allowed us to assert that cystic ovarian changes, in fact, are the cystic degeneration against the background of severe ischemia of the organ. The results obtained should be taken into account when developing an algorithm for managing patients after surgical treatment of uterine fibroids in the volume of the SHE.

Проблема дисфункції яєчників – одна з найактуальніших у сучасній гінекології, що зумовлено збільшенням у нашій країні кількості жінок репродуктивного віку, які страждають на різну генітальну патологію, котра вимагає оперативного лікування [1].

У репродуктивному віці частіше за інші виявляються такі захворювання, як-от: лейоміома матки та ендометріоз, що потребують оперативного втручання в майже 60 % випадків. Провідною маніпуляцією є гістеректомія [2].

Відомо: папістеректомія супроводжується симптомокомплексом, що характеризується вегето-судинними, психоемоційними та обмінно-ендокринними змінами в організмі жінки та призводить до істотного зниження якості життя. Збереження одного або навіть двох яєчників, відсутність оперативних ускладнень не виключає розвитку описаного патологічного симптомокомплексу. Багато дослідників пов'язують вказані ускладнення з гіпофункцією яєчників, що виникає у зв'язку з порушенням кровопостачання, іннервації яєчників під час оперативного втручання [3,4].

## Мета роботи

Вивчити особливості кровопостачання яєчників після субтотальної гістеректомії в репродуктивному віці.

## Матеріали і методи дослідження

Відповідно до мети та завдання до роботи включено 150 жінок репродуктивного віку, які становили 4 групи.

125 пацієнток із них страждали на лейоміому матки, 100 з них виконана гістеректомія (ГЕ) – надпіхову ампутацію матки (НАМ), що відповідає субтотальній ГЕ (СГЕ). Група 1 – 50 пацієнток репродуктивного віку, які перенесли СГЕ та отримували загальноприйнятні реабілітаційні заходи. Група 2 – 50 жінок після СГЕ, які отримували гормональну корекцію та метаболічну терапію. Група 3 – 25 жінок репродуктивного віку з лейоміомою матки невеликих розмірів, які перебувають

на диспансерному обліку (група порівняння). Четверта група – 25 здорових жінок репродуктивного віку, що також визначалось метою та завданнями роботи. Ці пацієнтки утворили контрольну групу.

Дослідження здійснили протягом першого року після оперативного лікування лейоміоми матки в об'ємі СГЕ.

Середній вік пацієнток становив: у 1 і 2 групі 37,5 ± 2,5 року; у 3 – 36,9 ± 2,2 і в 4 – 37,1 ± 2,8 року ( $p > 0,05$ ).

Аналіз даних анамнезу пацієнток суттєво не відрізнявся. Тривалість захворювання лейоміомою матки в пацієнток 1 та 2 груп не перевищувала відповідно 3 роки – у 22,0 % жінок, від 3 до 5 років – у 66,0 % та понад 5 років – у 12,0 % хворих. Основним показанням до операції в пацієнток 1 та 2 груп була лейоміома матки. У більшості хворих цих груп спостерігали поєднання декількох показань для оперативного втручання. Всім хворим виконали СГЕ традиційним абдомінальним шляхом.

Ультразвукове дослідження здійснили на апараті «Toshiba-GF123» з використанням абдомінального та піхового датчиків із частотою 3,5 і 5 МГц. Досліджували розміри яєчників (довжина, ширина, передньозадній діаметр).

Об'єм яєчників визначали за формулою еліпсоїда ( $V = 0,523 \times f \times b \times c$ , відповідно три розміри яєчника). Особливу увагу приділяли їхній ехоструктурі, відзначали наявність або відсутність фолікулоподібних структур, їхні кількість і діаметр. За наявності матки вимірювали її розміри, оцінювали ехоструктуру, товщину М-еха.

Статистичне опрацювання кількісної інформації здійснювали на персональному комп'ютері за допомогою стандартної системи статистичного аналізу на основі методу варіаційної статистики з визначенням середньої статистичної величини  $m$ , середнього квадратичного відхилення та помилки середньої  $M$ . Вірогідність кількісних даних оцінювали методом варіаційної статистики з використанням  $t$ -критерію Стьюдента для парних незалежних вибірок із застосуванням пакета статистичних програм Microsoft Excel.



## Результати та їх обговорення

Під час обстеження здорових жінок контрольної групи визначили середній об'єм яєчників –  $5,2 \pm 0,2 \text{ см}^2$ , що не відрізнявся від середніх розмірів для здорових жінок репродуктивного віку.

Досліджуючи структури яєчників та їхні розміри в пацієток із лейоміомою матки, привертала увагу дещо великі розміри яєчників ( $6,0 \pm 0,4 \text{ см}^2$ ) і наявність у деяких із них кістозних змін. Окрім вивчення анатомічних характеристик яєчників досліджений кровотік в яєчникових артеріях, причому фазове вивчення кровотоку проводили в жінок контрольної групи, а також у хворих на лейоміому матки до операції та протягом одного року після неї.

Здійснюючи доплерометрію в ранню проліферативну фазу яєчникових гілок маткових артерій та яєчникових артерій з обох боків, виявили невеликий пік систоли та відсутність компонента діастолі.

Розвиток великого зрілого фолікула супроводжувався змінами на доплерограмі, які характеризувались зростанням кінцевої швидкості діастолі кровотоку, що починається у преовуляторному періоді й посилюється в момент розквіту жовтого тіла. Водночас будь-яких змін спектральної характеристики кровотоку неовулюючого яєчника не реєструвалося.

Відсутність компонента діастолі на доплерограмах може свідчити про високу резистентність фолікула та нову фазу циклу, що, зокрема пояснює феномен «постійності» спектра артерій неовулюючого фолікула протягом менструального циклу.

На 2–3 добу післяопераційного періоду виявили зниження ехогенності яєчників без зміни акустичної структури; фолікули чітко не візуалізувалися; об'єми яєчників були в 1,7 раза більшими, ніж до операції ( $10,3 \pm 1,5 \text{ см}^2$ ) ( $p < 0,05$  порівняно з початковими значеннями). Це, на нашу думку, насамперед пов'язано з операційною травмою внаслідок набряку тканин.

Доплерометричні показники в ранньому післяопераційному періоді характеризували різке його зниження. Так, на 2 день після СГЕ показники становили:  $IR = 0,87 + 0,04^*$ ;  $P1 = 1,97 \pm 0,07^*$ ;  $A/B = 3,51 \pm 0,15^*$  ( $p < 0,05$  порівняно з контролем). Дальше спостереження свідчило про поступове відновлення кровопостачання яєчників.

Виразене зниження кровопостачання яєчників, зміна їхнього анатомо-функціонального стану, операційний стрес, вплив наркозу позначились на появі характерних скарг в оперованих пацієток. Отже, СГЕ призводить до суттєвих змін анатомічних характеристик яєчників у вигляді збільшення об'єму, пониження ехогенності, зникнення типової ультразвукової структури яєчників. Імовірно, подібні зміни MMI в ранньому післяопераційному періоді пов'язані з різким пригніченням кровотоку внаслідок перев'язування одного з основних джерел кровопостачання яєчників – яєчкової гілки маткової артерії, що призводить до різкого пригнічення регіональної гемодинаміки та розвитку ішемії з появою набряку органа та згаданими вище змінами структури яєчника.

Зміна анатомо-функціонального стану яєчників закономірно викликала появу характерної клінічної симптоматики, що показує вірогідне збільшення показників MMI.

Під час проведення УЗД через 3 місяці виявили збільшення об'єму яєчників до  $6,6 \pm 1,2 \text{ см}^3$ , а це перевищувало доопераційний рівень в 1,1 раза. Також у структурі яєчників з'явилися поодинокі фолікули  $0,8\text{--}1,0 \text{ см}$  у діаметрі. Спостереження через 6 місяців після СГЕ дало можливість виявити відновлення структури яєчників, об'єм яких становив  $5,9 \pm 0,9 \text{ см}^3$ , а через 1 рік –  $4,8 \pm 0,7 \text{ см}^3$ . Аналізуючи доплерограми, відзначили часткове відновлення кровотоку через 3 місяці, а повне – через 6 місяців. Принагідно зауважити, що після СГЕ відновлення кровопостачання яєчників відбувалось швидко: до третього місяця після операції MMI був підвищений у 44,7 % оперованих хворих, на третій день – у 80,0 %.

УЗ-сканування пацієток 1 групи дало можливість вивчити структуру та розміри яєчників у віддалені терміни після СГЕ у вигляді поступового зменшення його об'єму відповідно до терміну після оперативного втручання. Використання трансвагінального доступу забезпечує високу чіткість зображення, що дає змогу детально вивчити особливості будови яєчників і здійснити якісну доплерометрію. Після цього аналізу одержали додаткові підтвердження: видалення матки несприятливим чином проявляється на анатомічній будові яєчкової тканини. Зміна структури яєчників відбувалась по двох напрямках: клімактерично подібні та кістозні зміни яєчників. Здебільшого через один рік після видалення матки зафіксовано підвищення гомогенності ехоструктури яєчників і зменшення кількості фолікулів, розміри останніх практично не змінилися. У 2,5 % оперованих хворих відзначено збільшення об'єму яєчників. Таке збільшення пов'язане з їхньою кістозною трансформацією. У цих випадках трансвагінальне сканування виявляло до 10–12 фолікулів діаметром 5–8 мм, а в ряді випадків – 2–3 фолікули діаметром 18–20 мм. Погіршення кровопостачання яєчників виявлене у 54,5 % обстежених пацієток. Аналіз зміни IP пульсації вказав на підвищення тканного імпедансу в оперованих жінок зі збільшенням тривалості післяопераційного періоду та розширенням об'єму оперативного втручання. Систолю-діастолічне співвідношення є додатковим чинником, що характеризує кровотік і кровопостачання органа.

Зміни систоло-діастолічного співвідношення у групах, що обстежили, свідчать: цей показник змінюється ідентично індексу пульсації, досягаючи вірогідних відмінностей з аналогічними показниками у групі порівняння. У результаті виявлених змін можна говорити про зниження об'єму термінального річища яєчників із перебігом післяопераційного періоду, що своєю чергою зумовлює підвищення резистентності кровообігу в артеріях, котрі живлять їх. Отже, всі три показники чітко показали негативну динаміку кровотоку в артеріях, що живлять яєчник. Визначаючи кровотік, можна користуватися всіма індексами, але, за нашими даними, найчутливішим є IP, який починає змінюватися раніше, ще до появи виражених змін у структурі яєчників. Варто відзначити, що більш ніж у половини оперованих хворих не виявили в яєчкової артерії циклічних змін кровотоку, які характерні для здорових пацієток репродуктивного віку. Подібна симптоматика специфічна для АЦ. Загалом ановуляторні цикли

зафіксовані у 21,5 % обстежених. Постійний кровотік діагностований у всіх пацієнок з АЦ і в 43,5 % з НЛФ. Ці дані підтверджують факт, що зміна кровотоку є найбільш ранньою та чутливою ознакою порушення функції яєчників.

## Висновки

1. Після субтотальної гістеректомії УЗД вказує на поступове зменшення об'єму яєчників відповідно до збільшення тривалості часу.
2. Найчутливішим показником під час дуплексного сканування є ІР, котрий раніше за всі показники реагує на підвищення тону судинного річища яєчника.
3. Зміна кровотоку є найбільш ранньою та чутливою ознакою порушення функції яєчників.
4. Кістозна зміна яєчників після СГЕ, що виникає на тлі різкого пригнічення кровотоку яєчника, дає можливість стверджувати про процеси кістозної зміни на тлі вираженої ішемії органа.
5. Результати, що отримали, необхідно враховувати під час розробки алгоритму ведення пацієнок репродуктивного віку після здійснення субтотальної гістеректомії.

## Список літератури

- [1] Доброхотова Ю.Э. Синдром постгистерэктомии : труды Первого Рос. конгресса по менопаузе / Ю.Э. Доброхотова, О.В. Макаров. – М., 2013. – С. 14.
- [2] Далецкая Д.В. Сравнительная оценка функционального состояния яичников и качества жизни женщин, перенесших в репродуктивном возрасте миомэктомию и гистерэктомию по поводу миомы матки : дис. на соискание ученой степени к.мед.н. : 14.00.01 / Д.В. Далецкая. – М., 2006. – 158 с.
- [3] Допплерография в гинекологии / под ред. Б.И. Зыкина, М.В. Медведова. – М. : РАВУЗДПГ – Реальное Время, 2009. – 152 с.
- [4] Здоровье и качество жизни после тотальной и субтотальной гистерэктомии, проведенной по поводу миомы матки / В.И. Кулаков, Л.В. Адамян, С.И. Аскольская и др. // Акушерство и гинекология. – 2010. – №1. – С. 31–34.

## References

- [1] Dobrokhotova, Yu. E., & Makarov, O. V. (2013). *Sindrom postgisterektomii: trudy Pervogo Ros. kongressa po menopauze [Syndrome postgysterectomy: the works of the First Ros. Congress on Menopause]*. Moscow [in Russian].
- [2] Doleckaya, D. V. (2006). *Sravnitel'naya ocenka funktsional'nogo sostoyaniya yaichnikov i kachestva zhizni zhenshchin, perenesshikh v reproduktivnom vozraste miomektomiyu i gisterektomiyu po povodu miomy matki* (Dis...kand. med. nauk). [Comparative assessment of the functional state of the ovaries and the quality of life of women who underwent myomectomy and hysterectomy for uterine myoma in the reproductive years Dr. med. sci. diss.]. Moscow. [in Russian].
- [3] Zykina, B. I., & Medvedeva, M. V. (2009). *Dopplerografiya v ginekologii [Dopplerography in gynecology]*. Moscow: RAVUZDPG – Real'noe vreme [in Russian].
- [4] Kulakov, V. I., Adamyan, L. V., & Askol'skaya, S. I., et al. (2010). *Zdorov'e i kachestvo zhizni posle total'noj i subtotal'noj gisterektomii, provedennoj po povodu miomy matki [Health and quality of life after total and subtotal hysterectomy performed for uterine myoma]*. *Akusherstvo i ginekologiya*, 1, 31–34. [in Russian].

## Відомості про автора:

Лещева Т. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології, Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини, м. Дніпро, Україна.

## Сведения об авторе:

Лещева Т. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии, Днепропетровский медицинский институт традиционной и нетрадиционной медицины, г. Днепро, Украина.

## Information about author:

Leshcheva T. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Dnipro Medical Institute of Traditional and Alternative Medicine, Dnipro, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 14.07.2017

Після доопрацювання / Revised: 16.08.2017

Прийнято до друку / Accepted: 06.09.2017

# Експресія гліального фібрилярного кислого білка в сенсомоторній корі великих півкуль при моделюванні транзиторної ішемії на тлі попередньої сенсibiliзації мозковим антигеном та імунокорекції

Л. М. Яременко<sup>1</sup>, О. М. Грабовий<sup>2</sup>, С. Є. Шепелєв<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, <sup>2</sup>Національний інститут раку, м. Київ, Україна

## Ключові слова:

ішемія мозку, GFAP, ЦНС сенсibiliзація, імуномодуляція.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 314–318

## DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118741

## E-mail:

L.yaremenko03@gmail.com

**Мета роботи** – вивчити рівні експресії гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP) у сенсомоторній корі головного мозку щурів в умовах порушень кровопостачання в басейні лівої сонної артерії на тлі попередньої сенсibiliзації мозковим антигеном і при дії імуномодулятора імунофану.

**Матеріали та методи.** Здійснили експеримент на 185 білих статевозрілих щурах-самцях масою 260–290 г. Застосовані гістологічні, імуногістохімічний, морфометричний і статистичний методи дослідження.

**Результати.** Показано, що сенсibiliзація мозковим антигеном викликає в сенсомоторній корі нейродегенеративні зміни та помірно поступове збільшення кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів, що поступово зростає. Дисциркуляторні зміни, що виникали при псевдооперативному втручанні та при перев'язуванні сонної артерії на тлі попередньої сенсibiliзації, практично не призводять до змін кількості GFAP<sup>+</sup>-клітин. На фоні сенсibiliзації мозковим антигеном ішемія мозку призводить до зростання кількості гліоцитів, що маркуються GFAP. В ураженій півкулі їхня кількість набуває максимуму наприкінці гострого періоду ішемії, після чого спадає, але навіть через 3 місяці після транзиторного судинного ураження залишається майже вдвічі більшою, ніж в умовно інтактних щурів. Це може бути фактором, який суттєво впливає на функції регіонів мозку після перенесеної судинної катастрофи. Зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів у контралатеральній півкулі дає змогу говорити про певну системність реакцій астроцитарної глії на ішемічну травму. Рання реакція зі збільшенням кількості маркованих астроцитів уже через одну добу після ішемічної атаки дає змогу припустити, що частина гліоцитів цього типу за нормальних умов не експресує GFAP. Застосування імунофану при транзиторному порушенні кровообігу на тлі попередньої сенсibiliзації призводить до зменшення як проявів нейродегенерації, так і зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів. Зазначені ефекти спостерігаються в корі мозку як на боці порушення кровообігу, так і з контралатеральної сторони, де превалюючим є імунне ураження. Останнє свідчить про модуляцію імунофаном імунної відповіді при ураженні головного мозку.

**Висновки.** Сенсibiliзація мозковим антигеном викликає в сенсомоторній корі нейродегенеративні зміни та збільшення кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів. Сенсibiliзація мозковим антигеном призводить до потенціювання зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів у відповідь на транзиторне порушення кровообігу в корі мозку. Імунофан вірогідно зменшує виразність нейродегенеративних змін і підвищення кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів у корі мозку, що викликані як ішемічною атакою, так і сенсibiliзацією.

## Ключевые слова:

ишемия мозга, GFAP, ЦНС сенсibiliзация, иммуномодуляция.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 314–318

## Экспрессия глиального фибриллярного кислого белка в сенсомоторной коре больших полушарий при моделировании транзиторной ишемии на фоне предшествующей сенсibiliзации мозговим антигеном и иммунокорекции

Л. М. Яременко, А. Н. Грабовой, С. Е. Шепелєв

**Цель работы** – изучить уровни экспрессии глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) в сенсомоторной коре головного мозга крыс в условиях нарушения кровоснабжения в бассейне левой сонной артерии на фоне предшествующей сенсibiliзации мозговим антигеном и иммунокорекции имунофаном.

**Материалы и методы.** Проведен эксперимент на 185 белых половозрелых крысах-самцах массой 260–290 г. Применены гистологические, иммуногистохимический, морфометрический и статистический методы исследования

**Результаты.** Проведенные наблюдения показали, что сенсibiliзация мозговим антигеном вызывает в сенсомоторной коре нейродегенеративные изменения и умеренное, постепенно нарастающее увеличение количества GFAP-позитивных гліоцитов. Дисциркуляторные изменения, возникающие при проведении псевдооперативного вмешательства и при перевязке сонной артерии на фоне предшествующей сенсibiliзации, практически не приводят к изменениям количества GFAP<sup>+</sup>-клеток. На фоне сенсibiliзации мозговим антигеном ишемия мозга приводит к росту числа гліоцитов, маркированных GFAP. В пораженном полушарии их количество приобретает максимум в конце острого периода ишемии, после чего снижается, однако даже через 3 месяца после транзиторного сосудистого поражения остается почти вдвое большим, чем у условно интактных крыс. Это может быть фактором, оказывающим существенное влияние на функции регионов мозга после перенесенной сосудистой катастрофы. Рост количества GFAP<sup>+</sup>-гліоцитов в контралатеральном полушарии позволяет говорить об определенной системности реакций астроцитарной гліи после ишемической травмы. Ранняя реакция в виде увеличения количества маркированных астроцитов уже через сутки после ишемической атаки позволяет предположить, что часть гліоцитов этого типа при нормальных условиях не экспрессирует GFAP. Использование имунофана при транзиторном нарушении кровообращения приводит к уменьшению как проявлений нейродегенерації, так и роста количества GFAP<sup>+</sup>-гліоцитов. Причем эти эффекты наблюдаются в коре мозга как со стороны нарушения кровообращения, так и с контралатеральной стороны, где превалирующим является иммунное поражение. Последнее свидетельствует о модуляции имунофаном иммунного ответа при поражении головного мозга.



**Выводы.** Сенсификация мозговым антигеном вызывает в сенсомоторной коре нейродегенеративные изменения и увеличение количества GFAP<sup>+</sup>-астроцитов. Сенсификация мозговым антигеном приводит к потенцированию роста количества GFAP<sup>+</sup>-астроцитов в ответ на транзиторное нарушение кровообращения в коре головного мозга. Иммунофан достоверно уменьшает выраженность нейродегенеративных изменений и повышения количества GFAP<sup>+</sup>-астроцитов в коре мозга, вызванных как ишемической атакой, так и сенсификацией.

## Expression of glial fibrillar acidic protein in the sensorimotor cortex of the cerebral hemispheres in the modeling of transient ischemia against the background of previous sensitization by brain antigen and immunocorrection

L. M. Yaremenko, A. N. Grabovoy, S. E. Shepelev

**Aim.** In order to analyze the dynamics of expression of glial fibrillar acidic protein in the sensorimotor cortex of the large hemispheres in the simulation of transient ischemia against the background of previous sensitization by brain antigen and immunocorrection.

**Materials and methods.** The study is conducted on 185 male mature white rats from Wistar line weighing 260–290 g, in which the damage of the brain was modulated. The brain for study was taken on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 10<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> days after the start of the experiment. The histological, immunohistochemical, morphometric and statistical methods were used.

**Results.** Observations have shown that sensitization by the brain antigen causes neurodegenerative changes in the sensorimotor cortex and a moderate increase in the number of GFAP<sup>+</sup>-gliocytes, which is gradually increasing. The discirculatory changes that occurred with PO and BCA against the background of previous sensitization practically do not lead to changes in the number of GFAP<sup>+</sup>-cells. Against the background of sensitization by brain antigen, brain ischemia leads to an increase in the number of gliocytes that are GFAP labeled. In the affected hemisphere, their number reaches a maximum in the end of the acute period of ischemia, after which it decreases. But even in 3 months after transient vascular lesion, there are almost twice as many as in conditionally intact rats. This can be a factor that will significantly affect the function of brain regions after a vascular accident. The increase in the number of GFAP<sup>+</sup>-gliocytes in the contralateral hemisphere allows us to speak about a certain systemic response of astrocytic glia after ischemic trauma. An early reaction to increase of the number of labeled astrocytes just a day after ischemic attack suggests that some of this type of gliocytes does not express GFAP under normal conditions. The action of Immunofan in MEAs results in a less significant decrease in manifestations of neurodegeneration and an increase in the number of GFAP<sup>+</sup>-gliocytes. Moreover, these effects are observed both from the side of circulatory disturbance, and from the contralateral side, where immune damage is prevalent. The latter testifies to the modulation of Immunofan by the immune response in brain damage.

**Conclusions.** Sensitization by the brain antigen causes neurodegenerative changes in the sensorimotor cortex and an increase in the number of GFAP<sup>+</sup>-astrocytes. Sensitization by brain antigen leads to the potentiation of an increase in the number of GFAP<sup>+</sup>-astrocytes in response to transient circulatory disturbances in the cerebral cortex. Immunofan significantly reduces the severity of neurodegenerative changes and the number of GFAP<sup>+</sup>-astrocytes in the cerebral cortex caused by both ischemic attack and sensitization.

### Key words:

brain ischemia, GFAP, central nervous system (CNS) sensitization, immunomodulation.

### Pathologia

2017; 14 (3), 314–318

Мозковий інсульт посідає одне з перших місць у структурі захворюваності та смертності населення, а також є причиною значущих показників тимчасової втрати працездатності та первинної інвалідності [1]. Пошкодження головного мозку в результаті ішемії завжди супроводжується вторинними або віддаленими структурними, функціональними та молекулярними змінами, які тривають від місяців до декількох років [1,2]. Оскільки мозок є забар'єрним органом, то порушення гематоенцефалічного бар'єра додає фактор імунної агресії до патогенезу його судинних уражень [2,3].

З цих позицій привертає до себе увагу синтетичне похідне тимопоетину іммунофан (аргініл-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргінін), який проявляє імунорегулюючі та детоксикаційні властивості, блокує вільнорадикальні процеси перекисного окиснення ліпідів [4].

Ішемічні ураження мозку супроводжуються комплексом деструктивно-дегенеративних, реактивних, відновлювальних процесів. Це супроводжується реакцією з боку глії та змінами експресії специфічних маркерів, зокрема й гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP) в астроцитах [5–7].

### Мета роботи

Виявити рівні експресії гліального фібрилярного кислого протеїну в сенсомоторній корі головного мозку щурів в умовах порушень кровопостачання в басейні лівої сонної артерії на тлі попередньої сенсифікації мозковим антигеном і при дії іммуномодулятора іммунофану.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконані на 185 статевозрілих самцях білих щурів лінії Вістар вагою 260–290 г, яких утримували у віварії на стандартному раціоні по 5 тварин у клітці з вільним доступом до харчування та води та постійним світло-затемненим режимом згідно з «Принципами догляду за лабораторними тваринами». За випадковим принципом тварин поділили на 6 груп. Щури групи К (умовно інтактний контроль; n = 10) не зазнавали жодних втручань. Тварини всіх інших груп за 12 діб до відтворення моделі ішемії сенсифіковані 20 % водно-сольовим екстрактом (антигеном) гомологічної тканини мозку (вміст білка 0,33–0,5 мг/мл за Лоурі), що отриманий за загальноприйнятою методикою. Щурам підшкірно вводили: в 1 день – 0,5 мл; 2 день – 1 мл;

3 день – 1,5 мл екстракту. При цьому тварини групи Кс (контроль, сенсibilізовані; n = 35) не зазнавали жодних інших втручань. Тваринам групи ПОс (псевдооперовані, сенсibilізовані; n = 35) здійснювали оперативний доступ до лівої загальної сонної артерії та її мобілізацію, після чого рану зашивали. Щурам групи ПСАС (перев'язка сонної артерії, сенсibilізовані; n = 35) здійснювали аналогічний доступ до лівої загальної сонної артерії та її мобілізацію, після чого в зазначену артерію вводили 0,2 мл фізіологічного розчину та накладали лігатуру. Тваринам груп МЕАс (із мікроемболізацією басейну сонної артерії, сенсibilізовані; n = 35) і МЕАс+і (МЕАс + імунофан; n = 35) моделювали гостре порушення мозкового кровообігу шляхом введення в ліву загальну сонну артерію 0,2 мл розчину, що містив 20 мл відмитих ізольованих адипоцитів, 2,8 мл 10 % CaCl<sub>2</sub>, 10 г твіну та 0,9 % NaCl до загального об'єму 100 мл [8], після чого на артерію накладали лігатуру. Щури групи МЕАс+і отримували підшкірно по 0,5 мкг імунофану (НВП «Бионокс», Російська Федерація) на 1–10, 21–23, 30–32 та 50–51 дні експерименту. Тваринам груп ПОс, ПСАС і МЕАс підшкірно вводили фізіологічний розчин за аналогічною схемою. Оперативні втручання виконані з використанням тіопенталового наркозу (50 мг/кг).

Головний мозок для досліджень отримували від тварин через 1, 3, 10, 30 і 90 діб після оперативного втручання, тобто, відповідно, через 13, 15, 22, 42 та 102 доби після сенсibilізації мозковим антигеном, після надмірного введення тваринам тіопенталу натрію (200 мг/кг).

Імуногістохімічну реакцію для виявлення GFAP проводили відповідно до протоколу виробника з первинним антитілом до GFAP (Dako, Denmark). Для візуалізації продуктів ІГХ реакції використовувалася система детекції EnVision™ FLEX, (Dako, Denmark). Кожний другий зріз додатково забарвлювали гематоксиліном Gill. Як позитивний контроль використані зразки мозку щурів із визначеною позитивною реактивністю, а для негативного контролю здійснили процедуру без застосування первинних антитіл.

Гістологічні препарати вивчали та фотографували за допомогою мікроскопа Olympus BX51, цифрової камери Olympus C4040ZOOM, із програмним забезпеченням Olympus DP-Soft 3.2. за стандартизованих умов. На 7 мікрофото (x200, 1280 x 960 пікселів RGB) підраховували кількість GFAP-позитивних клітин гангліонарного шару кори великих півкуль (лівої та правої) на площі 430 x 320 мкм. Дані опрацювали стандартними статистичними методами з розрахунком середнього арифметичного, стандартного відхилення, помилки середнього, довірчих інтервалів. Для оцінювання вірогідності відмінностей середніх значень експресії GFAP між групами, а також між ураженою та контралатеральною півкулями мозку використовували t-критерій Стьюдента.

## Результати та їх обговорення

Дослідження показали, що в щурів контрольної групи (К – умовно інтактні) сенсомоторна кора мала звичайну архітектоніку. При імуногістохімічному виявленні GFAP у сенсомоторній корі щурів цієї групи визначались клітини,

що мають відростки. Їхні невеличкі ядра не містили хромогена, були оточені невеликою кількістю цитоплазми, мали декілька тонких відростків, що слабо галузилися та поступово витончувалися. Ці клітини як за будовою, так і за фактом виявлення GFAP відповідали астроцитам [9]. Крім того, в нейропілі виявляли численні невеличкі гранулярні та волокнисті GFAP-позитивні структури, котрі можна розцінювати як фрагменти волокон астроцитів.

У тварин, які були сенсibilізовані мозковим антигеном (Кс) [9] через 12, 15 і 22 доби після початку досліду в сенсомоторній корі, спостерігали помірний периваскулярний набряк, дегенеративні, а іноді й некротичні зміни нейронів. Цитоплазма нейронів доволі часто мала глибоку гіперконденсовану хроматофільну речовину, іноді з явищами хроматолізу. Поширеними були явища дрібногубчастої дегенерації (з пілоподібними порожнинами), котра місцями переходила у виразнішу. Поступово виразність дегенеративних явищ зменшувалась, але навіть через 42 та 103 дні у корі мозку виявляли поодинокі дегенеративно та некротично змінені нейрони. Поряд з тим тут зростала кількість гліоцитів, що наприкінці спостережень (102 доба після сенсibilізації) могли утворювати невеличкі скупчення.

У тварин, які зазнали сенсibilізації, через 12 діб після початку досліду відзначалось деяке збільшення кількості GFAP<sup>+</sup>-клітин, що через 15 діб вже ставало статистично вірогідним. Протягом усього дальшого спостереження кількість таких клітин поступово зростала (рис. 1). При цьому їхні тіла та відростки часто виглядали набряклими та зазвичай мали вищу експресію GFAP, ніж у контролі. Зростала також кількість GFAP<sup>+</sup>-структур у складі нейропілі.

У сенсомоторній корі тварин групи ПОс як з боку ураження, так і з контралатеральної сторони порівняно з групою Кс не виявляли статистично значущих змін кількості GFAP<sup>+</sup>-клітин (рис. 1). У групі ПСАС спостерігали незначне підвищення кількості таких гліоцитів, а на 42 (30) добу експерименту їхня кількість в обох півкулях ставала вірогідно більшою, ніж у групі Кс, після чого зменшувалась до рівня останньої (рис. 1).

Відтворюючи гостре порушення мозкового кровообігу після попередньої сенсibilізації мозковим антигеном у сенсомоторній корі, спостерігались поширені дегенеративні зміни. Вони були виразнішими, ніж описані нами раніше зміни при аналогічному порушенні без попередньої сенсibilізації [10], а також порівняно з групами Кс, ПОс і ПСАС. Розширення та переповнення мікросудин кров'ю, периваскулярні набряки спостерігались до 10 доби після відтворення мікроемболії, а другі могли спостерігатися і в пізніші строки. Явища комірчастої дегенерації через 12 (1) і 15 (3) діб досліду виявляли часто. Іноді визначались осередки інфарктів. Значно частіше, ніж при аналогічному порушенні без попередньої сенсibilізації [10] та в описаних вище групах сенсibilізованих тварин через 1, 3 та 10 діб після ішемічної атаки, виявляли дегенеративно та некротично змінені нейрони, а поодинокі з них виявляли навіть через 42 (30) та 102 (90) діб. Кількість GFAP<sup>+</sup>-клітин у тварин групи МЕАс різко зростала вже через день після відтворення мікроемболії та продовжувала збільшуватися до 22 (10) доби, після чого дещо зменшувалась (рис. 1). При цьому спостерігалась гіпертрофія

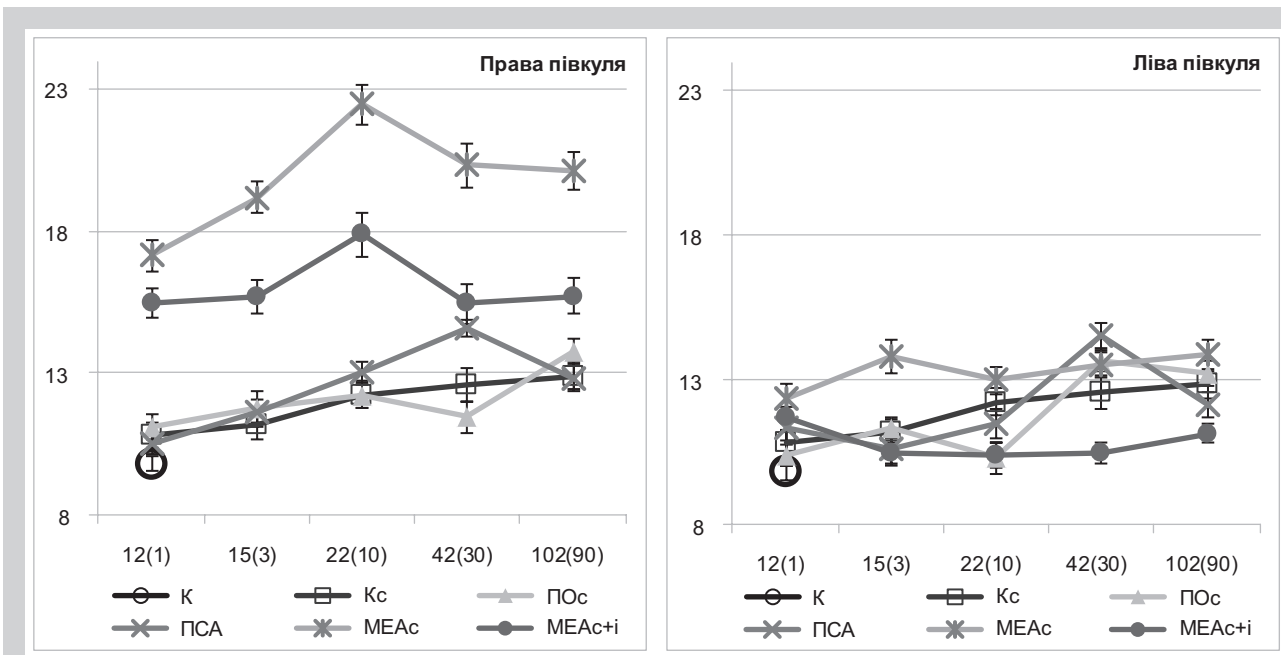


Рис. 1. Зміни кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів у сенсомоторній корі великих півкуль при моделюванні транзиторної ішемії на тлі попередньої сенсibilізації мозковим антигеном та імунорекції виниклих змін (кількість мічених клітин на ділянці 430 x 320 мкм).

К: інтактний контроль; Кс: контроль, сенсibilізовані; ПОс: псевдооперовані, сенсibilізовані; ПСАс: перев'язування лівої загальної сонної артерії, сенсibilізовані; MEAc: мікроемболія адипоцитами судин у басейні лівої загальної сонної артерії, сенсibilізовані; MEAc+i: тварини MEAc+i, які отримували імунфан; 12(1)–102(90): доби після початку сенсibilізації (моделювання порушення кровотоку).

зазначених клітин і збільшення кількості маркованих елементів у нейропілі, а також інтенсивніше маркування гліальних переважувальних мембран. У контралатеральній півкулі з перших днів після відтворення мікроемболії також спостерігали помірне зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-клітин (рис. 1).

За умов дії імунфану в ураженій півкулі відбулося суттєве зменшення порівняно з групою MEAc кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів, хоча динаміка змін їхньої кількості під час спостереження принципово не змінювалася (рис. 1). У цих тварин значно рідше спостерігалися гіпертрофовані гліоцити, виявлялося менше їх відростків у складі нейропілі. Крім того, зменшується кількість потовщених маркованих GFAP переважувальних гліальних мембран.

У контралатеральній півкулі при транзиторній ішемії імунфан фактично запобігає реакції з боку астроцитарної глії, у тому числі на сенсibilізацію мозковим антигеном, і наприкінці спостережень кількість цих клітин вірогідно не відрізняється від контролю (рис. 1).

Отже, спостереження показали: сенсibilізація мозковим антигеном [8,10] викликає в сенсомоторній корі щурів нейродегенеративні зміни та помірне збільшення кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів, що поступово зростає. Дисциркуляторні зміни, котрі виникають при псевдооперативному втручанні та перев'язці сонної артерії на фоні попередньої сенсibilізації, практично не призводять до змін кількості GFAP<sup>+</sup>-клітин.

На тлі сенсibilізації мозковим антигеном ішемія мозку призводить до зростання кількості гліоцитів, що маркуються GFAP. В ураженій півкулі їхня кількість

набуває максимуму наприкінці гострого періоду ішемії, після чого зменшується. Поряд з тим навіть через 3 місяці після транзиторного судинного ураження відзначений показник залишається майже вдвічі більшим, ніж в умовно інтактних щурів. Це може бути фактором, котрий суттєво впливає на функцію регіонів мозку після перенесеної судинної катастрофи [10]. Деяке зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів у контралатеральній півкулі дає можливість говорити про певну системність реакції астроцитарної глії на ішемічну травму. Рання реакція зі збільшенням кількості маркованих астроцитів вже через одну добу після ішемічної атаки дає змогу припустити, що частина гліоцитів цього типу за нормальних умов не експресує GFAP.

Застосування імунфану при транзиторному порушенні кровообігу призводить до зменшення проявів нейродегенерації та зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-гліоцитів. Відзначимо, що ці ефекти спостерігаються в корі мозку як з боку транзиторного порушення кровообігу, так і з контралатерального боку, де превалюючим є імунне ураження. Останнє свідчить про модуляцію імунфаном імунної відповіді при ураженні головного мозку [4,10].

## Висновки

1. Сенсibilізація мозковим антигеном викликає в сенсомоторній корі нейродегенеративні зміни та збільшення кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів.

2. Сенсibilізація мозковим антигеном призводить до потенціювання зростання кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів у відповідь на транзиторне порушення кровообігу в корі мозку.



3. Імунофан вірогідно зменшує виразність нейродегенеративних змін і підвищення кількості GFAP<sup>+</sup>-астроцитів у корі мозку, що викликані як ішемічною атакою, так і сенсibiliзацією.

### Список літератури

- [1] Міщенко Т.С. Взаємозв'язок запальних та протизапальних маркерів у хворих в гострому періоді мозкових інсультів / Т.С. Міщенко, В.І. Дарій, К.В. Баранова // Український вісник психоневрології. – 2014. – Т. 22. – Вип. 2. – №79. – С. 16–18.
- [2] The immunology of acute stroke / A. Chamorro, A. Meisel, A.M. Planas, et al. // *Nature Reviews Neurology*. – 2012. – Vol. 8. – P. 401–410.
- [3] Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke / A. Liesz, E. Suri-Payer, C. Veltkamp, et al. // *Nature Medicine*. – 2009. – Vol. 15. – P. 192–199.
- [4] Лебедев В.В. Гидрофильный гексапептид имунофан-гиперактивный регулятор транспортных белков множественной лекарственной устойчивости / В.В. Лебедев, С.А. Новиков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Vol. 142. – №12. – P. 649–651.
- [5] Glial Scar Formation Occurs in the Human Brain after Ischemic Stroke / L. Huang, Z.-B. Wu, Q. ZhuGe, et al. // *Int J Med Sci*. – 2014. – Vol. 11(4). – P. 344–348.
- [6] Foerch C. Diagnostic accuracy of plasma glial fibrillary acidic protein (GFAP) for the differentiation between intracerebral hemorrhage and cerebral ischemia in patients with symptoms of acute stroke / C. Foerch, H. Steinmentz, M. Sitzer // *International Stroke Conference*. – 2012. – 8–11 February.
- [7] Liu Z. Reactive astrocytes promote axonal remodeling and neurological recovery after stroke / Z. Liu, H. Xin, M. Chopp // *Perspective*. – 2014. – Vol. 9. – Issue 21. – P. 1874–1875.
- [8] Патент 36843, МПК G09B 23/00, Україна. Спосіб моделювання комбінованого судинно-імунного пошкодження мозку / О.М. Грабовий, Л.М. Яременко; опубл. 10.11.2008 // Бюлетень. – № 21.
- [9] Yaremenko L.M. Influence of sensitization with brain antigen sensitization on the condition of cerebral cortex sensorimotor neuroglial elements of their immunohistochemical detection / L.M. Yaremenko, O.M. Garboviy // *Deutscher Wissenschaftsherold*. – 2016. – Vol. 2. – P. 6–9.
- [10] Яременко Л.М. Експресія GFAP в сенсомоторній корі головного мозку при моделюванні транзиторної ішемії за умов імуномодуляції / Л.М. Яременко // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12. – №4. – С. 57–60.

### References

- [1] Mishchenko, T. S., Darius, V. I., & Baranova, K. V. (2014). Vzaiemozviazok zapalnykh ta protyzapalnykh markeriv u khvorykh v hostromu periodi mozkovykh insultiv [Interconnection of inflammatory and anti-inflammatory markers in patients with acute period of cerebral stroke]. *Ukrainskyi visnyk psikhonevrologii*, 22(79), 16–18. [in Ukrainian].
- [2] Chamorro, Á., Meisel, A., Planas, A. M., Urra, X., van de Beek, D., & Veltkamp, R. (2012). The immunology of acute stroke. *Nature Reviews Neurology*, 8, 401–410. doi: 10.1038/nrneuro.2012.98
- [3] Liesz, A., Suri-Payer, E., Veltkamp, C., Doerr, H., Sommer, C., Rivest, S., et al. (2009). Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. *Nature Medicine*, 15, 192–199. doi: 10.1038/nm.1927.
- [4] Lebedev, V. V., & Novikov, S. A. (2006). Gigrofil'nyy geksapeptid imynofan-giperaktivnyy regulyator transportnykh belkov mnozhestvennoj lekarstvennoj ustojchivosti [Hydrophilic hexapeptide immunofan – hyperactive regulator of transport proteins of multiple drug resistance]. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i medicyny*, 142(12), 649–651 [in Russian].
- [5] Huang, L., Wu, Z. B., Zhuge, Q., Zheng, W., Shao, B., Wang, B., et al. (2014). Glial scar formation occurs in the human brain after ischemic stroke. *Int J Med Sci*, 11(4), 344–348. doi: 10.7150/ijms.8140.
- [6] Foerch, C., Steinmentz, H., & Sitzer, M. (2012) Diagnostic accuracy of plasma glial fibrillary acidic protein (GFAP) for the differentiation between intracerebral hemorrhage and cerebral ischemia in patients with symptoms of acute stroke. *International Stroke Conference*.
- [7] Liu, Z., Xin, H., & Chopp, M. (2014). Reactive astrocytes promote axonal remodeling and neurological recovery after stroke. *Perspective*, 9(21), 1874–1875. doi: 10.4103/1673-5374.145343.
- [8] Hrabovyi, O. M., & Yaremenko, L. M. (patentee) (2008). Patent 36843, МПК G09B 23/00, Ukraina. Sposib modeliuвання kombinovanoho sudynno-імунного poshkozhenia mozku [Ukraine Pat. 36843. Method of modeling of combined vascular-immune brain damage]. *Biuletten*, 21. [in Ukrainian].
- [9] Yaremenko, L. M., & Garboviy, O. M. (2016). Influence of sensitization with brain antigen sensitization on the condition of cerebral cortex sensorimotor neuroglial elements of their immunohistochemical detection. *Deutscher Wissenschaftsherold*, 2, 6–9.

- [10] Yaremenko, L. M. (2014) Ekspresia GFAP v sensomotornii kori holovnoho mozku pry modeliuванні tranzytornoї ishemii za umov imunomoduliatii [GFAP expression in the rats' sensorimotor cortex after transitory ischemia and immunomodulation]. *Ukrainskyi morfolohichnyi almanakh*, 12(4), 57–60. [in Ukrainian].

### Відомості про авторів:

Яременко Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. гістології та ембріології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Грабовий О. М., д-р мед. наук, професор наукового відділу цитопатології та патологічної анатомії, Національний інституту раку, м. Київ, Україна.

Шепелев С. С., канд. біол. наук, доцент каф. біології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

### Сведения об авторах:

Яременко Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. гистологии и эмбриологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Грабовой А. Н., д-р мед. наук, профессор, научный отдел цитопатологии и патологической анатомии, Национальный институт рака, г. Киев, Украина.

Шепелев С. Е., канд. мед. наук, доцент каф. биологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

### Information about authors:

Yaremenko L. M., MD, PhD, Associate Professor, Department of Histology and Embryology of Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Grabovoy A. N., MD, PhD, DSc, Professor, Scientific Department of Cytopathology and Pathologic Anatomy, Ukrainian National Cancer Institute, Kyiv.

Shepelev S.E., MD, PhD, Associate Professor, Department of Biology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 20.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 27.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 07.11.2017

## Морфофункціональні та імуногістохімічні характеристики різних клініко-патогенетичних варіантів лейоміоми матки

Н. В. Косей<sup>1</sup>, Т. Д. Задорожна<sup>1</sup>, Н. Ф. Захаренко<sup>1</sup>, Н. Ю. Педаченко<sup>2</sup>, І. Ю. Ганжий<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», м. Київ, <sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна, <sup>3</sup>Запорізька медична академія післядипломної освіти, Україна

Найпоширенішою доброякісною пухлиною жіночих геніталій залишається на сьогодні лейоміома матки (ЛМ). Дані про гістологічний склад, будову та характеристики експресії рецепторів до гормонів тканини ЛМ мають важливе значення для розуміння механізмів розвитку різних клініко-патогенетичних варіантів пухлини.

**Мета роботи** – вивчення зв'язку морфологічних та імуногістохімічних особливостей лейоміоми матки (ЛМ) із патогенетичним варіантом розвитку захворювання, що спрямоване на розробку диференційованих методів лікування пухлини.

**Матеріали та методи.** У дослідження включили 188 жінок репродуктивного віку (30–49 років), яким виконано гістеректомії з приводу симптомної ЛМ. Залежно від наявності супутньої патології молочних залоз (МЗ) і щитоподібної залози (ЩЗ) пацієнок поділили на групи: перша – 67 (35,64 %) жінок з ізольованою ЛМ (ІЛМ), друга – 32 (17,02 %) пацієнтки з поєднанням ЛМ і дисгормональних захворювань МЗ (ДЗМЗ), третя – 48 (25,53 %) жінок із ЛМ, асоційованою з патологією ЩЗ, і четверта група – 41 (21,81 %) пацієнтка з поєднанням ЛМ, ДЗМЗ та патології ЩЗ – поєднана лейоміома матки (ПЛМ). Морфофункціональний стан видаленої тканини та проліферативний потенціал ЛМ визначали за результатами гістологічного, ультраструктурного (електронно-мікроскопічного), імуногістохімічного досліджень (антигенів рецепторів до естрадіолу, прогестерону, пролактину, колагену IV типу, ядер проліферуючих клітин і канцерембріонального антигена) непрямым стрептавідин-пероксидазним методом із використанням Кіт-моноклональних антитіл.

**Результати.** Поодинокі пухлини виявляли у 28,13 % випадків у пацієнок II, у 39,58 % – III та у 17,07 % – IV груп, що вірогідно менше, ніж у жінок I групи (74,63 %;  $p < 0,05$ ). У морфологічній структурі лейоміом матки, котрі видалені в жінок I групи, у 80,6 % випадків переважала фіброзна тканина, тоді як у 73 % поєднаних пухлин – гладком'язовий компонент. За результатами імуногістохімічних досліджень у пацієнок I групи відзначено найбільшу частку позитивної експресії антигена до колагену IV типу (60,0 %) на тлі низької чутливості до естрогенів (H-score  $25,83 \pm 7,12$ ), високої – до прогестерону (H-score  $108,54 \pm 12,66$ ) і середньої – до пролактину. При поєднаній лейоміомі відзначено найвищий рівень експресії антигенів рецепторів до статевих стероїдних гормонів (естрадіолу та прогестерону, пролактину (78,57 %) й маркерів істинної проліферації та малігнізації: PCNA (64,29 %) та CEA (42,86 %)). Так, у 84,0 % пацієнок IV групи встановлено середній ступінь вираженості експресії естрогенових рецепторів та у 76,0 % – високий рівень експресії прогестерону в ядрах і цитоплазмі міоцитів із найвищим середнім показником експресії за H-score антигена рецепторів прогестерону ( $209,94 \pm 16,34$ ), що суттєво перевищує показники в жінок I групи ( $108,54 \pm 12,66$ ;  $p < 0,05$ ). Дані, що отримали, вказують на більшу гормонозалежність, проліферативний потенціал та імовірність малігнізації поєднаної лейоміоми матки.

**Висновки.** Ізольована лейоміома матки здебільшого представлена великими поодинокими вузловими утвореннями, що мають незначну чутливість до статевих стероїдних гормонів із перевагою чутливості до прогестерону, а також незначний ризик малігнізації. Лейоміома матки за умов поєднання з патологією щитоподібної та молочних залоз характеризується множинним дифузним, дрібновузловим пухлиноутворенням із вираженою експресією до статевих стероїдних гормонів, у тому числі естрадіолу, що супроводжується високими потенціями зростання та суттєвою вірогідністю малігнізації.

## Морфофункциональные и иммуногистохимические характеристики разных клинико-патогенетических вариантов лейомиомы матки

Н. В. Косей, Т. Д. Задорожная, Н. Ф. Захаренко, Н. Ю. Педаченко, И. Ю. Ганжий

Наиболее распространенной доброкачественной опухолью женских гениталий остается на сегодня лейомиома матки (ЛМ). Данные о гистологическом составе, строении и свойствах экспрессии рецепторов к гормонам ткани ЛМ имеют важное значение для понимания механизмов развития различных клинико-патогенетических вариантов опухоли.

**Цель работы** – изучение связи морфологических и иммуногистохимических особенностей лейомиомы матки (ЛМ) с патогенетическим вариантом развития заболевания, направленное на разработку дифференцированных методов лечения опухоли.

**Материалы и методы.** В исследование включено 188 женщин репродуктивного возраста (от 30 до 49 лет), которым выполнены гистерэктомии по поводу симптомной ЛМ. В зависимости от наличия сопутствующей патологии молочных желез (МЗ) и щитовидной железы (ЩЖ) пациентки были распределены на группы: первая группа – 67 (35,64 %) женщин с изолированной ЛМ (ИЛМ), вторая – 32 (17,02 %) пациентки с сочетанием ЛМ и дисгормональных заболеваний МЗ (ДЗМЗ), третья – 48 (25,53 %) женщин с ЛМ, ассоциированной с патологией щитовидной железы, и четвертая – 41 (21,81 %) пациентка с сочетанием ЛМ, ДЗМЗ и патологии щитовидной железы – сочетанная лейомиома матки (СЛМ). Морфофункциональное состояние удаленной ткани и пролиферативный потенциал ЛМ определяли по результатам гистологического, ультраструктурного (электронно-микроскопического), иммуногистохимического исследований (антигенов рецепторов к эстрадиолу, прогестерону, пролактину, коллагену IV типа, ядер пролиферирующих клеток и канцерэмбрионального антигена) косвенным стрептавидин-пероксидазным методом с использованием Кіт-моноклональных антител.

**Ключові слова:**  
лейоміома матки,  
імуногістохімія.

**Патологія.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 319–325

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118744

**E-mail:**  
Nataly.Kosey@  
gmail.com,  
clinicnv@gmail.com

**Ключевые слова:**  
лейомиома матки,  
иммуногистохимия.

**Патология.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 319–325

**Результаты.** Одиночные опухоли встречались в 28,13 % случаев у пациенток II, в 39,58 % – III и в 17,07 % – IV групп, что достоверно меньше, чем у женщин I группы (74,63 %;  $p < 0,05$ ). В морфологической структуре лейомиом матки, удаленных у женщин I группы, в 80,6 % случаев преобладала фиброзная ткань, в то время как в 73 % объединенных опухолей – гладкомышечный компонент. По результатам иммуногистохимических исследований у пациенток I группы отмечена наибольшая доля положительной экспрессии антигена к коллагену IV типа (60,0 %) на фоне низкой чувствительности к эстрогенам (H-score  $25,83 \pm 7,12$ ), высокой – к прогестерону (H-score  $108,54 \pm 12,66$ ) и средней – к пролактину. При сочетанной лейомиоме отмечен самый высокий уровень экспрессии антигенов рецепторов к половым стероидным гормонам (эстрадиолу и прогестерону), пролактину (78,57 %) и маркеров истинной пролиферации и малигнизации: PCNA (64,29 %) и CEA (42,86 %). Так, у 84,0 % пациенток IV группы установлена средняя степень выраженности экспрессии эстрогеновых рецепторов и в 76,0 % – высокий уровень экспрессии прогестерона в ядрах и цитоплазме миоцитов с высоким средним показателем экспрессии по H-score антигена рецепторов прогестерона ( $209,94 \pm 16,34$ ), что существенно превышает показатели у женщин I группы ( $108,54 \pm 12,66$ ;  $p < 0,05$ ). Полученные данные указывают на большую гормонозависимость, пролиферативный потенциал и вероятность малигнизации сочетанной миомы матки.

**Выводы.** Изолированная лейомиома матки в основном представлена крупными одиночными узловыми образованиями, которые имеют слабую чувствительность к половым стероидным гормонам с преобладанием чувствительности к прогестерону, а также незначительный риск малигнизации. Лейомиома матки в условиях сочетания с патологией щитовидной и молочных желез характеризуется множественным диффузным, мелкоузловым опухолеобразованием с выраженной экспрессией рецепторов половых стероидных гормонов, в том числе эстрадиола, что сопровождается высокой потенцией роста и существенной вероятностью малигнизации.

**Key words:**

uterine leiomyoma, immunohistochemistry.

## Morphofunctional and immunohistochemical characteristics of different clinical-pathogenetic types of leiomyoma

N. V. Kosey, T. D. Zadorozhnaya, N. F. Zakharenko, N. Yu. Pedachenko, I. Yu. Ganzhiy

**Pathologia**

2017; 14 (3), 319–325

**Introduction.** Now the uterine leiomyoma (LM) remains the most common benign tumor of the female genitalia. Data on the histological composition, structure and properties of expression of hormones receptors of LM tissue are important for understanding the mechanisms of development of various clinical and pathogenetic variants of the tumor.

**Aim** is to study the relationship between morphological and immunohistochemical features of LM with a pathogenetic variant of the disease development aimed at developing differentiated methods of tumor treatment.

**Materials and methods.** The research included 188 women of reproductive age (30 to 49 years old) who underwent hysterectomy for symptomatic LM. Depending on the presence of concomitant pathology of mammary gland (MG) and thyroid gland (TG), patients were divided into groups: the first group were 67 (35.64 %) women with isolated LM (ILM), the second – 32 (17.02 %) patients with a combination of LM and dys hormonal diseases of the MG (DSMG), the third – 48 (25.53 %) women with LM associated with thyroid pathology, and the fourth – 41 (21.81 %) patients with a combination of LM, DSMG and thyroid pathology – combined leiomyoma of the uterus (CLU). The morphofunctional condition of the removed tissue and the proliferative potential of LM were determined by the results of histological, ultrastructural, immunohistochemical studies (antigen of receptors for estradiol, progesterone, prolactin, type IV collagen, nuclei of proliferating cells and cancer-embryonic antigen) by indirect streptavidin-peroxidase method using Kit-monoclonal antibodies.

**Results.** Single tumors occurred in 28.13 % of cases in patients of II, in 39.58 % – III and in 17.07 % – IV groups, which was significantly less than in women of group I (74.63 %;  $P < 0.05$ ). In the morphological structure of uterine fibroids, removed from women of the I group, fibrous tissue prevailed in 80.6 % of cases, whereas in 73 % of the combined tumors smooth muscle components were found. According to the results of immunohistochemical studies, the highest positive expression rate of type IV collagen antigen (60.0 %) was observed in patients of group I against the background of low sensitivity to estrogens (H-score  $25.83 \pm 7.12$ ), high – to progesterone (H-score  $108.54 \pm 12.66$ ) and medium to prolactin. In combined leiomyoma, the highest level of receptor antigens expression to sex steroid hormones (estradiol and progesterone), prolactin (78.57 %) and markers of true proliferation and malignancy: PCNA (64.29 %) and CEA (42.86 %) was noted. For example, 84.0 % of patients in Group IV have an average expression of estrogen receptors, 76.0 % have a high level of progesterone expression in the nuclei and cytoplasm of myocytes with a high average expression in the H-score of the progesterone receptor antigen ( $209.94 \pm 16.34$ ), which is significantly higher than in women in group I ( $108.54 \pm 12.66$ ,  $P < 0.05$ ). The findings indicate large hormone dependence, proliferative potential and the likelihood of malignancy of the combined uterine leiomyoma.

**Conclusions.** Isolated uterine leiomyoma is mostly represented by large single, nodular formations that have a low sensitivity to sex steroid hormones with a superiority of progesterone, and a negligible risk of malignancy. The uterine leiomyoma, in combination with the thyroid and mammary pathology, is characterized by multiple diffuse, small nodular tumor formation with pronounced expression to sex steroid hormones, including estradiol, accompanied by high growth potentials and a significant probability of malignancy.

Найпоширенішою доброякісною пухлиною жіночих геніталій залишається на сьогодні лейомиома матки (ЛМ). Клінічна частота її у віці 30–35 років становить майже 20 %, у віці 46–55 років – до 60 % [1], а за даними морфологічних досліджень маток, що видалені в жінок, які померли від різних причин, сягає 85 % [2,3]. У останні десятиріччя успішно розвиваються органозбе-

режні методи лікування міоми матки, котрі базуються на впливі на ланки механізму її розвитку. Незважаючи на велику кількість досліджень, натеper залишається остаточно не вирішеним питання щодо істинної природи ЛМ як пухлини, так і механізмів її росту: чи відбувається притаманний справжній пухлині процес проліферації клітин із підвищенням їхньої мітотичної активності,



чи збільшення розмірів ЛМ зумовлено гіпертрофією гладком'язових клітин, синтезом сполучнотканинного міжклітинного компонента або вторинними змінами некробіотичного характеру? Тому вивчення патоморфологічних характеристик пухлини в паралелі з клінічними її особливостями є дуже важливим для розуміння патогенезу процесу та можливих механізмів впливу на нього з метою профілактики росту пухлини.

Доволі часто ЛМ розвивається в поєднанні з патологією молочної (МЗ) і щитоподібної залози (ЩЗ), адже має спільні ланки патогенезу. Під час наших попередніх досліджень виявлено, що лейоміома у 86 % поєднується з патологією молочної залози та у 48 % – щитоподібної залози [4]. Однак іноді міома розвивається в ізольованому варіанті.

Згідно з принципами хірургії, під час видалення тканин будь-яких органів, зокрема геніталій, обов'язковим є мікроскопічне дослідження, яке визнано «золотим» стандартом диференційної діагностики ЛМ і лейоміосарком матки. Важливість визначення гістологічних характеристик ЛМ у жінок репродуктивного віку в цьому дослідженні зумовлена тим, що клінічні методи не дають можливості отримати інформацію щодо морфологічних механізмів прогресування захворювання. Дані про гістологічний склад і побудову та особливо про характеристики експресії рецепторів до гормонів тканини ЛМ мають важливе значення для розуміння механізмів розвитку різних клініко-патогенетичних варіантів пухлини. Це зумовило доцільність ретроспективного визначення зв'язку морфологічних та імуногістохімічних особливостей ЛМ із патогенетичним варіантом розвитку захворювання.

Морфологічні дослідження видалених маток виконані в жінок, яким за показаннями до радикального втручання здійснена гістеректомія.

## Мета роботи

Вивчення зв'язку морфологічних та імуногістохімічних особливостей ЛМ із патогенетичним варіантом розвитку захворювання, що спрямоване на розробку диференційованих методів лікування пухлини.

## Матеріали і методи дослідження

Під час дослідження обстежили 188 жінок репродуктивного віку (від 30 до 49 років). Залежно від наявності супутньої дисгормональної патології МЗ і ЩЗ пацієнок поділили на групи: першу становили 67 (35,64 %) жінок з ізольованою ЛМ (ІЛМ), другу – 32 (17,02 %) пацієнтки з поєднанням ЛМ і дисгормональних захворювань молочної залози (ДЗМЗ), третю – 48 (25,53 %) жінок із поєднаною ЛМ, що асоційована з патологією ЩЗ, і четверту – 41 (21,81 %) пацієнтка з поєднанням ЛМ, ДЗМЗ і патології ЩЗ – поєднана лейоміома матки (ПЛМ). Враховуючи те, що натеper відсутні чіткі критерії діагностики дифузної патології МЗ, й остання є операторзалежним методом, формуючи групи досліджень, ми враховували тільки вогнищеву патологію МЗ, яка має чіткі ехографічні та морфологічні критерії. Жінки з виявленою злоякісною патологією МЗ і ЩЗ у дослідження не включались. Серед захворювань МЗ у 49

(67,12 %) жінок виявлено кісти, у 20 (27,4 %) – фіброаденоми та у 4 (5,48 %) – ліпоми. Структура патології ЩЗ була такою: у 52 (52,53 %) пацієнок діагностовано аутоімунний тиреоїдит, у 29 (29,29 %) – вузловий зоб, у 12 (12,12 %) – дифузний зоб, у 3 (3,03 %) – кісти та у 3 (3,03%) – гіпоплазію ЩЗ. Групи репрезентативні за віком (середній вік в основній групі становив  $41,2 \pm 3,7$  року, в контрольній –  $40,8 \pm 4,2$  року,  $p > 0,05$ ).

Для вивчення морфологічної структури, особливостей експресії рецепторів до статевих стероїдних гормонів і проліферативного потенціалу ЛМ за різними варіантами її розвитку здійснили гістологічне та імуногістохімічне дослідження видалених під час гістеректомії з приводу симптомної ЛМ пухлин. Серійні зрізи товщиною ( $5 \pm 1$  мкм) фарбували гематоксилін-еозином і пікрофуксином за ван-Гізеном.

Експресію антигенів до EP, PR, пролактину, колагену IV типу, антигена ядер проліферуючих клітин (Proliferating Cell Nuclear Antigen – PCNA) та канцерембріонального антигена (carcinoembryonic antigen – CEA) визначали непрямим стрептавідин-пероксидазним методом у клітинах ЛМ за допомогою первинних і вторинних Kit-моноклональних антитіл (фірма «ДАКО», Данія). Поширеність та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом у балах від 0 до 3. Оцінювання поширеності: 0 – не має забарвлення; 1 – менше ніж 10 % позитивно забарвлених клітин; 2 – більше ніж 10 % і менше ніж 50 % позитивно забарвлених клітин; 3 – гомогенне забарвлення більше ніж 50 % клітин; оцінювання інтенсивності реакції: 0 балів – немає видимого забарвлення; 1 бал – слабе забарвлення; 2 бали – помірне забарвлення; 3 бали – виразне забарвлення.

Поширеність та інтенсивність реакції до EP і PR оцінювали напівкількісним методом Histo-score [5,6]. Цифрові дані, що отримали, опрацьовували з використанням сучасних методів варіаційної статистики за допомогою програм Excel Microsoft Office 2013 і «Біостат» із застосуванням для абсолютних чисел критерію Стюдента; порівнюючи декілька груп – із поправкою Бонферроні. Дані надані у вигляді  $M \pm m$ , де  $M$  – вибіркове середнє, а  $m$  – похибка середнього. Для порівняння відносних величин застосовували методу ф-кутового перетворення Фішера.

## Результати та їх обговорення

Гістологічно в усіх досліджуваних пухлинах верифікований діагноз ЛМ згідно з «WHO classification of tumours OF female reproductive organs» [7]. Мікроструктура пухлини в більшості випадків відповідала звичайній формі, а натомість відрізнялась співвідношенням гістологічних структур (рис. 1) і за умов змішаної форми – вмістом нетипових включень у тканині пухлини.

Так, переважна більшість ізольованих (91,04 %) за розвитком лейоміом відповідала звичайній структурі за класифікацією пухлин геніталій і характеризувалась поодинокими вузловими утвореннями великих розмірів, тоді як за умов поєднаного розвитку ЛМ, доброякісної патології МЗ і захворювань ЩЗ майже половина жінок мали пухлини змішаної форми, що відрізнялись множинним дрібновузловим або дифузним

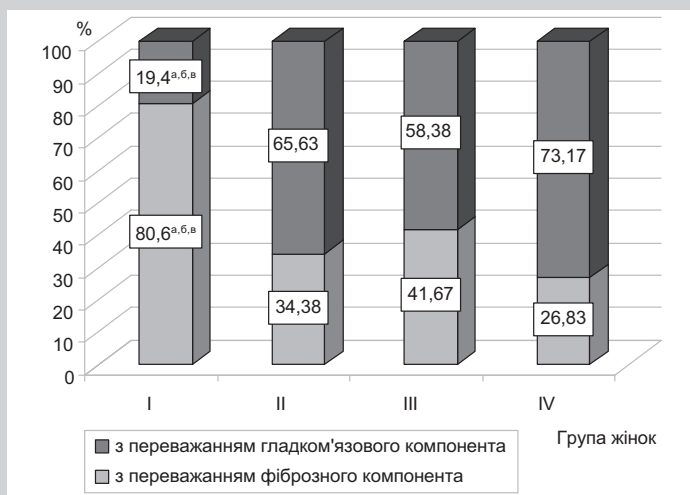


Рис. 1. Розподіл пухлин за морфологічним типом.

<sup>а</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в IV групі (p < 0,05);  
<sup>б</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в III групі (p < 0,05);  
<sup>в</sup>: різниця статистично значуща щодо показника у II групі (p < 0,05).

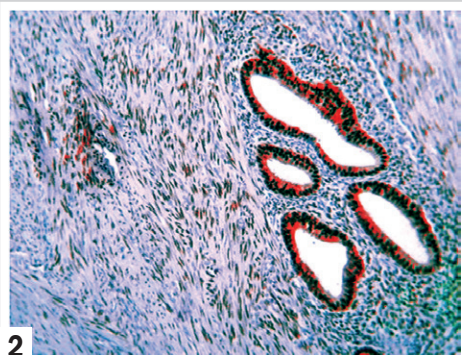


Рис. 2. Середній ступінь експресії ЕР у ЛМ пацієнтки IV групи. (H-score = 50). Ок. 10. Об. 40.

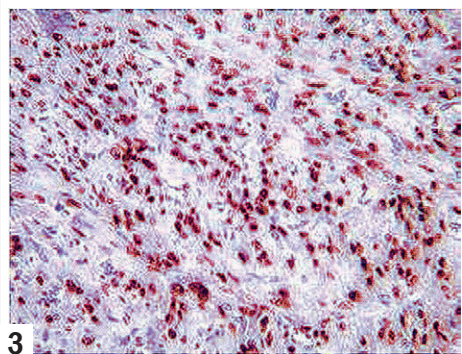


Рис. 3. Високий ступінь експресії ПР (H-score = 280) в ядрах гладком'язових клітин ЛМ, виражена позитивна реакція на наявність рецепторів прогестерону в епітелії залоз вогнищ аденоміозу. Ок. 10. Об. 40.

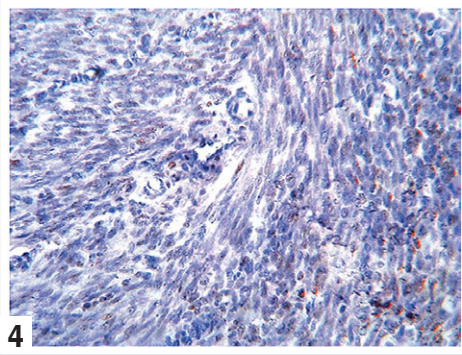


Рис. 4. Високий ступінь (2–3 бали) експресії пролактину в ядрах гладком'язових клітин ЛМ IV групи. Ок. 10. Об. 40.

ростом, нетиповою структурою із вмістом різноманітних включень – ендометриодних, адипозних тощо. Тільки 8,96 % лейоміом від пацієток I групи мали змішану морфоструктуру. У морфологічній структурі ЛМ, котрі видалені в жінок I групи, у 80,6 % випадків у тканині пухлини виявлено переважання фіброзної тканини (рис. 1).

Мікроскопічно виявлялись великі конгломерати сполучнотканинних (фуксифільних) утворень з хаотичним розташуванням фіброзних структур, вогнищами гіалінозу та істотно меншими острівцями міогенних елементів. Значно гіпертрофовані гладком'язові клітини веретеноподібної форми розташовувались окремими короткими пучками, здебільшого з хаотичним, іноді – зигзагоподібним спрямуванням і переплітались між собою на тлі втрати зв'язку з міоцитами здорового міометрію. Більшість колагенових волокон гіалінізовані, при цьому строма пухлини набувала гомогенної структури, подекуди виявлялись ділянки кальцинозу. У більшості випадків по периферії вузли обмежені гіалінізованим прошарком зрілої сполучної тканини з невеликою кількістю судин переважно венозного типу, який справляв враження наявності дійсної капсули вузла. Місцями в цих пухлинах виявлялись вогнища гладком'язових клітин із перинуклеарним набряком, ущільненням і пікнозом ядер, тобто спостерігалися деструктивно-дистрофічні зміни.

ЛМ жінок I групи на тлі переважання фіброзної тканини здебільшого характеризувалась незначним розвитком судинного компонента з правильним розташуванням артеріальних судин більшого розміру по периферії вузлів і меншого розміру – в напрямі до центральної їх частини, в загальному їхній ріст був у стромі сполучної тканини. За умов великих розмірів вузла, що нерідко спостерігалось у цій групі жінок, відбувалось істотне розширення діаметра вен по його периферії з формуванням судинних лакун.

У другій групі в 40,63 % випадків гістологічна структура міоматозних вузлів відповідала ЛМ змішаного типу, в 65,63 % пухлин відзначено переважання гладком'язового компонента. Під час мікроскопічного дослідження цих пухлин здебільшого виявлялось упорядковане розташування гіпертрофованих гладком'язових волокон у вигляді тяжів і пучків різних напрямів з незначним розвитком стромального компонента, що переважно представлений судинами синусоїдного типу. У частині випадків виявляли перинуклеарний набряк і пікноз ядер, котрий був притаманний клітинам у центральних відділах вузла. Траплялись поодинокі мітози, переважно у клітинах по периферії вузла, хоч більша частина міоцитів характеризувалась відсутністю міотичної активності. М'язові клітини були оточені вогнищами фіброзної тканини у вигляді окремих волокон і тонких септ і мікровогнищами гіалінової дегенерації. Загалом сполучна тканина в цих міомах представлена мало та нерівномірно. Серед фібробластів переважали «молоді» форми з округлими ядрами, котрі супроводжувались тонкими м'язовими волокнами.

У науковій літературі описані різні морфологічні типи міом (із переважанням фіброзної та м'язової тканини), однак робіт, котрі присвячені вивченню характеристик міом залежно від клінічного варіанту перебігу та наявності супутньої дисгормональної патології, не було [1,2,9].

Таблиця 1. Особливості структури ЛМ у групах дослідження, абс. к. (%)

Показник	Група жінок			
	I (n = 67)	II (n = 32)	III (n = 48)	IV (n = 41)
Проліферація судин	6 (8,96) <sup>a,6,a</sup>	18 (56,25) <sup>6</sup>	12 (25,00) <sup>a</sup>	26 (63,41)
Повнокров'я судин	–	20 (62,5) <sup>6</sup>	14 (29,17) <sup>a</sup>	29 (70,73)
Потовщення стінки судин	13 (19,4) <sup>6</sup>	10 (31,25) <sup>6</sup>	1 (2,08) <sup>a</sup>	10 (24,39)
Гіаліноз стінки судин	17 (25,37)	9 (28,13)	7 (14,58)	6 (14,63)
Склероз стінки судин	25 (37,31) <sup>6,a</sup>	4 (12,5)	1 (2,08)	–
Гіалінова дегенерація строми лейоміоми	28 (41,79) <sup>a,6,a</sup>	3 (9,38)	8 (16,67)	3 (7,32)
Ліпідна дистрофія	–	1 (3,13)	8 (16,67)	3 (7,32)
Лімфоцитарна інфільтрація	25 (37,31)	2 (6,25)	19 (39,58)	5 (12,2)
Вогнища аденоміозу	2 (2,99)	4 (12,5)	4 (8,33)	7 (17,07)
Ділянки клітинної лейоміоми з проліферацією	–	4 (12,5)	3 (6,25)	9 (21,95)
Атипична («хімерна») лейоміома	–	1 (3,13)	–	2 (4,88)

<sup>a</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в IV групі (p < 0,05); <sup>6</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в III групі (p < 0,05); <sup>a</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в II групі (p < 0,05).

Основні морфологічні особливості різних клінічних варіантів лейоміоми матки залежно від наявності чи відсутності поєднаної ендокринної патології представлені у таблиці 1.

У третій групі дослідження в лейоміоматозних вузлах у більшості спостережень (58,33 %) виявлялась ЛМ із переважанням гладком'язової тканини. Цей тип пухлин характеризувався також вираженою сіткою судин з їхнім повнокров'ям і незначним розвитком стромального компонента. Характерною особливістю більшості цих ЛМ матки були вогнища лімфоцитарної інфільтрації у стромі та навколо частини судин венозного типу. Подекуди виявлялись острівки з лімфоцитами, імунобластами та плазматичними клітинами. Ще в двох випадках виявлені невеликі вогнища ліполейоміоми, які складались зі зрілої жирової тканини та фокусів гладком'язових волокон.

У IV групі дослідження видалені пухлини в переважній більшості випадків (70,73 %) представлені множинними лейоміомами з великою кількістю дрібних вузлів, виявлена також найбільша частка серед обстежених груп (12,2 %) дифузної форми ЛМ із переважанням гладком'язового компонента, що істотно перевищувало частоту таких пухлин у випадках ізольованих ЛМ (рис. 1). Здебільшого виявлялись хаотично розташовані пучки значно гіпертрофованих гладком'язових волокон із вогнищами клітин зі збільшеними та ущільненими ядрами. У IV групі виявлена найбільша частка (12,2 %) порівняно з іншими групами пухлин з осередками активної проліферації, тоді як у I групі таких пухлин взагалі не виявлено. У таких ділянках відзначена більша кількість клітин на одиницю площі та наявність мітозів м'язових клітин. Привертало увагу найбільш виражене повнокров'я судин на тлі чималого розвитку судинного компонента з активним неопангенезом.

За умов поєднаного з патологією МЗ і захворюваннями ЩЗ розвитку ЛМ відзначено найбільшу частку (17,07 %) вогнищ аденоміозу у стромі пухлини. Крім того, в 3 (7,32 %) випадках виявлені осередки «хімерних» багатоядерних м'язових клітин гігантських розмірів на тлі відсутності мітозів. Відсутність мітотичної активності та інфільтративного росту в цих випадках були головними диференціальними критеріями підтвердження доброякісного характеру ЛМ і відрізняли їх від леоміосаркоми. Слід відзначити, що вогнища таких

Таблиця 2. Середні показники експресії ЕР і ПР в обстежених групах жінок за даними H-score, M ± m

Група жінок	Середній показник Histo-score	
	ЕР	ПР
I (n = 36)	25,83 ± 7,12 <sup>a,6,a</sup>	108,54 ± 12,66 <sup>a,b</sup>
II (n = 23)	55,89 ± 4,76 <sup>a,6</sup>	185,63 ± 15,2 <sup>6</sup>
III (n = 27)	34,15 ± 4,97 <sup>a</sup>	122,5 ± 12,05 <sup>a</sup>
IV (n = 25)	50,6 ± 5,92	209,94 ± 16,34

<sup>a</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в IV групі (p < 0,05); <sup>6</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в III групі (p < 0,05); <sup>a</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в II групі (p < 0,05).

«хімерних» ЛМ виявлені тільки у випадках поєднання патології матки з захворюваннями МЗ і ЩЗ.

Аналіз імуногістохімічних досліджень показав найбільший рівень експресії антигенів рецепторів до статевих стероїдних гормонів за умов поєднання дисгормональних процесів у матці, МЗ і ЩЗ (рис. 2, 3), що істотно перевищувало відповідні показники в I групі та вказувало на більшу гормонозалежність цього типу ЛМ. У цій групі жінок виявлений найвищий середній рівень експресії за H-score антигена до ПР, що суттєво перевищувало показники в I і III (табл. 2). Рівні експресії стероїдних рецепторів залежно від груп дослідження наведені в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, за умов ЛМ відзначалась позитивна реакція антигена рецепторів до прогестерону як у гладком'язових клітинах, так і в клітинах строми – фібробластах, міофібробластах. Можливо, це пов'язано з тим, що проліферацію клітин строми пухлини стимулює фактор росту фібробластів, а продукція цього фактора росту контролюється виключно прогестероном [8,9].

Оцінювання рівня експресії пролактину залежно від клініко-патогенетичного варіанту розвитку пухлини виявила значно більшу частоту пролактинпозитивних ЛМ за умов поєднання патології матки та МЗ або сполучення ЛМ і захворювань МЗ і ЩЗ (табл. 3).

При цьому виявлялися високий ступінь (2–3 бали) експресії цього гормону переважно в ядрах м'язових клітин навколо судин (рис. 4). За умов ізольованої ЛМ і при поєднанні її з патологією ЩЗ відзначена суттєво менша частка пролактин-позитивних пухлин (табл. 3), що вказує на високу чутливість до пролактину ЛМ, особливо за умов поєднаного з ДЗМЗ розвитку.



Таблиця 3. Частка позитивних пухлин щодо пролактину та маркерів проліферації в обстежених групах жінок, абс. к. (%)

Група жінок	Показник			
	PCNA	CEA	Пролактин	Колаген IV типу
I (n = 15)	2 (13,33) <sup>a</sup>	1 (6,67) <sup>a</sup>	4 (26,67) <sup>a,b</sup>	9 (60,0) <sup>a</sup>
II (n = 14)	6 (42,86)	3 (21,43) <sup>b</sup>	9 (64,29) <sup>b</sup>	4 (28,57)
III (n = 12)	4 (33,33)	2 (16,67) <sup>a</sup>	5 (41,67)	5 (41,67)
IV (n = 14)	9 (64,29)	6 (42,86)	11 (78,57)	3 (21,43)

<sup>a</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в IV групі ( $p < 0,05$ ); <sup>b</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в III групі ( $p < 0,05$ );

<sup>c</sup>: різниця статистично значуща щодо показника в II групі ( $p < 0,05$ ).

При ПЛМ відзначений найвищий рівень експресії антигенів рецепторів до статевих стероїдних гормонів (естрадіолу та прогестерону), пролактину (78,57 %) та маркерів істинної проліферації та малігнізації: PCNA (64,29 %) та CEA (42,86 %). Дані, що отримали, вказують на більшу гормонозалежність, проліферативний потенціал та імовірність малігнізації ПЛМ. PCNA-позитивні гладком'язові клітини розташовувались переважно в периваскулярних ділянках і характеризувались збільшеними гіперхромними ядрами, іноді вони виявлялись у вигляді окремих осередків серед ділянок переважання м'язового компонента ЛМ.

Отже, аналіз комплексних морфометричних, гістологічних, електронно-мікроскопічних та імуногістохімічних досліджень дав можливість виявити достеменні відмінності за умов формування різних клініко-патогенетичних варіантів розвитку ЛМ.

## Висновки

1. Ізольована лейоміома матки здебільшого предствлена великими поодинокими вузловими утвореннями з переважанням фіброзної тканини, які мають незначну чутливість до статевих стероїдних гормонів із перевагою чутливості до прогестерону як у гладком'язових клітинах, так і в клітинах строми – фібробластах, міофібробластах. Ріст таких лейоміом відбувається здебільшого внаслідок посилення синтезу позаклітинного матриксу, гіпертрофії міоцитів, а також набряку та вторинних дистрофічно-дегенеративних змін через порушення мікроциркуляції та має незначний ризик малігнізації.

2. Лейоміома матки за умов поєднання з патологією щитоподібної та молочних залоз характеризується множинним дифузним, дрібновузловим пухлиноутворенням шляхом гладком'язового та вираженого судинного компонентів з їхнім повнокров'ям та активним неоангіогенезом на тлі незначного розвитку фіброзної тканини з вираженою експресією до статевих стероїдних гормонів, зокрема естрадіолу, що супроводжується високою потенцією росту та підвищенням імовірності малігнізації.

## Список літератури

- [1] Prevalence of uterine myomas in women in Germany: data of an epidemiological study / H.-J. Ahrendt, H. Tylkoski, T. Rabe, et al. // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. Springer Berlin Heidelberg. – 2016. – Vol. 293. – Issue 6. – P. 1243–1253.
- [2] Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review / E.A. Stewart, C.L. Cookson, R.A. Gandolfo, R. Schulze-Rath // *BJOG*. – 2017. – Vol. 124(10). – P. 1501–1512.
- [3] Wildemeersch D. Treatment of menorrhagia with a novel frameless intrauterine levonorgestrel-releasing drug delivery system: a pilot study

/ D. Wildemeersch, E. Schacht // *European Journal of Contraception and Reproductive Health Care*. – 2001. – Vol. 6. – Issue 2. – P. 93–101.

- [4] Досвід впровадження скринінгових програм обстеження геніталій, щитоподібної та молочної залоз / Т.Ф. Татарчук, Н.В. Косей, Г.О. Іс-ламова, та ін. // *Сучасні напрямки розвитку ендокринології* (Треті Данилевські читання) : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Харків, 26–27 лютого 2004 р.). – С. 160–161.
- [5] Захарцева Л.М. Морфологическая диагностика рака молочной железы / Л.М. Захарцева, А.В. Дятел, А.В. Григорчук. – К. : МОРИОН, 2007. – 72 с.
- [6] A scoring system for immunohistochemical staining: consensus report of the task force for basic research of the EORTC–GCGG / P.J. van Diest, P. van Dam, S.C. Henzen-Logmans, et al. // *J Clin Pathol*. – 1997. – №50. – P. 801–804.
- [7] WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs / R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Herrington, R.H. Young // *IARC*. – 2014. – Vol. 6. – Issue 6. – P. 122–167.
- [8] Leppert, P.C. The Extracellular Matrix Contributes to Mechanotransduction in Uterine Fibroids / P.C. Leppert, F.L. Jayes, J.H. Segars // *Obstetrics and Gynecology International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 783289.
- [9] Risk Factors Associated With Fibroids / E.A. Stewart, C.L. Cookson, R.A. Gandolfo, R. Schultz-Rath // *BJOG*. – 2017. – Vol. 124. – P. 1501–1512.

## References

- [1] Ahrendt, H. J., Tylkoski, H., Rabe, T., Szczes, A., Friedrich, C., Roehl, F.-W., et al. (2016). Prevalence of uterine myomas in women in Germany: data of an epidemiological study. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 293(6), 1243–1253. doi: 10.1007/s00404-015-3930-8.
- [2] Stewart, E. A., Cookson, C. L., Gandolfo, R. A., & Schulze-Rath, R. (2017). Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. *BJOG*, 124(10), 1501–1512. doi: 10.1111/1471-0528.14640.
- [3] Wildemeersch, D., & Schacht, E. (2001). Treatment of menorrhagia with a novel frameless intrauterine levonorgestrel-releasing drug delivery system: a pilot. *European Journal of Contraception and Reproductive Health Care*, 6(2), 93–101. doi: 10.1080/1713604208.
- [4] Tatarчук, Т. Ф., Косей, Н. В., Іс-ламова, Г. О., et al. (2004) Dosvid vprovadzhennia skryninhovykh prohram obstezhennia henitalii, shchytopydibnoi ta molochnoi zaloz [The experience of introducing screening programs for genital examination, thyroid and mammary gland]. *Suchasni napriamky rozvytku endokrynolohii* (Треті Данилевські читання) Proceedings of the Scientific and Practical Conference with international participation, (S. 160–161). [in Ukrainian].
- [5] Zakharcova, L. M., Dyatel, A. V., & Grigorchuk, A. V. Morfolohicheskaya diagnostika raka molochnoj zhelezy [Morphological diagnosis of breast cancer]. Kyiv: MORION. [in Russian].
- [6] van Diest, P. J., van Dam, P., Henzen-Logmans, S. C., Berns, E., van der Burg, M. E., Green, J., & Vergote, I. (1997). A scoring system for immunohistochemical staining: consensus report of the task force for basic research of the EORTC–GCGG. *J Clin Pathol*, 50, 801–804. doi: 10.1136/jcp.50.10.801.
- [7] Kurman, R. J., Carcangiu, M. L., Herrington, C. S., & Young, R. H. (2014). WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. *IARC*, 6(6), 122–167.
- [8] Leppert, P. C., Jayes, F. L., & Segars, J. H. (2014). The Extracellular Matrix Contributes to Mechanotransduction in Uterine Fibroids. *Obstetrics and Gynecology International*, 2014, 783289. doi: 10.1155/2014/783289.
- [9] Stewart, E. A., Cookson, C. L., Gandolfo, R. A., & Schultz-Rath, R. (2017). Risk Factors Associated With Fibroids. *BJOG*, 124, 1501–1512.

## Відомості про авторів:

Косей Н. В., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, головний науковий співробітник відділу ендокринної гінекології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАНМ України», м. Київ.

Задорожна Т. Д., д-р мед. наук, професор, член-кор. НАМН України, зав. лабораторії морфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», заслужений діяч науки та техніки України, м. Київ.

Захаренко Н. Ф., д-р мед. наук, старший науковий співробітник відділу ендокринної гінекології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ.

Педаченко Н. Ю., д-р мед. наук, доцент, професор каф. акушерства, гінекології та перинатології, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Ганжий І. Ю., д-р мед. наук, професор каф. акушерства та гінекології, Запорізька медична академія післядипломної освіти, Україна.

#### Сведения об авторах:

Косей Н. В., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник отделения эндокринной гинекологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев.

Задорожная Т. Д., д-р мед. наук, профессор, член-корр. НАМН Украины, зав. лабораторией морфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», заслуженный деятель науки и техники Украины, г. Киев.

Захаренко Н. Ф., д-р мед. наук, старший научный сотрудник отделения эндокринной гинекологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев.

Педаченко Н. Ю., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. акушерства, гинекологии и перинатологии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев.

Ганжий И. Ю., д-р мед. наук, профессор каф. акушерства и гинекологии, Запорожская медицинская академия последипломного образования, Украина.

#### Information about authors:

Kosey N. V., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Chief Scientist of the Department of Endocrine Gynecology of the SE "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Zadorozhnaya T. D., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine, Head of the Laboratory of Morphology of the SE "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Zakharenko N. F., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Department of Endocrine Gynecology, SE "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Pedachenko N. Yu., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk, Kyiv, Ukraine.

Ganzhiy I. Yu., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 09.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 23.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 03.11.2017

# Prediction of cerebral hemorrhagic supratentorial stroke acute period outcome on the basis of the assessment of secondary intraventricular hemorrhage severity in the onset of the disease

A. A. Kuznietsov

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

## Key words:

cerebral hemorrhage, X-Ray tomography, prognosis.

## Pathologia

2017; 14 (3), 326–329

## DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118746

## E-mail:

titus3.05@gmail.com

Criteria for a short-term vital and functional prognosis for cerebral hemorrhagic supratentorial stroke (CHSS) acute period, that would take into account the secondary IVH severity in the onset of the disease, are currently lacking.

**The main purpose** of the study was to develop criteria for the prediction of cerebral hemorrhagic supratentorial stroke acute period outcome on the basis of the assessment of secondary intraventricular hemorrhage (IVH) severity in the onset of the disease.

**Materials and methods.** A complex clinical and paraclinical study was conducted in 70 patients (38 men and 32 women, aged 66 (58; 74) years) who have CHSS and secondary IVH confirmed by a clinical and neuroimaging examination, who were hospitalized within the first 24 hours since the onset of the disease and received conservative therapy. Intraventricular hemorrhage (IVH) severity was assessed in terms of Graeb Scale, IVH Scale and LeRoux Scale. To determine the prediction criteria, ROC analysis was used, calculating sensitivity (Se) and specificity (Sp) parameters.

**Results.** Lethal outcome was registered in 18.6 % cases, unfavorable functional outcome (modified Rankin Scale score (mRS) = 4–5 on the 21<sup>st</sup> day of the disease) – in 44.3 % patients. It was determined that IVH Scale (AUC = 0.94, P < 0.05) has a higher informative value than Graeb Scale (AUC = 0.89, P < 0.05) and LeRoux Scale (AUC = 0.88, P < 0.05) for a lethal prognosis of CHSS acute period outcome. It was detected that Graeb Scale, Intraventricular Hemorrhage Scale and LeRoux Scale are more informative for the determination of vital rather than functional prognosis of CHSS acute period outcome (AUC = 0.89 versus AUC = 0.74 for Graeb Scale, P < 0.05; AUC = 0.94 versus AUC = 0.79 for IVH Scale, P < 0.05; AUC = 0.88 versus AUC = 0.72 for LeRoux Scale, P < 0.05).

**Conclusions.** Predictors of the lethal outcome of CHSS acute period are Graeb Scale score >5 (Se = 84.6 %, Sp = 77.2 %), IVH Scale score >16 (Se = 84.6 %, Sp = 96.5 %) and LeRoux Scale score >9 (Se = 84.6 %, Sp = 86.0 %). Graeb Scale score ≤3 (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %), IVH Scale score <8 (Se = 69.2 %, Sp = 79.5 %) and LeRoux Scale score ≤3 (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %) are the criteria for the favourable functional outcome of CHSS acute period (mRS score ≤3 on the 21st day).

## Ключові слова:

внутрішньо-мозковий крововилив, комп'ютерна томографія, прогноз.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 326–329

## Прогнозування виходу гострого періоду мозкового геморагічного супратенторіального інсульту на підставі оцінювання вираженості вторинного внутрішньошлуночкового крововиливу в дебюті захворювання

A. A. Кузнєцов

Критерії короткострокового вітального та функціонального прогнозу виходу гострого періоду мозкового геморагічного супратенторіального інсульту (МГСІ), які враховували би вираженість вторинного внутрішньошлуночкового крововиливу (ВШК) у дебюті захворювання, на теперішній час відсутні.

**Мета роботи** – розробити критерії прогнозування наслідків гострого періоду МГСІ на підставі оцінювання вираженості вторинного ВШК у дебюті захворювання.

**Матеріали та методи.** Здійснили комплексне клініко-параклінічне дослідження 70 пацієнтів (38 чоловіків і 32 жінки, вік – 66 (58; 74) років) із підтвердженням за даними клініко-нейровізуалізаційного дослідження МГСІ та вторинним ВШК, які були госпіталізовані в перші 24 години від дебюту захворювання та отримували консервативну терапію. Вираженість вторинного ВШК оцінювали в балах за Graeb Scale, Intraventricular hemorrhage (IVH) Scale і LeRoux Scale. Для визначення критеріїв прогнозування використовувався ROC-аналіз із розрахунком параметрів чутливості (Se) та специфічності (Sp).

**Результати.** Летальний вихід зареєстрований у 18,6 % випадків, несприятливий функціональний вихід у вигляді значення 4–5 балів за модифікованою шкалою Ренкіна (МШР) на 21 добу захворювання – у 44,3 % пацієнтів. Виявлено, що IVH Scale (AUC = 0,94, p < 0,05) перевищує за інформативністю Graeb Scale (AUC = 0,89, p < 0,05) і LeRoux Scale (AUC = 0,88, p < 0,05) для прогнозування летального виходу гострого періоду МГСІ. Встановлено, що Graeb scale, IVH scale і LeRoux scale інформативніші для визначення вітального, ніж функціонального прогнозу виходу гострого періоду МГСІ (AUC = 0,89 проти AUC = 0,74 для Graeb scale, p < 0,05; AUC = 0,94 проти AUC = 0,79 для IVH scale, p < 0,05; AUC = 0,88 проти AUC = 0,72 для LeRoux scale, p < 0,05).

**Висновки.** Предиктори летального виходу гострого періоду МГСІ – значення >5 балів за Graeb Scale (Se = 84,6 %, Sp = 77,2 %), >16 балів за IVH Scale (Se = 84,6 %, Sp = 96,5 %) та >9 балів за LeRoux Scale (Se = 84,6 %, Sp = 86,0 %). Критеріями сприятливого функціонального виходу гострого періоду МГСІ (≤3 бали за МШР на 21 добу захворювання) є значення за Graeb Scale ≤3 (Se = 69,2 %, Sp = 72,7 %), IVH Scale <8 (Se = 69,2 %, Sp = 79,5 %) і LeRoux Scale ≤3 (Se = 69,2 %, Sp = 72,7 %).



## Прогнозирование исхода острого периода мозгового геморрагического супратенториального инсульта на основании оценки выраженности вторичного внутримозгового кровоизлияния в дебюте заболевания

А. А. Кузнецов

Критерии краткосрочного витального и функционального прогноза исхода острого периода мозгового геморрагического супратенториального инсульта (МГСИ), которые бы учитывали выраженность вторичного внутримозгового кровоизлияния (ВЖК) в дебюте заболевания, в настоящее время отсутствуют.

**Цель работы** – разработать критерии прогнозирования исхода острого периода МГСИ на основании оценки выраженности вторичного ВЖК в дебюте заболевания.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное клинико-параклиническое исследование 70 пациентов (38 мужчин и 32 женщин, возраст – 66 (58; 74) лет) с подтвержденным по данным клинико-нейровизуализационного исследования МГСИ и вторичного ВЖК, которые были госпитализированы в первые 24 часа от дебюта заболевания и получали консервативную терапию. Выраженность вторичного ВЖК оценивалась в баллах по Graeb Scale, Intraventricular hemorrhage (IVH) Scale и LeRoux Scale. Для определения критериев прогнозирования использовался ROC-анализ с расчетом параметров чувствительности (Se) и специфичности (Sp).

**Результаты.** Летальный исход был зарегистрирован в 18,6 % случаев, относительно неблагоприятный исход в форме значения 4–5 баллов по модифицированной шкале Рэнкина (мШР) на 21 сутки заболевания – у 44,3 % пациентов. Выявлено, что IVH Scale (AUC = 0,94,  $p < 0,05$ ) превосходит по информативности Graeb Scale (AUC = 0,89,  $p < 0,05$ ) и LeRoux Scale (AUC = 0,88,  $p < 0,05$ ) для прогнозирования летального исхода острого периода МГСИ. Установлено, что Graeb scale, IVH scale и LeRoux scale более информативны для определения витального, нежели функционального прогноза исхода острого периода МГСИ (AUC = 0,89 против AUC = 0,74 для Graeb scale,  $p < 0,05$ ; AUC = 0,94 против AUC = 0,79 для IVH scale,  $p < 0,05$ ; AUC = 0,88 против AUC = 0,72 для LeRoux scale,  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Предикторами летального исхода острого периода МГСИ выступают значения  $>5$  баллов по Graeb Scale (Se = 84,6 %, Sp = 77,2 %),  $>16$  баллов IVH Scale (Se = 84,6 %, Sp = 96,5 %) и  $>9$  баллов по LeRoux Scale (Se = 84,6 %, Sp = 86,0 %). Критериями благоприятного функционального исхода острого периода МГСИ ( $\leq 3$  балла по мШР на 21 сутки заболевания) являются значения по Graeb Scale  $\leq 3$  (Se = 69,2 %, Sp = 72,7 %), IVH Scale  $< 8$  (Se = 69,2 %, Sp = 79,5 %) и LeRoux Scale  $\leq 3$  (Se = 69,2 %, Sp = 72,7 %).

**Ключевые слова:** внутримозговое кровоизлияние, компьютерная томография, прогноз.

**Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 326–329**

### Introduction

Cerebral hemorrhagic stroke (CHS) is the most destructive type of acute cerebrovascular accidents, which is at leading positions in the list of causes of death and disability in young and middle-aged people in most countries of the world [1,2]. The 30-day mortality rate from CHS constitutes 35–52 %, and about 80 % among survived patients, have severe consequences in the form of pronounced neurological deficit, which causes permanent disability and need for physical assistance in everyday life [3,8].

30–45 % of cases of spontaneous intracerebral hemorrhage (SICH) are complicated by intraventricular hemorrhage (IVH) [5,6]. In accordance with the numerous studies, the presence of secondary IVH is an independent predictor of early clinical deterioration and poor outcome in patients with SICH [4,9,10], which suggests the presence of secondary IVH in the spectrum of parameters associated with the acute period outcome of the disease [11].

### The aim

Criteria for a short-term vital and functional prognosis for cerebral hemorrhagic supratentorial stroke (CHSS) acute period, that would take into account the secondary IVH severity in the onset of the disease, are currently lacking, and **the aim of this study** was to develop criteria for the prediction of cerebral hemorrhagic supratentorial stroke (CHSS) acute period outcome on the basis of the assessment of secondary intraventricular hemorrhage severity in the onset of the disease.

### Materials and methods

A complex clinical and paraclinical study was conducted in 70 patients (38 men and 32 women, aged 66 (58, 74) years) who have CHSS and secondary IVH confirmed by a clinical and neuroimaging examination, who were hospitalized within the first 24 hours since the onset of the disease and received conservative therapy. The study excluded patients who have acute disorders of cerebral circulation in the anamnesis, oncological and/or decompensated somatic pathology. The cases of extracerebral cause of death in accordance with the autopsy results were also excluded.

The study included clinical and neurological examination along with the assessment on the basis of the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) and Glasgow Coma Scale (GCS) in the onset of the disease. The assessment of the functional outcome of CHSS acute period and secondary IVH was held on the 21<sup>st</sup> day of the disease according to the modified Rankin Scale (mRS), where mRS score = 4–5 corresponded to an unfavorable functional outcome, mRS score  $\leq 3$  – to a favorable one.

A computed tomography scanner "Siemens Somatom Spirit" was used for the visualization within the first 24 hours since the onset of the disease. Taking into consideration the lack of direct methods of the determination of IVH volume, its severity was assessed in terms of Graeb Scale, Intraventricular Hemorrhage (IVH) Scale and LeRoux Scale.

Statistical data analysis was carried out using Statistica 6.0 software (StatSoft Inc., USA, series number AXX-R712D833214FAN5) and MedCalc (version 16.4). The normality was assessed using Shapiro–Wilk Test. Descrip-

**Table 1.** The results of the analysis of interrelation between the severity of secondary IVH and clinical and neurological data in patients on the basis of Spearman's rank correlation coefficient (R)

Scales	NIHSS score on the 1 <sup>st</sup> day	Glasgow Coma Scale score on the 1 <sup>st</sup> day	Modified Rankin Scale score on the 21 <sup>st</sup> day
Graeb Scale score	+0.44*	-0.40*	+0.54*
IVH Scale score	+0.54*	-0.50*	+0.64*
LeRoux Scale score	+0.43*	-0.39*	+0.51*

\*: P &lt; 0.05.

**Table 2.** Analysis of differences of Graeb Scale score, IVH Scale score and LeRoux Scale score in groups of patients with lethal and non-lethal outcome of CHSS acute period, Me (Q1; Q3)

Scales	Lethal outcome (n = 13)	Non-lethal outcome (n = 57)	P
Graeb Scale score	9 (8; 10)	4 (2; 5)	<0.0001
IVH Scale score	20 (17; 20)	9 (3; 13)	<0.0001
LeRoux Scale score	13 (10; 14)	4 (2; 7)	<0.0001

**Table 3.** Analysis of differences of Graeb Scale score, IVH Scale score and LeRoux Scale score in groups of patients with various functional outcomes of CHSS acute period, Me (Q1; Q3)

Scales	Unfavorable functional outcome (n = 31)	Favorable functional outcome (n = 26)	P
Graeb Scale score	5 (2,75; 6)	2 (1,25; 4)	<0.01
IVH Scale score	11,5 (6; 13)	6 (3; 9)	<0.001
LeRoux Scale score	5 (2,75; 8)	2 (1,25; 4,75)	<0.01

tive statistics were presented in the form of Me (Q1; Q3), where Me is the median, Q1 is the I quartile, Q3 is the III quartile. The interrelation of quantitative characteristics was assessed in accordance with the Spearman's rank correlation coefficient (R). Mann–Whitney Test was used to assess the intergroup differences. The null hypothesis was rejected with a significance level of statistical criteria P < 0.05. To determine the prediction criteria, ROC analysis was used, calculating sensitivity (Se) and specificity (Sp) parameters.

## Results of research and discussion

In the onset of the disease, the following indexes were registered in patients: NIHSS score = 12 (8; 15), GCS score = 14 (12; 15), Graeb Scale score = 4 (2; 7), IVH Scale score = 10 (6; 14) and LeRoux Scale score = 4.5 (2; 10).

A correlation analysis was made to determine the level of interrelation between the severity of secondary IVH in patients with CHSS and clinical and neurological data in the acute period of the disease. The results of the analysis are presented in *Table 1*.

Direct relation between the severity of secondary IVH and the baseline level of neurological deficit, as well as the disability status on the 21<sup>st</sup> day of the disease were moderate, which suggests the presence of Graeb Scale score, the IVH Scale score and the LeRoux Scale score in the spectrum of predictors of acute CHSS period outcome.

The following outcomes of the acute period of the disease were registered in patients: lethal outcome (18.6 %), unfavorable functional outcome in the form of 4–5 points

value in accordance with mRS (44.3 %) and favorable functional outcome in the form of ≤3 points value in accordance with mRS (37.1 %).

The Graeb Scale score, IVH Scale score and LeRoux Scale score in the onset of the disease were significantly higher in patients with CHSS who had a lethal outcome in the acute period in comparison with patients with non-lethal outcome (*Table 2*).

On the basis of ROC-analysis it was determined that predictors of the acute period lethal outcome of the disease are: Graeb Scale score >5 (Se = 84.6 %, Sp = 77.2 %), IVH Scale score >16 (Se = 84.6 %, Sp = 96.5 %) and LeRoux Scale score >9 (Se = 84.6 %, Sp = 86.0 %).

It was determined that IVH Scale (AUC = 0.94) has a higher informative value than Graeb Scale (AUC = 0.89, P < 0.05) and LeRoux Scale (AUC = 0.88, P < 0.05) for CHSS acute period lethal outcome prediction.

It was detected that Graeb Scale score, IVH Scale score and LeRoux Scale score in the onset of the disease were significantly higher in patients with CHSS who had an unfavorable functional outcome in the acute period in comparison with patients with favorable functional outcome (*Table 3*).

It was determined that criteria for a favorable functional outcome of CHSS acute period are Graeb Scale score ≤3 (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %), IVH Scale score <8 (Se = 69.2 %, Sp = 79.5 %) and LeRoux Scale score ≤3 (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %), while the Graeb Scale score = 4–5, IVH Scale score = 9–16 and LeRoux Scale score = 4–9 are associated with an unfavorable functional outcome.

It was found out that the predictive value of LeRoux scale (AUC = 0.72) is inferior to that of IVH scale (AUC = 0.79, P < 0.05) and Graeb scale (AUC = 0.74, P < 0.05) as for the determination of the functional recovery level on the 21<sup>st</sup> day since the onset of the disease.

On the basis of a comparative analysis of AUC indexes, it was determined that Graeb Scale, Intraventricular Hemorrhage Scale and LeRoux Scale are more informative for the determination of vital rather than functional prognosis of CHSS acute period outcome (AUC = 0.89 versus AUC = 0.74 for Graeb Scale, P < 0.05; AUC = 0.94 versus AUC = 0.79 for IVH Scale, P < 0.05; AUC = 0.88 versus AUC = 0.72 for LeRoux Scale, P < 0.05).

The obtained results are adjusted with the research conducted by B.Y. Hwang et al. 2012 in which the connection between higher Graeb Scale score, IVH Scale score, LeRoux Scale score and poor functional outcome was displayed, but any differences between informative values of IVH Scale, Graeb Scale and LeRoux Scales for a prediction of CHSS acute period functional outcome were not found there – areas under the receiver operating characteristic curve were similar among the IVH, Graeb, and LeRoux scores (0.745, 0.743, and 0.744, respectively) [7]. In our research it was claimed that IVH Scale is characterized by the highest informative value for prediction of CHSS with a secondary IVH acute period lethal outcome (AUC = 0.94 versus AUC = 0.89 for Graeb Scale and AUC = 0.88 for LeRoux Scale) and for prediction functional recovery on the 21<sup>st</sup> day of the disease (AUC = 0.79 versus AUC = 0.74 for Graeb Scale and AUC = 0.72 for LeRoux Scale). In our opinion, the results are due to the fact that IVH Scale

allows a more differentiated assessment of the severity of IVH, as it takes into consideration the difference between the sizes of lateral cerebral ventricles and other ventricles.

Thus, the study made it possible to justify the use of assessment scales of the severity of secondary IVH in the onset of CHSS to predict the acute period outcome of the disease and to determine the values of the Graeb Scale, Intraventricular Hemorrhage Scale and LeRoux Scale by optimal sensitivity and specificity ratio. However, further research is needed to obtain more informative criteria for the prediction of the functional outcome of CHSS acute period along with a secondary IVH.

## Conclusions

1. Predictors of the lethal outcome of CHSS acute period are Graeb Scale score  $>5$  (Se = 84.6 %, Sp = 77.2 %), IVH Scale score  $>16$  (Se = 84.6 %, Sp = 96.5 %) and LeRoux Scale score  $>9$  (Se = 84.6 %, Sp = 86.0 %).

2. Graeb Scale score  $\leq 3$  (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %), IVH Scale score  $<8$  (Se = 69.2 %, Sp = 79.5 %) and LeRoux Scale score  $\leq 3$  (Se = 69.2 %, Sp = 72.7 %) are the criteria for the favourable functional outcome of CHSS acute period (mRS score  $\leq 3$  on the 21<sup>st</sup> day).

3. The predictive value of Intraventricular Hemorrhage Scale (AUC = 0.94) is superior to Graeb Scale (AUC = 0.89,  $P < 0.05$ ) and LeRoux Scale (AUC = 0.88,  $P < 0.05$ ) as for the definition of the vital prognosis of CHSS acute period outcome.

4. LeRoux Scale (AUC = 0.72) is less informative than IVH Scale (AUC = 0.79,  $P < 0.05$ ) and Graeb Scale (AUC = 0.74,  $P < 0.05$ ) as for the prediction of the functional outcome of CHSS acute period.

5. Graeb Scale, Intraventricular Hemorrhage Scale and LeRoux Scale are more informative as for the determination of vital, rather than functional outcome of CHSS acute period.

**The perspective for the further scientific research** is the elaboration of the differential approach for the optimal treatment choice in patients with CHSS and secondary IVH on the ground of individual acute period outcome prognosis.

## References

- [1] Ministerstvo okhorony zdoroviia Ukrainy (2014). Adaptovana klinichna nastanova «Hemorahichni insult. Spontanni vnutrishnomozkovyi krovovyliv». [Adapted clinical guidance «Hemorrhagic stroke. Subarachnoid hemorrhage»]. Retrived from [http://mtd.dec.gov.ua/images/dodatki/2014\\_275\\_GI/2014\\_275\\_AKN\\_vnytrkrov\\_GI.pdf](http://mtd.dec.gov.ua/images/dodatki/2014_275_GI/2014_275_AKN_vnytrkrov_GI.pdf).
- [2] Mishchenko, T. S. (2017). E'pidemiologiya cerebrovaskulyarnykh zabojevanij i organizaciya pomoschi bol'nym s mozgovym insul'tom v Ukraine [Epidemiology of cerebrovascular diseases and organization of medical care for patients with stroke in Ukraine]. *Ukrainskyi visnyk psykhonevrologii*, 1(90), 22–24. [in Russian].
- [3] An, S. J., Kim, T. J., & Yoon, B. W. (2017). Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Features of Intracerebral Hemorrhage: An Update. *J Stroke*, 19(1), 3–10. doi: 10.5853/jos.2016.00864.
- [4] Chen, C. W., Wu, E. H., Huang, J., Chang, W. T., Ao, K. H., Cheng, T. J., & Yang, W. (2016). Dynamic evolution of D-dimer level in cerebrospinal fluid predicts poor outcome in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage combined with intraventricular hemorrhage. *J Clin Neurosci*, 29, 149–154. doi: 10.1016/j.jocn.2015.10.036.
- [5] Chen, S., Zhao, B., Wang, W., Shi, L., Reis, C., & Zhang, J. (2017). Predictors of hematoma expansion predictors after intracerebral hemorrhage. *Oncotarget*, 8(51), 89348–89363. doi: 10.18632/oncotarget.19366.
- [6] Garton, T., Hua, Y., Xiang, J., Xi, G., & Keep, R. F. (2017). Challenges for intraventricular hemorrhage research and emerging therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets*, 21(12), 1111–1122. doi: 10.1080/14728222.2017.1397628.
- [7] Hwang, B. Y., Bruce, S. S., Appelboom, G., Piazza, M. A., Carpenter, A. M., Gigante, P. R., et al. (2012). Evaluation of intraventricular hemorrhage assessment methods for predicting outcome following intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg*, 116(1), 185–192. doi: 10.3171/2011.9.JNS10850.
- [8] Krishnamurthi, R. V., Feigin, V. L., Forouzanfar, M. H., Mensah, G. A., Connor, M., Bennett, D. A., et al. (2013). Global Burden of Diseases, Injuries, Risk Factors Study 2010 (GBD 2010); GBD Stroke Experts Group. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob Health*, 1(5), e259–281. doi: 10.1016/S2214-109X(13)70089-5.
- [9] Specogna, A. V., Turin, T. C., Patten, S. B., & Hill, M. D. (2014). Factors associated with early deterioration after spontaneous intracerebral hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 9(5), e96743. doi: 10.1371/journal.pone.0096743.
- [10] Ye, Z., Ai, X., Hu, X., Fang, F., & You, C. (2017). Clinical features and prognostic factors in patients with intraventricular hemorrhage caused by ruptured arteriovenous malformations. *Medicine (Baltimore)*, 96(45), e8544. doi: 10.1097/MD.00000000000008544.
- [11] Yuan, R., Lei, C., Wu, S., Wei, C., Xiong, Y., Xu, M., et al. (2017). Prognostic Significance of Intraventricular Hemorrhage in Vascular Structural Abnormality-Related Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 26(3), 636–643. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.11.012.

## Information about author:

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

## Відомості про автора:

Кузнецов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторе:

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

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшло до редакції / Received: 09.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 16.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 27.10.2017



## Фактори ризику ішемічного інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу

В. В. Сиволап, С. П. Жеманюк

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Ключові слова:** залежні та незалежні фактори ризику, гіпертонічна хвороба, ішемічний інсульт, добове моніторування артеріального тиску, АДФ-індукована агрегація тромбоцитів.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 330–336

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2017.3.118751

**E-mail:**  
zhemanyuk.s@gmail.com

Відсутність специфічних прогностичних факторів підвищеного ризику розвитку інсульту та, як наслідок, брак терапевтичних підходів, що спрямовані на його зниження, зумовлює необхідність пошуку предикторів цереброваскулярних ускладнень у хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ).

**Мета роботи** – визначити предиктори ризику розвитку ішемічного інсульту серед показників добового моніторування артеріального тиску, даних добової варіабельності ритму серця та аденозиндифосфат-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на гіпертонічну хворобу.

**Матеріали та методи.** До дослідження залучили 88 хворих на ГХ. Хворих поділили на дві групи. Першу становили 39 хворих на ГХ, у яких перебіг ГХ ускладнився півкульним ішемічним інсультом, другу групу – 49 хворих на ГХ, які досягли цільового рівня АТ на тлі лікування. Всім хворим виконали добове моніторування артеріального тиску (ДМАТ), визначення добової варіабельності ритму серця (ВРС) і виконали дослідження агрегації тромбоцитів з аденозин 5'-дифосфатом у кінцевій концентрації індуктора агрегації  $10,0 \times 10^{-6}$  моль/л. Для визначення предикторів ризику розвитку ішемічного півкульного інсульту використовували метод логістичного регресійного аналізу.

**Результати.** Групи хворих були зрівняні за віком ( $63,0 \pm 9,1$  проти  $64,0 \pm 11,0$  року;  $p = 0,682$ ), але розрізнялись за статтю (чоловіки становили 64 % проти 39 %;  $p = 0,018$ ). Підвищення ризику виникнення ішемічного півкульного інсульту асоціюються із показниками ДМАТ (середнім САТ за день  $>132$  мм рт. ст.; середнім ДАТ за ніч  $>70$  мм рт. ст.; пульсовим АТ за добу  $>60$  мм рт. ст., за день  $>58,6$  мм рт. ст. і за ніч  $>57,9$  мм рт. ст.; індексом вимірювань САТ за добу  $>44,7$  % та ДАТ за добу  $>37,7$  %; індексом часу ДАТ за ніч  $>62,6$  %; індексом площі гіпертензії САТ за добу  $>94,3$  мм  $\times$  год та ДАТ за добу  $>58,4$  мм  $\times$  год; ААСІ за добу  $>0,52$ ; середнім гемодинамічним АТ за добу  $>94,8$  мм рт. ст. і за ніч  $>87,1$  мм рт. ст.; варіабельністю ПАТ за день  $>11,8$  мм рт. ст. і за ніч  $>8,2$  мм рт. ст.; індексом «подвійний добуток» за добу  $>86,3$  мм рт. ст.  $\times$  уд/хв). Крім того, з показниками ВРС (SDNN за добу  $\leq 91$  мс і за день  $\leq 83$  мс; SDANN за добу  $\leq 99$  мс і за день  $\leq 76$  мс; VLF за день  $\leq 63,7$  %; LF за день  $>27,1$  %; індексом централізації  $>0,56$ ), а також із показником агрегації тромбоцитів (ступенем максимальної АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів  $>65,2$  %). У моделі незалежними факторами ризику ішемічного півкульного інсульту у хворих на ГХ є SDNN за день (ВШ = 56,6;  $p = 0,011$ ), індекс вимірювань САТ за добу (ВШ = 40,9;  $p = 0,033$ ), середній САТ за день (ВШ = 30,0;  $p = 0,021$ ) та варіабельність ПАТ за ніч (ВШ = 15,1;  $p = 0,043$ ).

**Висновки.** Незалежними факторами ризику ішемічного півкульного інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу є SDNN за день, індекс вимірювань САТ за добу, середній систолічний АТ за день; варіабельність ПАТ за ніч. Ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів понад 65,2 % є залежним фактором ризику, що збільшує відношення шансів ішемічного інсульту в 6,5 рази ( $p = 0,007$ ).

**Ключевые слова:** зависимые и независимые факторы риска, гипертоническая болезнь, ишемический инсульт, суточное мониторирование артериального давления, АДФ-зависимая агрегация тромбоцитов.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 330–336

## Факторы риска ишемического инсульта у больных гипертонической болезнью

В. В. Сиволап, С. П. Жеманюк

Отсутствие специфических прогностических факторов повышенного риска развития инсульта и, как следствие, недостаток терапевтических подходов, направленных на его снижение, обуславливает необходимость поиска независимых предикторов цереброваскулярных осложнений у больных гипертонической болезнью (ГБ).

**Цель работы** – определить предикторы риска развития ишемического инсульта среди показателей суточного мониторирования артериального давления, показателей вариабельности ритма сердца и аденозиндифосфат-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных гипертонической болезнью.

**Материалы и методы.** В исследование включено 88 больных. Пациентов разделили на две группы. Первую группу составили 39 больных, у которых течение ГБ осложнилось полушарным ишемическим инсультом, вторую группу – 49 больных ГБ, достигших целевого уровня АД на фоне лечения. Всем больным выполнено суточное мониторирование артериального давления (СМАД), суточное определение вариабельности ритма сердца (ВРС) и исследование агрегации тромбоцитов с аденозин 5'-дифосфатом в конечной концентрации индуктора агрегации  $10,0 \times 10^{-6}$  моль/л. Для определения предикторов риска развития ишемического полушарного инсульта использовали метод логистического регрессионного анализа.

**Результаты.** Группы больных были сопоставимы по возрасту ( $63 \pm 9,1$  против  $64 \pm 11,0$  года;  $p = 0,682$ ), однако различались по полу (мужчины составили 64 %, против 39 %;  $p = 0,018$  соответственно). Повышение риска возникновения ишемического полушарного инсульта ассоциируется с показателями СМАД (средним САД за день  $>132$  мм рт. ст.; средним ДАД за ночь  $>70$  мм рт. ст.; пульсовым АД за сутки  $>60$  мм рт. ст., за день  $>58,6$  мм рт. ст.; за ночь  $>57,9$  мм рт. ст., индекс измерений САД за сутки  $>44,7$  % и ДАД за сутки  $>37,7$  %; индексом времени ДАД за ночь  $>62,6$  %; индексом площади гипертонии САД за сутки  $>94,3$  мм рт. ст.  $\times$  ч и ДАД за сутки  $>58,4$  мм рт. ст.  $\times$  ч; ААСІ в сутки  $>0,52$ ; средним гемодинамическим АД за сутки  $>94,8$  мм рт. ст. и за ночь  $>87,1$  мм рт. ст.; вариабельностью ПАД за день  $>11,8$  мм рт. ст. и за ночь  $>8,2$  мм рт. ст.; индексом «двойное произведение»  $>86,3$  мм рт. ст.  $\times$  уд/мин). Также с показателями ВРС (SDNN за сутки  $\leq 91$  мс и за день  $\leq 83$  мс; SDANN за сутки  $\leq 99$  мс и за день  $\leq 76$  мс; VLF за день  $\leq 63,7$  %; LF за день  $>27,1$  %; индексом централізації  $>0,56$ ), а также с показателем агрегации тромбоцитов (степенью максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов  $>65,2$  %). При построении модели независимыми факторами риска ишемического полушарного

инсульта у больных ГБ определяется SDNN за день (ОШ = 56,6;  $p = 0,011$ ), индекс измерений САТ за сутки (ОШ = 40,9;  $p = 0,033$ ), среднее САД за день (ОШ = 30,0;  $p = 0,021$ ), а также вариабельность ПАД за ночь (ОШ = 15,1;  $p = 0,043$ ).

**Выводы.** Независимыми факторами риска ишемического полушарного инсульта у больных гипертонической болезнью являются SDNN за день, индекс измерений САД за сутки, среднее САД за день, вариабельность ПАД за ночь. Степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов более 65,2 % является зависимым фактором риска, который увеличивает отношение шансов ишемического инсульта в 6,5 раза ( $p = 0,007$ ).

## Risk factors of ischemic stroke in hypertensive patients

V. V. Syvolap, S. P. Zhemanyuk

There is necessity to find specific independent risk factors of cerebrovascular complications in hypertensive patients due to lack of sufficient therapeutic approach in its prediction.

**The aim** of the study was to determine dependent and independent risk factors of ischemic stroke among ambulatory blood pressure monitoring, heart rate variability and adenosine-induced (ADF) platelet aggregation data in hypertensive patients.

**Materials and methods.** A total number of 88 patients with essential hypertension (EH) was divided in two groups. In this population, the first subgroup ( $n = 39$ ) was identified as EH individuals with an acute hemispheric ischemic stroke (IS) and the second one – patients ( $n = 49$ ) with well controlled arterial hypertension. In all the patients ambulatory blood pressure monitoring (ABPM), 24-h heart rate variability (HRV) and ADF-induced platelet aggregation ( $10.0 \times 10^{-6}$  mole/l) were conducted. Method of logistic regression analyzes was used.

**Results.** No statistic difference were found between the groups in age ( $63 \pm 9.1$  versus  $64 \pm 11.0$  yrs.;  $P = 0.682$ , respectively), however, it was in sex parameter (64 % male versus 39 %;  $P = 0.018$ , respectively). Onset risk of ischemic hemispheric stroke was associated with ABPM parameters as average systolic BP<sub>day</sub> (SBP)  $>132$  mmHg; average diastolic BP<sub>night</sub> (DBP)  $>70$  mmHg; pulse BP<sub>24</sub>  $>60$  mmHg; pulse BP<sub>day</sub>  $>58.6$  mmHg; pulse BP<sub>night</sub>  $>57.9$  mmHg; indexes of hypertension (BP<sub>SBP<sub>24</sub> load  $>44$ , 7 % and DBP<sub>24</sub> load  $>37.0$  %; time index DBP<sub>night</sub>  $>62.6$  %; square index SBP<sub>24</sub>  $>94.3$  mmHg $\times$ h and DBP<sub>24</sub>  $>58.4$  mmHg $\times$ h); AASI<sub>24</sub>  $>0.52$ ; mean BP<sub>24</sub>  $>94.8$  mmHg and mean BP<sub>night</sub>  $>87.1$  mmHg; pulse BP<sub>day</sub> variability  $>11.8$  mmHg and pulse BP<sub>night</sub> variability  $>8.2$  mmHg; "double multiplication" index  $>86.3$  mmHg $\times$ bmp). Also there is association with HRV parameters as SDNN<sub>24</sub>  $\leq 91$  mc and SDNN<sub>day</sub>  $\leq 83$  mc; SDANN<sub>24</sub>  $\leq 99$  mc and SDANN<sub>day</sub>  $\leq 76$  mc; VLF<sub>day</sub>  $\leq 63.7$  %; LF<sub>day</sub>  $> 27.1$  %; index<sub>[(HF+LF)/VLF]</sub>  $> 0.56$ . And with max level of platelet aggregation parameter with ADF as aggregation inductor as  $>65.2$  %. In model independent risk factors of IS was SDNN<sub>day</sub> (OR = 56.6;  $P = 0.011$ ); SBP<sub>24</sub> load (OR = 40.9;  $P = 0.033$ ); average SBP<sub>day</sub> (OR = 30.0;  $P = 0.021$ ) and PBP<sub>night</sub> variability (OR = 15.1;  $P = 0.043$ ).</sub>

**Conclusions.** The independent risk factors of ischemic hemisphere stroke in hypertensive individuals are daily SDNN, blood pressure load of diurnal systolic blood pressure and night variability of pulse blood pressure. The maximum level of ADF-induced platelet aggregation more than 65.2 % is a dependent risk factor, which augmented odd rate of ischemic stroke in 6.5 times ( $P = 0.007$ ).

За даними офіційної статистики, в Україні станом на 2014 р. захворюваність на мозковий інсульт (усі форми) становила 266,5 на 100 тис. населення, а у 2016 році зросла до 279,6 на 100 тис. населення [24]. Отже, першочерговим актуальним завданням сьогодення залишається зменшення кількості інсультів і зниження смертності передовсім шляхом запобігання розвитку першого інсульту. У зв'язку з цим виникає потреба у стратифікації хворих на гіпертонічну хворобу (ГХ) за ризиком розвитку інсульту [14]. Однак у сучасних рекомендаціях відсутні прогностичні фактори, що мають високу чутливість і специфічність щодо підвищеного ризику розвитку першого інсульту та, як наслідок, брак терапевтичних підходів, що спрямовані на його зниження. Основна увага концентрується на модифікованих факторах ризику розвитку інсульту, що включає артеріальну гіпертензію [12], цукровий діабет [21], дисліпідемію, фібриляцію передсердь [17], гіпертрофію лівого шлуночка [27], жорсткість судинної стінки [23], стеноз сонних артерій [18], протеїнурію, паління, ожиріння, гіподинамію, порушення згортальної функції крові [19] тощо.

Отже, дослідження чинників, що асоціюються зі зростанням ризику розвитку інсульту у хворих на ГХ, дасть змогу наблизитись до стратифікації та

спрямувати зусилля фахівців на їхню першочергову корекцію з метою запобігання цереброваскулярним ускладненням.

## Мета роботи

Визначити залежні та незалежні предиктори підвищеного ризику розвитку ішемічного інсульту серед показників добового моніторингу, даних добової варіабельності ритму серця та аденозиндифосфат-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на гіпертонічну хворобу.

## Матеріали і методи дослідження

Після підписання інформованої згоди до дослідження залучено 88 хворих на ГХ, які лікувалися в КУ «6 міська лікарня» м. Запоріжжя. Діагноз ГХ верифікували відповідно до національних стандартів діагностичної та лікування артеріальної гіпертензії (АГ) [26].

Добове моніторування артеріального тиску (ДМАТ) здійснювалось за допомогою біфункціонального апаратно-програмного портативного комплексу з цифровим записом моніторування АТ та електрокардіограми пристрою «Кардіотехніка-04» («Инкарт», СПб., Росій-

## Key words:

risk factors, essential hypertension, stroke; ambulatory blood pressure monitoring; platelet aggregation.

## Pathologia

2017; 14 (3), 330–336

ська Федерація). Монітування було безперервним, не менше ніж 18 годин упродовж 24–26 годин. Підлягали аналізу тільки результати тих записів, що відповідали стандартам якісного запису [5]. Аналізувалися такі показники ДМАТ, що розраховувались: 1) автоматично – середній систолічний (САТ), діастолічний (ДАТ) і пульсовий артеріальний тиск (ПАТ) за добовий, денний і нічний період часу (останні два вважали за проміжок часу з шостої ранку включно до першої години ночі та з першої години ночі до шостої години ранку відповідно); ранішній підйом (ВП) тиску та швидкість ранішнього підйому (ШВП) САТ і ДАТ; варіабельність САТ, ДАТ і ПАТ за добу, за день, за ніч; а також навантажувальні гіпертензійні індекси, як-от: індекс вимірювань (ІВ), часу (ІЧ), площі (ІП) і нормований індекс площі; 2) розраховувались у мануальному режимі окремо для кожного пацієнта: індекси нічного зниження САТ і ДАТ, амбулаторний індекс жорсткості судинної стінки (ААСІ) за добу, день, ніч [15]; індекс «подвійний добуток» і середній гемодинамічний артеріальний тиск (СрАТ) за добу, денний і нічний проміжок часу [25].

Серед показників варіабельності ритму серця (ВРС) аналізували загальноприйняті показники [6]. Зокрема, часові (SDNN, pNN50, rMSSD, SDNN index, SDANN, VAR, avNN, C3BP) і спектральні (VLF, LF, HF, pHF) показники за добовий, денний, нічний проміжок часу. Крім того, розраховувались окремо: симпатовагальний індекс (ІВСВ), що розраховувався як LF/HF; індекс централізації (ІЦ), що визначався як [(HF+LF/

VLF] і показник сумарної потужності в усіх діапазонах (TP) [22].

Визначання агрегації тромбоцитів відбувалось за допомогою аналізатора агрегації тромбоцитів AP 2110 (ЗАТ «Спектроскопия, оптика и лазеры – авангардные разработки (Solar)», Мінськ, Республіка Білорусь) відповідно до міжнародних рекомендацій [4, 13]. Індуктор агрегації – аденозин-5'-дифосфат (АДФ) у кінцевій концентрації  $10,0 \times 10^{-6}$  моль/л (Sigma-Aldrich). У цій роботі аналізували максимальний ступінь і час агрегації тромбоцитів протягом 10 хв запису; нахил кривої за першу хвилину запису агрегатограми.

За протоколом дослідження когорту хворих поділили на дві групи. До першої увійшли 39 хворих на ГХ, в яких перебіг ГХ ускладнився півкульним ішемічним інсультом, до другої групи – 49 хворих на ГХ, які досягли цільового рівня АТ на тлі лікування.

Гіпотеза про нормальність розподілу метричних ознак перевірялась за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Дані дескриптивної статистики надано у вигляді середнього арифметичного та стандартного відхилення ( $M \pm SD$ ) для показників, що мали нормальний розподіл, та медіани з міжквартильним розмахом –  $Me (Q_{25} - Q_{75})$  для параметрів, які мали розподіл, що відрізняється від нормального. Порівняння показників у групах здійснили з застосуванням t-критерію Стьюдента для двох незалежних вибірок і критерію Манна–Уїтні відповідно. Неметричні ознаки представлено у вигляді абсолютних частот, і порівняння виконали за допомогою критерію  $\chi^2$ . Для визначення предикторів ризику розвитку ішемічного півкульного інсульту використовували метод логістичного регресійного аналізу. Для визначення незалежних предикторів чинники, що мали вірогідне прогностичне значення при уніваріантному аналізі, покроково включались до мультиваріантної моделі. Дані представлені у вигляді відношення шансів (ВШ) та їхніх довірчих інтервалів (ДІ). Критичні значення (cut-off value) кількісних показників, що включали до логістичного регресійного аналізу, визначали за допомогою ROC-аналізу. Вірогідність відмінностей вважали на рівні  $p < 0,05$ . Матеріали статистично опрацювали із застосуванням пакета програм Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, США) та Analyse-it for Microsoft Excel 4.80.1 (Analyse-it Software, Ltd.).

## Результати та їх обговорення

Групи хворих були зіставні за віком ( $63,0 \pm 9,1$  проти  $64,0 \pm 11,0$  року;  $p = 0,682$ ). Групи розрізнялись за статтю. Зокрема, у групі хворих на ГХ, що ускладнена ішемічним інсультом, переважали чоловіки (64 %), а у групі контрольованої гіпертензії чоловіків було 39 % ( $p = 0,018$ ).

З допомогою ROC-аналізу з'ясували критичні значення кількісних показників ДМАТ, ВРС та АДФ-індукованої агрегації (табл. 1).

До факторів, що асоціюються з підвищеним ризиком виникнення ішемічного півкульного інсульту, увійшли показники ДМАТ: середній САТ за день понад 132 мм рт. ст.; середній ДАТ за ніч понад 70 мм рт. ст.; пульсовий АТ за добу понад 60 мм рт. ст., за день понад 58,6 мм рт. ст. і за ніч понад 57,9 мм рт. ст.; індекс вимі-

Таблиця 1. Точка розподілу для показників за даними ROC-аналізу

Показник, одиниці вимірювань	AUC (95 % ДІ)	p	Se, %	Sp, %	Cut-of-value
Показники ДМАТ:					
САТ <sub>день</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,923 (0,845–0,969)	0,0001	87,2	95,7	>132,0
ДАТ <sub>ніч</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,828 (0,730–0,902)	0,0001	72,2	91,5	>70,0
ІВ САТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> %	0,914 (0,833–0,963)	0,0001	84,6	97,9	>44,7
ІВ ДАТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> %	0,752 (0,647–0,839)	0,0001	48,7	97,9	>37,7
ІЧ ДАТ <sub>ніч</sub> <sup>1</sup> %	0,778 (0,674–0,862)	0,0001	62,2	91,5	>62,6
ІП САТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст. × год	0,890 (0,803–0,947)	0,0001	84,6	95,7	>94,3
ІП ДАТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст. × год	0,769 (0,666–0,853)	0,0001	56,4	95,7	>58,4
ПАТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,908 (0,825–0,960)	0,0001	70,3	97,9	>60,0
ПАТ <sub>день</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,896 (0,812–0,952)	0,0001	82,1	89,4	>58,6
ПАТ <sub>ніч</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,858 (0,764–0,925)	0,0001	77,8	93,6	>57,9
ААСІ <sub>доба</sub> <sup>1</sup>	0,713 (0,604–0,807)	0,0002	63,2	84,8	>0,5
Var ПАТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,684 (0,574–0,780)	0,0016	64,1	78,7	>11,4
Var ПАТ <sub>день</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,652 (0,542–0,752)	0,0109	59,0	76,6	>11,8
Var ПАТ <sub>ніч</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,819 (0,719–0,895)	0,0001	77,8	80,9	>8,2
ПД <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст. × год	0,791 (0,689–0,871)	0,0001	69,2	80,9	>86,3
СрАТ <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,883 (0,796–0,942)	0,0001	74,4	97,9	>94,8
СрАТ <sub>ніч</sub> <sup>1</sup> мм рт. ст.	0,887 (0,798–0,946)	0,0001	75	91,5	>87,1
Показники ВРС:					
SDNN <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мс	0,699 (0,589–0,795)	0,0005	41,7	95,7	≤91,0
SDNN <sub>день</sub> <sup>1</sup> мс	0,659 (0,547–0,760)	0,0074	41,7	95,7	≤83,0
SDANN <sub>доба</sub> <sup>1</sup> мс	0,745 (0,637–0,834)	0,0001	66,7	78,7	≤99,0
SDANN <sub>день</sub> <sup>1</sup> мс	0,686 (0,574–0,783)	0,0013	47,2	93,6	≤76,0
VLF <sub>день</sub> <sup>1</sup> %	0,638 (0,525–0,741)	0,0223	52,8	78,7	≤63,7
LF <sub>день</sub> <sup>1</sup> %	0,637 (0,524–0,740)	0,0272	52,8	74,5	>27,1
ІЦ <sub>день</sub> <sup>1</sup>	0,638 (0,525–0,741)	0,0258	52,8	78,7	>0,6
Показники АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів:					
Ступінь агрегації, %	0,683 (0,555–0,794)	0,0192	83,3	56,5	>65,2

AUC: площа під кривою; Cut-of-value: точка розподілу; Se: чутливість; Sp: специфічність.



**Таблиця 2.** Залежні та незалежні предиктори ішемічного півкульного інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу (уніваріантна й мультиваріантна моделі логістичної регресії)

Показник, одиниці вимірювань	Уніваріантна модель		Мультиваріантна модель	
	ВШ (95 % ДІ)	p	ВШ (95 % ДІ)	p
<b>Показники ДМАТ:</b>				
CAT <sub>день</sub> , мм рт. ст.	153,0 (27,9–836,9)	0,0001	30,0 (1,7–536,2)	0,021
ДАТ <sub>ніч</sub> , мм рт. ст.	27,95 (7,9–98,3)	0,0001		
ПАТ <sub>доба</sub> , мм рт. ст.	108,7 (13,3–890,4)	0,0001		
ПАТ <sub>ніч</sub> , мм рт. ст.	37,6 (10,3–136,8)	0,0001		
ПАТ <sub>день</sub> , мм рт. ст.	31,2 (9,6–102,1)	0,0001		
ІВ САТ <sub>доба</sub> , %	253,0 (29,1–2202,0)	0,0001	40,9 (1,4–1236,3)	0,033
ІВ ДАТ <sub>доба</sub> , %	43,7 (5,5–349,2)	0,0003		
ІЧ ДАТ <sub>ніч</sub> , %	13,8 (4,4–43,2)	0,0001		
ІП САТ <sub>доба</sub> , мм рт. ст. × год.	123,8 (23,5–652,3)	0,0001		
ІП ДАТ <sub>доба</sub> , мм рт. ст. × год.	29,1 (6,2–137,4)	0,0001		
Вар ПАТ <sub>доба</sub> , мм рт. ст.	5,8 (2,3–14,9)	0,0002		
Вар ПАТ <sub>день</sub> , мм рт. ст.	4,7 (1,9–11,9)	0,001		
Вар ПАТ <sub>ніч</sub> , мм рт. ст.	14,8 (5,1–43,1)	0,0001	15,1 (1,1–209,2)	0,043
СрАТ <sub>доба</sub> , мм рт. ст.	133,4 (16,2–1097,6)	0,0001		
СрАТ <sub>ніч</sub> , мм рт. ст.	32,3 (9,0–115,1)	0,0001		
AASI <sub>доба</sub>	9,6 (3,4–27,0)	0,0001		
ПД <sub>доба</sub> , мм рт. ст. × уд/хв	8,3 (3,1–22,1)	0,0001		
<b>Показники ВРС:</b>				
SDNN <sub>доба</sub> , мс	16,1 (3,4–76,8)	0,0001		
SDNN <sub>день</sub> , мс	16,1 (3,4–76,8)	0,0005	56,6 (2,5–1274,2)	0,011
SDANN <sub>доба</sub> , мс	7,4 (2,8–19,8)	0,0001		
SDANN <sub>день</sub> , мс	13,1 (3,4–50,1)	0,0001		
VLF <sub>день</sub> , %	4,1 (1,6–10,8)	0,003		
LF <sub>день</sub> , %	3,4 (1,3–8,6)	0,011		
ІЦ <sub>день</sub>	4,1 (1,6–10,8)	0,003		
<b>Показники АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів:</b>				
Ступінь агрегації, %	6,5 (1,7–25,6)	0,007		

рювань САТ за добу понад 44,7 % та ДАТ за добу понад 37,7 %; індекс часу ДАТ за ніч понад 62,6 %; індекс площі гіпертензії САТ за добу понад 94,3 мм × год і ДАТ за добу понад 58,4 мм × год; AASI за добу понад 0,52; середній гемодинамічний АТ за добу понад 94,8 мм рт. ст. і за ніч понад 87,1 мм рт. ст.; варіабельність ПАТ за день понад 11,8 мм рт. ст. і за ніч понад 8,2 мм рт. ст.; індекс «подвійний добуток» за добу понад 86,3 мм рт. ст. × уд/хв). Крім того, ряд показників ВРС (SDNN за добу менше або дорівнює 91 мс і за день менше або дорівнює 83 мс; SDANN за добу менше або дорівнює 99 мс і за день менше або дорівнює 76 мс; VLF за день менше або дорівнює 63,7 %; LF за день понад 27,1 %; індексом централізації понад 0,56), а також один показник АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів (ступінь максимальної агрегації тромбоцитів понад 65,2 %).

На наступному етапі аналізу даних для визначення залежних і незалежних факторів ризику ішемічного півкульного інсульту за допомогою логістичної регресії побудували уніваріантну та мультиваріантну моделі й розраховували відношення шансів (табл. 2).

За даними уніваріантного логістичного регресійного аналізу, залежними чинниками, що збільшують ризик ішемічного півкульного інсульту, виявились показники ДМАТ (індекс вимірювань САТ за добу (ВШ = 253,0;  $p < 0,0001$ ); середній САТ за день (ВШ = 153;  $p < 0,0001$ ); варіабельність ПАТ за ніч (ВШ = 14,8;  $p < 0,0001$ ); середній гемодинамічний АТ за добу (ВШ = 133,4;  $p < 0,0001$ ); індекс пульсовий тиск за добу (ВШ = 108,7;

$p < 0,0001$ ); площі САТ за добу (ВШ = 123,8;  $p < 0,0001$ ); індекс вимірювань ДАТ за добу (ВШ = 43,7;  $p < 0,0003$ ); ПАТ за ніч (ВШ = 37,6;  $p < 0,0001$ ); середній гемодинамічний АТ за ніч (ВШ = 32,3;  $p < 0,0001$ ); ПАТ за день (ВШ = 31,2;  $p < 0,0001$ ); індекс площі ДАТ за добу (ВШ = 29,1;  $p < 0,0001$ ); індекс часу ДАТ за ніч (ВШ = 13,8;  $p < 0,0001$ ); амбулаторний індекс жорсткості судинної стінки за добу (ВШ = 9,6;  $p < 0,0001$ ); ДАТ за ніч (ВШ = 27,95;  $p < 0,0001$ ); індекс «подвійний добуток» (ВШ = 8,3;  $p < 0,0001$ ); варіабельність ПАТ за добу (ВШ = 5,8;  $p = 0,0002$ ); варіабельність ПАТ за день (ВШ = 4,7;  $p = 0,001$ ).

Крім того, до моделі потрапили показники ВРС (SDNN за добу (ВШ = 16,1;  $p = 0,0005$ ); SDNN за день (ВШ = 16,1;  $p = 0,0005$ ); SDANN за добу (ВШ = 7,4;  $p < 0,0001$ ); SDANN за день (ВШ = 13,1;  $p = 0,0001$ ); VLF за день (ВШ = 4,1;  $p = 0,003$ ); LF за день (ВШ = 3,4;  $p = 0,011$ ); індекс централізації (ВШ = 4,1;  $p = 0,003$ ), а також показник агрегації тромбоцитів (показник АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів – ступінь агрегації (ВШ = 6,5;  $p = 0,007$ )).

Для визначення незалежних факторів, що асоціюються з підвищеним ризиком розвитку ішемічного півкульного інсульту побудовано мультиваріантну модель логістичної регресії з покроковим включенням. Відповідно до отриманої моделі незалежними предикторами ішемічного півкульного інсульту є тільки чотири показники: SDNN за день (ВШ = 56,6;  $p = 0,011$ ); індекс вимірювання САТ за добу (ВШ = 40,9;  $p = 0,033$ ); середній

CAT за день (ВШ = 30,0;  $p = 0,021$ ) і варіабельність ПАТ за ніч (ВШ = 15,1;  $p = 0,043$ ). Жоден із досліджуваних показників АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів не увійшов до незалежних чинників підвищеного ризику розвитку ішемічного інсульту.

Дані, що одержали, збігаються з результатами інших досліджень, які доводять вірогідний зв'язок між рівнем CAT і ДАТ і ризиком інсульту. У дослідженні MRFIT показано сильніший негативний вплив підвищеного CAT на цереброваскулярні захворювання [10]. Наші дані свідчать, що найбільший значущий вплив на ризик ішемічного інсульту чинить не середній добовий CAT, а середній CAT за денний проміжок часу, який до того ж є незалежним фактором ризику розвитку ішемічного інсульту.

Результати епідеміологічних досліджень підтвердили підвищення ризику розвитку інсульту вже при рівні CAT понад 95 мм рт. ст. у жінок та понад 105 мм рт. ст. у чоловіків і таке саме підвищення ризику при нормальному рівні CAT, як і за наявності цукрового діабету, серцево-судинної хвороби або паління. За даними великих проспективних досліджень і метааналізів, чим нижче знижується АТ, тим більше зменшується кількість інсультів (за принципом «чим нижче, тим краще») [7].

У нашому дослідженні середній денний CAT і середній нічний ДАТ не увійшли до переліку незалежних факторів ризику, але в уніваріантній моделі вони суттєво збільшують відношення шансів ішемічних цереброваскулярних подій у 153 рази ( $p < 0,001$ ) і 28 разів ( $p < 0,001$ ) відповідно.

Як незалежний фактор ризику сьогодні розглядається зростання показника варіабельності артеріального тиску. Зокрема, за даними дослідження PAMELA [9], Rothwell et al. [11] 24-годинна варіабельність АТ може бути предиктором і вперше виниклого, і повторного інсульту незалежно від рівня середнього АТ.

У дослідженні ASCOT щодо прогностичної значущості варіабельності показників добового моніторингу артеріального тиску виявлено, що варіабельність «від візиту до візиту» є сильним предиктором інсульту й коронарних подій, незалежним від середнього рівня АТ, при цьому показник варіабельності систолічного АТ мав потужніше прогностичне значення [16].

У нашому дослідженні до незалежних факторів ризику ішемічного півкульного інсульту у хворих на ГХ увійшов показник варіабельності нічного пульсового АТ. При значеннях цього показника понад 8,2 мм рт. ст. відношення шансів розвитку ішемічного інсульту збільшується в 15 разів ( $p = 0,043$ ).

Заслуговує на увагу індекс вимірювання САД за добовий період часу, що вказує на відсоток вимірювань від їхньої загальної кількості за добу, при яких величини САТ виходили за межі прийнятих верхніх і нижніх граничних значень, тобто зростання цього показника також відбиває збільшення варіабельності АТ протягом доби. В уніваріантній моделі він продемонстрував найвищу прогностичну потужність серед усіх досліджуваних показників. У випадку збільшення індекс вимірювання САД за добовий період часу понад 44,7 % відношення шансів цереброваскулярних подій збільшувалось у 253 рази. Цікаво, що цей показник не втратив своєї прогностичної значущості і в мультиваріантній моделі,

поряд із середнім CAT за день, SDNN за день і нічною варіабельністю пульсового АТ. За умов збільшення індексу вимірювання САД за добовий період часу понад 44,7 % відношення шансів ішемічного півкульного інсульту збільшувалось у 30 разів ( $p = 0,033$ ).

У дослідженні R. Sega et al. [1] виявлено прямий позитивний зв'язок між середнім CAT і ДАТ, варіабельністю CAT і ДАТ та індексом маси міокарда лівого шлуночка.

Відомо, що основною структурною зміною лівого шлуночка у хворих на ГХ є його гіпертрофія. Водночас вона є важливим фактором ризику серцево-судинних ускладнень у хворих на ГХ. Гіпертрофія лівого шлуночка та його патологічне ремоделювання незалежно пов'язані з підвищеним ризиком інсульту в усіх вікових групах і в осіб різної статі. З віком підвищується поширеність артеріальної гіпертензії, але при цьому знижується її значення як фактора ризику розвитку інсульту, а після досягнення віку 90 років цей ризик однаковий в осіб з артеріальною гіпертензією та без неї. Збільшення відносної товщини стінки лівого шлуночка підвищує ризик інсульту, а після коригування з урахуванням його маси має додаткову цінність у прогнозуванні ризику мозкового інфаркту [8]. Встановлено, що індекс маси міокарда та тип геометрії впливають на частоту ішемічного інсульту з найвищим ризиком при концентричній гіпертрофії [3]. Показано кореляційний зв'язок між ступенем гіпертрофії лівого шлуночка та тяжкістю ішемічного інсульту [2,27].

Доведено, що ризик розвитку інсульту у хворих на ГХ зростає не тільки за умов наявності гіпертрофії лівого шлуночка, а й інших структурних змін серця. Так, ризик інсульту у хворих на ГХ із кальцинозом клапанів серця зростає у 8,7 рази ( $p < 0,001$ ) за наявності цукрового діабету 2 типу в поєднанні з нападами фібриляції передсердь в анамнезі, товщиною інтима-медіа загальної сонної артерії понад 1,10 мм і наявністю атеросклеротичних бляшок. Рівень сечової кислоти понад 0,35 ммоль/л підвищує відношення шансів подій церебральних ускладнень у 9,1 рази ( $p < 0,001$ ), а додаткове врахування кальцинозу кільця мітрального клапана – до 9,8 рази ( $p < 0,001$ ) [18].

Добре відомо, що за наявності гіпертрофії лівого шлуночка, артеріальної гіпертензії ВРС знижується. Знижена ВРС є фактором ризику серцево-судинної смертності, раптової серцевої смерті у хворих після інфаркту міокарда, в пацієнтів із діабетичною кардіоміопатією [28]. Однак застосування показників ВРС із метою прогнозування цереброваскулярних ускладнень артеріальної гіпертензії має обмежений характер.

Здійснений нами аналіз довів можливість використання показників ВРС (SDNN, SDANN, VLF, LF) як прогностичних маркерів підвищеного ризику розвитку ішемічного інсульту у хворих на ГХ. Відповідно до уніваріантної моделі зниження показника SDNN за день  $\leq 83$  мс асоціюється зі зростанням відношення шансів ішемічного інсульту в 16,1 рази ( $p = 0,0005$ ). Особливо важливим є факт зростання прогностичної потужності показника SDNN за день у мультиваріантній моделі логістичної регресії. У мультиваріантній моделі (поряд з CAT за день) індексом вимірювання CAT за добовий проміжок часу та нічною варіабельністю пульсового АТ

відношення шансів ішемічного інсульту для показника SDNN за день зросло з 16,1 до 56,6 раза ( $p = 0,011$ ).

Дані, що одержали, збігаються з результатами інших досліджень. До значущих показників, що вказують на підвищення ризику формування артеріальної гіпертензії та серцево-судинних ускладнень, належать: низький рівень функціональних резервів, SDNN нижче за нормальні значення, підвищення ULF і VLF, збільшення індексу централізації понад 3,3, швидкості ранішнього підйому АТ понад 10 мм рт. ст./год [20].

У хворих на ГХ похилого віку зниження показників ВРС корелює з віком, індексом ваги тіла, ступенем артеріальної гіпертензії. Крім цього, дослідники виявили у хворих на ГХ похилого віку негативний кореляційний зв'язок зниження показників ВРС, що опосередковано свідчать про тонус парасимпатичної нервової системи та стан барорефлекторної функції (RMSSD, рNN50, NN50) із рівнем ДАТ. Зниження САТ сприяє підвищенню показників ВРС: SDNN, SDANN, T1, SDNN index, а зниження ДАТ – підвищенню RMSSD, рNN50, NN50 [28].

Отже, зниження варіабельності серцевого ритму вдень (а саме – SDNN), підвищення систолічного АТ і його варіабельності за добу та пульсового АТ у нічні години є незалежними факторами ризику ішемічного півкульного інсульту у хворих на ГХ.

## Висновки

1. Незалежними факторами ризику ішемічного півкульного інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу є SDNN за день (ВШ = 56,6;  $p = 0,011$ ), індекс вимірювання САТ за добу (ВШ = 40,9;  $p = 0,033$ ), середній систолічний АТ за день (ВШ = 30,0;  $p = 0,021$ ); варіабельність ПАТ за ніч (ВШ = 15,1;  $p = 0,043$ ).

2. Ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів понад 65,2 % є залежним фактором ризику та збільшує відношення шансів ішемічного інсульту в 6,5 раза ( $p = 0,007$ ).

**Перспективи подальших досліджень** полягають у з'ясуванні впливу антигіпертензивних препаратів на фактори ризику ішемічного інсульту.

## Список літератури

- [1] Blood pressure variability and organ damage in a general population: results from the PAMELA study (Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni) / R. Sega, G. Corrao, M. Bombelli et al. // *Hypertension*. – 2002. – Vol. 39. – Issue 2. – P. 710–714.
- [2] Cardiovascular morbidity and mortality in losartan interventional for endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol / B. Dahlöf, R. Devereux, S. Kjeldsen et al. // *Lancet*. – 2002. – Vol. 359. – P. 995–1003.
- [3] Cuadrado-Godia E. Heart failure in acute ischemic stroke / E. Cuadrado-Godia, A. Ois, J. Roquer // *Curr. Cardiol. Rev.* – 2010. – Vol. 6. – Issue 3. – P. 202–213.
- [4] Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry / C.P.M. Hayward, K.A. Moffat, A. Raby et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2010. – Vol. 134. – P. 955–963.
- [5] European society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring / E. O'Brien, G. Parati, G. Stergiou et al. // *J. Hypertens.* – 2013. – Vol. 31. – Issue 9. – P. 1731–1768.
- [6] Heart rate variability (HRV) signal analysis: clinical application / ed. by M.V. Kamath, M.A. Watanabe, A.R.M. Upton. – CRC Press, 2013. – 513 p.
- [7] Law M.R. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies / M.R. Law, J.K. Morris, N.J. Wald // *B. M. J.* – 2009. – Vol. 338. – b1665.

- [8] Left ventricular mass and geometry and the risk of ischemic stroke / M.R.D. Tullio, D.R. Zwas, R.L. Sacco et al. // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34. – Issue 10. – P. 2380–2284.
- [9] Long-term prognostic value of blood pressure variability in the general population: results of the Pressioni Arteriose Monitorate e Loro Associazioni Study / G. Mancia, M. Bombelli, R. Facchetti et al. // *Hypertension*. – 2007. – Vol. 49. – Issue 6. – P. 1265–1270.
- [10] Multiple risk factor interventions for primary prevention of coronary heart disease: review / S. Ebrahim, F. Taylor, K. Ward et al. // *The Cochrane Collaboration*. – 2011. – Vol. 1. – P. CD001561.
- [11] Prognostic significance of visit-to-visit variability, maximum systolic blood pressure and episodic hypertension / P.M. Rothwell, S.C. Howard, E. Dolan et al. // *Lancet*. – 2010. – Vol. 375. – Issue 9718. – P. 895–905.
- [12] Ravenni R. Роль антигіпертензивної терапії в первичній профілактиці інсульту / R. Ravenni, J.F. Jabre, E. Casiglia // *Практична ангіологія*. – 2012. – №2–1. – С. 37–40.
- [13] Recommendation for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH / M. Cattaneo, C. Cerletti, P. Harrison et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 11. – P. 1183–1189.
- [14] Sacco R.L. The 2006 William Feinberg lecture: shifting the paradigm from stroke to global vascular risk estimation / R.L. Sacco // *Stroke*. – 2007. – Vol. 38. – Issue 6. – P. 1980–1987.
- [15] Schillaci G. The relationship between systolic and diastolic blood pressure: a clinically meaningful slope? / G. Schillaci, G. Pucci // *Hypertension Research*. – 2011. – Vol. 34. – P. 1175–1178.
- [16] Горбунов В.М. Современные представления о вариабельности артериального давления / В.М. Горбунов // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2012. – Т. 8. – №6. – С. 810–818.
- [17] Григорова И.А. Кардиогенные инсульты. Клинико-патогенетические, терапевтические и профилактические особенности / И.А. Григорова, О.А. Тесленко, С.Н. Григоров // *Международный неврологический журнал*. – 2015. – №1(71). – С. 132–140.
- [18] Іванов В.П. Прогнозування розвитку серцево-судинних та цереброваскулярних ускладнень у хворих на гіпертонічну хворобу і кальциноз клапанів серця / В.П. Іванов, О.В. Юзвішина // *Український кардіологічний журнал*. – 2013. – №3. – С. 69–74.
- [19] Комплексне лікування гострих порушень мозкового кровообігу / Н.К. Свиридова, Г.С. Лубенець, О.В. Попов та ін. // *Восточно-европейский неврологический журнал*. – 2015. – №3. – С. 4–27.
- [20] Курникова И.А. Резервы адаптации в прогнозировании риска сердечно-сосудистой патологии / И.А. Курникова, И.А. Кузнецова, Е.А. Сулейменов // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – №10. – Ч. 5. – С. 913–919.
- [21] Маньковский Б.Н. Инсульт и сахарный диабет: взгляд эндокринолога / Б.Н. Маньковский // *Здоров'я України*. – 2011. – №1. – С. 38.
- [22] Новые методы электрокардиографии / под ред. С.В. Грачева, Г.Г. Иванова, А.Л. Сыркина. – М.: Техносфера, 2007. – 552 с.
- [23] Патент 113421 Україна, МПК G 01 N 33/483, A 61 B 5/00. Спосіб діагностики підвищеного ризику інсульту у хворих на гіпертонічну хворобу / В.В. Сиволап, С.П. Жеманюк; заявник та патентовласник Запорізький державний медичний університет. – № u201607911; заявл. 18.07.2016; опубл. 25.01.2017 // *Бюлетень*. – №2.
- [24] Проблеми здоров'я і тривалості життя в сучасних умовах / Нац. акад. мед. наук України, Держ. установа Нац. наук. центр Ін-т кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска; за ред. В. М. Коваленка, В. М. Корняцького. – К.: Гордон, 2017. – 297 с.
- [25] Пшеницин А.И. Суточное мониторирование артериального давления / А.И. Пшеницин, Н.А. Мазур. – М.: МЕДПРАКТИКА-М, 2015. – 336 с.
- [26] Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування / Асоціація кардіологів України; за ред. акад. В.М. Коваленко та ін. – К.: Моріон, 2016. – 192 с.
- [27] Сиволап В.В. Влияние гипертрофии левого желудочка и аритмий на риск смертельного исхода у больных гипертонической болезнью, осложненной острым полшарным ишемическим инсультом / В.В. Сиволап, С.П. Жеманюк, Л.В. Лукашенко // *Аритмологія. Матеріали VII Науково-практичної конференції Асоціації аритмологів України* (м. Київ, 18–19 травня 2017 р.). – 2017. – №2(22). – С. 53.
- [28] Циркадные вариации артериального давления и сердечного ритма у пациентов с артериальной гипертензией и метаболическим синдромом / О.А. Кисляк, А.В. Стародубова, Н.В. Малышева и др. // *Лечебное дело*. – 2012. – №3. – С. 85–91.

## References

- [1] Sega, R., Corrao, G., Bombelli, M., Beltrame, L., Facchetti, R., Grassi, G. et al. (2002). Blood pressure variability and organ damage in a general population: results from the PAMELA study (Pressioni Arteriose Monitorate E Loro Associazioni). *Hypertension*, 39(2), 710–714.
- [2] Dahlöf, B., Devereux, R., Kjeldsen, S. E., Julius, S., Beevers, G., de Faire, U. et al. (2002). Cardiovascular morbidity and mortality in losartan interventional for endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. *Lancet*, 359(9311), 995–1003. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08089-3.



- [3] Cuadrado-Godia, E., Ois, A., & Roquer, J. (2010). Heart Failure in Acute Ischemic Stroke. *Current Cardiology Reviews*, 6(3), 202–213. doi: 10.174/157340310791658776.
- [4] Hayward, C. P. M., Moffat, K. A., Raby, A., Israels, S., Plumhoff, E., Flynn, G., & Zehnder, J. L. (2010). Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol*, 134, 955–963. doi: 10.1309/AJCP9V3RRVNZMKDS.
- [5] O'Brien, E., Parati, G., Stergiou, G., Asmar, R., Beilin, L., Bilo, G. et al. (2013). European society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring. *J Hyperten*, 31(9), 1731–1768. doi: 10.1097/HJH.0b013e328363e964.
- [6] Kamath, M. A., Watanabe, M. A., & Upton, A. R. M. (Eds.). (2013). *Heart rate variability (HRV) signal analysis: clinical application CRC Press*.
- [7] Law, M. R., Morris, J. K., & Wald, N. J. (2009). Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ*, 338, b1665. doi: 10.1136/bmj.b1665.
- [8] Tullio, M. R. D., Zwas, D. R., Sacco, R. L., Sciacca, R. R., & Homma, S. (2003). Left ventricular mass and geometry and the risk of ischemic stroke. *Stroke*, 34(10), 2380–2284. doi: 10.1161/01.STR.0000089680.77236.60.
- [9] Mancina, G., Bombelli, M., Facchetti, R., Madotto, F., Corrao, G., Trevisano, F. Q. et al. (2007). Long-term prognostic value of blood pressure variability in the general population: results of the Pressioni Arteriose Monitorate e Loro Associazioni Study. *Hypertension*, 49(6), 1265–1270. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.088708
- [10] Ebrahim, S., Taylor, F., Ward, K., Beswick, A., Burke, M., & Davey Smith, G. (2011). Multiple risk factor interventions for primary prevention of coronary heart disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 1, CD001561. doi: 10.1002/14651858.CD001561.pub3.
- [11] Rothwell, P. M., Howard, S. C., Dolan, E., O'Brien, E., Dobson, J. E., Dahlöf, B. et al. (2010). Prognostic significance of visit-to-visit variability, maximum systolic blood pressure and episodic hypertension. *Lancet*, 375(9718), 895–905. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60308-X.
- [12] Ravenni, R., Jabre, J. F., & Casiglia, E. (2012). Rol' antigipertenzivnoj terapii v pervichnoj profilaktike insul'ta [Primary stroke prevention and hypertension treatment: which is the first-line strategy?]. *Praktychna anhiolohiia*, 2–1, 37–40. [in Russian].
- [13] Cattaneo, M., Cerletti, C., Harrison, P., Hayward, C. P., Kenny, D., Nugent, D. et al. (2013). Recommendation for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost*, 11, 1183–1189. doi: 10.1111/jth.12231.
- [14] Sacco, R. L. (2007). The 2006 William Feinberg lecture: shifting the paradigm from stroke to global vascular risk estimation. *Stroke*, 38(6), 1980–1987. doi: 10.1161/STROKEAHA.106.481143.
- [15] Schillaci, G., & Pucci, G. (2011). The relationship between systolic and diastolic blood pressure: a clinically meaningful slope? *Hypertens Res*, 34, 1175–1178. doi: 10.1038/hr.2011.161
- [16] Gorbunov, V. M. (2012). Sovremennye predstavleniya o variabel'nosti arterial'nogo davleniya [Modern views on the variability of blood pressure]. *Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii*, 8(6), 810–818 [in Russian].
- [17] Hryhorova, I. A., Teslenko, O. A., & Hryhorov, S. N. (2015). Kardiogenne insul'ty. Kliniko-patogeneticheskie, terapevticheskie i profilakticheskie osobennosti [Cardiogenic Strokes. Clinical and Pathogenetic, Therapeutic and Preventive Features]. *Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal*, 1(71), 132–140 [in Russian].
- [18] Ivanov, V. P., & Yuzvyshyna, O. V. (2013). Prohnozuvannya rozvytku sertsevo-sudynnykh ta tserebrovaskuliarnykh uskladnen u khvorykh na hipertoničnu khvorobu i kaltsynoz klanpaniv sertsia [Prognosis of the development of cardiovascular and cerebrovascular complications in patients with hypertension and heart valve calcification]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 3, 69–74 [in Ukrainian].
- [19] Svyrydova, N. K., Lubenets, A. S., Popov, A. V., Pavlyuk, N. P., Usovych, K. M., & Svystun, V. Y. (2015). Kompleksne likuvannya hostrykh porushen mozgovoho krovoobihu [Integrated treatment of stroke]. *Vostochno-evropejskij nevrologicheskij zhurnal*, 3, 4–27 [in Ukrainian].
- [20] Kurnikova, I. A., Kuznetsova, I. A., & Suleymenov, E. A. (2014). Rezervy adaptacii v prognozirovanii riska serdechno-sosudistoj patologii [Reserves of adaptation in forecasting risk of cardiovascular disease]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 10(5), 913–919 [in Russian].
- [21] Man'kovskij, B. N. (2011). Insul't i sakharnyj diabet: vzglyad e'ndokrinologa [Stroke and diabetes mellitus: an endocrinologist's view]. *Zdorovia Ukrainy*, 1, 38 [in Russian].
- [22] Gracheva, S. V., Ivanova, G. G., & Syrkina, A. L. (Eds.). (2007). *Novye metody e'lectrocardiografii [New methods of electrocardiology]*. Moscow: Tekhnosfera [in Russian].
- [23] Syvolap, V. V., & Zhemaniuk, S. P. (patentee) (2017). Patent 113421 Ukraina, MPK G 01 N 33/483, A 61 V 5/00. Sposib diahnostyky pidvyshchennoho ryzyku insultu u khvorykh na hipertoničnu khvorobu [Patent Ukraine 113421. A method for diagnosing an increased risk of stroke in patients with hypertension]. *Biuletyn*, 2 [in Ukrainian].
- [24] Kovalenko, V. M., & Kornatskyi, V. M. (Eds.). (2017). *Problemy zdorovia i tryvalosti zhyttia v suchasnykh umovakh [Problems of health and life expectancy in modern conditions]*. Kyiv: Hordon [in Ukrainian].
- [25] Pshenicin, A. I., & Mazur, N. A. (2015). *Sutochnoe monitorovanie arterial'nogo davleniya [Ambulatory blood pressure monitoring]*. Moscow: Medpractica-M [in Russian].
- [26] Kovalenko, V. M. (Ed.). (2016). *Sertsevo-sudynni zakhvoriuvannia. Klasyfikatsiia, standarty diahnostyky ta likuvannia [Cardiovascular diseases: classification, practical protocols of diagnosis and treatment]*. Kyiv: Morion [in Ukrainian].
- [27] Sivolap, V. V., Zhemaniuk, S. P., & Lukaschenko, L. V. (2017). Vliyanie gipertrofii levogo zheludochka i aritmij na risk smertel'nogo iskhoda u bol'nykh gipertonicheskoy bolezn'yu, oslozhnennoj ostrym polusharnym ishemicheskim insul'tom [Influence of left ventricular hypertrophy and arrhythmias on the risk of mortality in patients with hypertension complicated by acute hemispheric ischemic stroke]. *Arytmolohiia Proceedings of the VII Scientific and Practical Conference of the Association of Arrhythmologists of Ukraine*, 2(22), 53 [in Ukrainian].
- [28] Kislyak, O. A., Starodubova, A. V., Malysheva, N. V., Kopelev, A. M., Alieva, A. M., Kasatova, T. B., & Chervyakova, U. B. (2012). Cirkadnye variacii arterial'nogo davleniya i serdechnogo ritma u pacientov s arterial'noj gipertenziej i metabolicheskim sindromom [Circadian Rhythm of Blood Pressure and Heart Rate in Patients with Arterial Hypertension and Metabolic Syndrome]. *Lechebnoe delo*, 3, 85–91 [in Russian].

**Відомості про авторів:**

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Жеманюк С. П., аспірант, асистент каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Сведения об авторах:**

Сиволап В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Жеманюк С. П., аспирант, ассистент каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Information about authors:**

Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of the Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Zhemanjuk S. P., Postgraduate Student, Assistant of the Department of the Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 17.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 31.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2017

## Сравнительная характеристика иммуногистохимического выявления антигенов *M. tuberculosis* и микобактерий методом Циля–Нильсена в легочной ткани с туберкулезом на фоне прогрессирующего течения туберкулеза

И. В. Лискина, О. А. Мельник, Л. М. Загаба, С. Д. Кузовкова, В. В. Куц

ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев

**Цель работы** – сопоставить характер экспрессии антигенов *M. tuberculosis* при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании и выявления кислотоустойчивых бактерий (КУБ) методом Циля–Нильсена в легочной ткани с туберкулезом при хроническом течении туберкулезного процесса в фазу обострения.

**Материалы и методы.** Материал исследования – резектаты легких, 19 случаев. Изготавливали серийные срезы толщиной 5–6 микрон, окрашивали гематоксилином и еозином методом Циля–Нильсена и проводили ИГХ исследование. Использовано кроличье поликлональное антитело *Mycobacterium tuberculosis* Antibody (США), разведение – 1:2500. Оценка положительной реакции по условной шкале: + – фоновая окраска, бледно-желтая, диффузная; ++ – мелкогранулярная (светло-коричневая); +++ – грубо гранулярная (интенсивно коричневая). Количественная градация КУБ вне или внутри макрофагов в одном поле зрения: мало – 1–5 единиц; умеренное количество – 6–15 и много – более 15.

**Результаты.** Морфологические признаки прогрессирования специфического воспаления были во всех случаях. Метод Циля–Нильсена: наиболее часто внеклеточные КУБ выявлялись в некротическом ядре (84,2 %) и грануляционном слое капсулы туберкулема (68,4 %). Чаще определялись единичные КУБ. Большее количество бактерий было внутри клеток. В 84,2 % наблюдений КУБ выявлены в макрофагах внутри альвеол в умеренном количестве.

ИГХ исследование: во всех случаях определялись клетки с позитивной реакцией (+++) на антигены *M. tuberculosis*. Макрофаги внутри альвеол вне туберкулемы с такой реакцией были в 94,7 %; несколько меньше, в 84,2 % – макрофаги и эпителиоидные клетки грануляционного слоя капсулы туберкулемы. Удельный вес наблюдений большого количества клеток в альвеолах достигал 77,8 %, а в грануляционном слое капсулы – 30,0–50,0 %. Мелкогранулярная окраска клеток в этих же участках легочной ткани отмечалась чаще, преобладали случаи наблюдений большого и/или умеренного количества клеток.

**Выводы.** КУБ выявлены в 94,7 % случаев методом Циля–Нильсена. При ИГХ исследовании позитивная реакция клеток макрофагального ряда была во всех случаях. ИГХ исследование показало, что максимальная антигенная нагрузка определялась в макрофагах внутри альвеол вне туберкулемы и несколько меньше – в клетках макрофагального ряда грануляционного слоя капсулы. Результаты обоих методов выявления микобактерий и/или их фрагментов совпали по максимальному количеству наблюдений локализации структур возбудителя, а именно: в грануляционном слое капсулы туберкулемы и сохраненных альвеолярных пространствах вне туберкулемы.

**Ключевые слова:** туберкулема легких, *M. tuberculosis*, антигены, иммуногистохимия, гистохимия.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 337–343

**DOI:** 10.14739/2310-1237.2017.3.118754

**E-mail:** liskina@ifp.kiev.ua

## Порівняльна характеристика імуногістохімічного виявлення антигенів *M. tuberculosis* і мікобактерій за методом Ціля–Нільсена в легеневій тканині з туберкульозом на тлі прогресуючого перебігу туберкульозу

І. В. Ліскіна, О. О. Мельник, Л. М. Загаба, С. Д. Кузовкова, В. В. Куц

**Мета роботи** – порівняти характер експресії антигенів *M. tuberculosis* під час імуногістохімічного (ІГХ) дослідження, виявлення кислостійких бактерій (КСБ) методом Ціля–Нільсена в легеневій тканині з туберкульозом при хронічному перебігу туберкульозного процесу у фазу загострення.

**Матеріали та методи.** Матеріал дослідження – резектати легень, 19 випадків. Виготовляли серійні зрізи товщиною 5–6 мікронів, забарвлювали гематоксилином та еозином методом Ціля–Нільсена та проводили ІГХ дослідження. Використали кроляче поліклональне антитіло *Mycobacterium tuberculosis* Antibody (США), розведення 1:2500. Оцінювання позитивної реакції за умовною шкалою: + – фонове забарвлення, блідо-жовте, дифузне; ++ – дрібногранульоване (світло-коричневе); +++ – грубо гранульоване (інтенсивно коричневе). Кількісна градация КСБ – поза або всередині макрофагів у полі зору: мало – 1–5 одиниць; помірна кількість – 6–15 і багато – понад 15.

**Результати.** Морфологічні ознаки прогресування специфічного запалення були в усіх випадках. Метод Ціля–Нільсена: найчастіше позаклітинні КСБ виявлені в некротичному ядрі (84,2 %) та грануляційному шарі капсули туберкульозу (68,4 %). Частіше спостерігали поодинокі КСБ. Велика кількість паличок містилася всередині макрофагів. Найбільше випадків – 84,2 % спостережень – у макрофагах всередині альвеол, у помірній кількості. ІГХ дослідження: в усіх випадках визначені клітини з позитивною реакцією (+++) на антигени *M. tuberculosis*. Макрофаги з такою реакцією всередині альвеол поза туберкульозом спостерігали в 94,7 %; дещо менше – 84,2 % – макрофаги та епітеліоїдні клітини грануляційного шару капсули туберкульозом. Питома вага спостережень великої кількості клітин в альвеолах сягала 77,8 %, а в грануляційному шарі капсули – 30,0–50,0 %. Дрібногранульоване забарвлення клітин у цих самих ділянках легеневої тканини відзначали частіше, переважали випадки спостережень значної та/або помірної кількості клітин.

**Ключові слова:** туберкульоз легень, *M. tuberculosis*, антигени, імуногістохімія, гистохімія.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 337–343

**Висновки.** КСБ виявлені в 94,7 % випадків методом Циля–Нильсена. Під час ІГХ дослідження позитивна реакція клітин макрофагального ряду була в усіх випадках. ІГХ дослідження показало: максимальне антигенне навантаження визначалось у макрофагах всередині альвеол поза туберкульоми та дещо менше – у клітинах макрофагального ряду грануляційного шару капсули. Результати обох методів виявлення мікобактерій та/або їхніх фрагментів збіглись за максимальною кількістю спостережень локалізації структур збудника, а саме: у грануляційному шарі капсули туберкульоми та збережених альвеолярних просторах поза туберкульоми.

**Key words:**

pulmonary tuberculoma, *M. tuberculosis*, antigens, immunohistochemistry, histochemistry.

**Pathologia**

2017; 14 (3), 337–343

## Comparative characteristics of immunohistochemical detection of *M. tuberculosis* antigens and mycobacteria by Ziehl–Neelsen method in lung tissue with tuberculoma during progressive course of tuberculosis

I. V. Liskina, O. A. Melnyk, L. M. Zahaba, S. D. Kuzovkova, V. V. Kuts

**The aim of the study** – to compare the character of expression of *M. tuberculosis* antigens in immunohistochemical (IHC) study and detection of acid-fast bacilli (AFB) by Ziehl–Neelsen method in lung tissue with tuberculoma in the chronic course of tuberculosis during the exacerbation phase.

**Materials and methods.** The materials for the study were resected lungs, in total 19 cases. The thickness of the serial sections was 5–6 microns. Staining was carried out with hematoxylin and eosin, by Ziehl–Neelsen, and the IHC. IHC study used a rabbit polyclonal antibody to *Mycobacterium tuberculosis*. Antibody (USA) was used at 1:2500 dilution. Assessing of the positive reaction was according to the conditional scale: + – background color, pale yellow, diffuse; ++ – fine-granular (light brown); +++ – coarse-granular (intense brown). Quantitative gradation of AFB was the following: out or within macrophages in one field of view: few, 1–5 units; a moderate amount – 6–15, and many – more than 15.

**Results.** In all the cases pulmonary tuberculosis had morphological signs of the progression of a specific inflammatory process. Ziehl–Neelsen stain showed that the most frequently free located AFB were detected in the necrotic nucleus (84.2 %) and granulation layer of the capsule of tuberculoma (68.4 %). Most often single bacilli were noted. A greater number of bacilli were found inside macrophages. The most frequently intracellular bacilli were found in macrophages located in alveolar spaces – 84.2 % observations in a moderate number. IHC study showed that in all the cases, cells with a coarse-granular positivity (+++) to MBT antigens were determined. Macrophages within the alveoli outside tuberculoma, with same positivity were in 94.7 %; fewer – macrophages and epithelioid cells were in the granulation layer of the tuberculoma capsule, a total of 84.2 %. The percentage of observations of a large number of cells in the alveoli reached 77.8 %, and in the granulation layer of the capsule – 30.0–50.0 %. More often the fine-granular staining of cells in the same parts of lung tissue was observed, a cases of large and/or moderate number of cells prevailed.

**Conclusions.** The AFB was identified in 94.7 % cases by Ziehl–Neelsen method. In IHC study a positive reaction of macrophage cells was detected in all the cases (100 %). IHC study showed that maximum antigenic load was determined in macrophages localized inside alveoli outside of tuberculoma and slightly less in macrophage cells of the granulation layer of the tuberculoma's capsule. The results of both methods for detecting mycobacteria and/or their fragments demonstrated the coincidence of the maximum number of observations of localization of the bacilli structures, namely in granulation layer of the tuberculoma's capsule and the preserved alveolar spaces outside the tuberculoma.

В проблеме лабораторной диагностики туберкулеза (ТБ) собственно гистологическая диагностика ТБ занимает особое положение, оставаясь в некоторой степени дискуссионным вопросом. С одной стороны, внелегочный ТБ, который чаще всего требует патогистологического исследования, составляет лишь 10–15 % от всех случаев этой инфекции [9,14]. С другой – неуклонное распространение ВИЧ-инфекции, в частности, в Украине приводит как к увеличению количества развития внелегочных форм ТБ, так и к росту количества случаев атипичного клинического течения легочного ТБ [2,5,7,16]. Учитывая доказанные ограничения уровня диагностической чувствительности и специфичности при окраске гистологических образцов по Цилю–Нильсену [18], необходимость объективного выявления микобактерий, реальные возможности культуральных микробиологических исследований и имеющиеся молекулярно-генетические, серологические технологии [4,10,15], гистоморфологический анализ остается единственным возможным методом диагностики ТБ только в немногочисленных клинических случаях [12,13].

В ряде гистологических исследований показано, что гранулематозные клеточные реакции, а в

некоторых случаях и негранулематозные реакции, например такие, как скопления пенистых макрофагов [6], микобактериальная псевдоопухоль [11], являются проявлениями собственно туберкулеза только тогда, когда наличие микобактерий туберкулеза (МБТ) подтверждено в пораженной ткани. Недавние исследования показали, что результаты полимеразной цепной реакции (ПЦР) также являются достоверными только в случаях возможности выявления *M. tuberculosis* в пораженных тканях макроорганизма [19]. Наблюдения цепочек из микобактерий, которые чаще всего можно выявить в очагах некроза при окраске образцов ткани по Цилю–Нильсену [17], указывают на ассоциацию тканевой реакции с туберкулезной инфекцией. Но, как известно, окраска по Цилю–Нильсену обычно имеет относительно низкую чувствительность в отношении визуализации МБТ, диапазон положительных находок составляет 0–44 % [9]. Кроме того, обычно требуется присутствие достаточно большого количества бактерий – минимум  $10^4$  единиц в одном образце (или в 1 мл), для достоверного установления диагноза [19]. А если учитывать еще особенности механизма окраски клеток и/или ткани по Цилю–Нильсену и не-



высокие уровни чувствительности и специфичности этого метода, то становится очевидным, что метод имеет ограниченную диагностическую ценность и не обеспечивает возможности патофизиологической оценки присутствия/накопления антигенов МБТ в пораженной ткани.

На сегодняшний день обнаружение антигенов МБТ при использовании иммуногистохимического (ИГХ) метода исследования является достаточно хорошо разработанной технологией с ее преимущественным применением в исследовательских целях. Основой для такого рода исследований послужили данные о продуцировании большого количества поликлональных и моноклональных антител в ходе развития специфических клеточных тканевых реакций в присутствии бактерий.

Тем не менее в научной литературе недостаточно представлены результаты исследований по поводу наличия, количества и локализации антигенов МБТ при длительном развитии туберкулеза, в частности, при такой его форме как туберкулема. Нет достоверных данных о влиянии на эти показатели курсов специфической химиотерапии, а также учета фазы процесса: обострения, стабилизации или регрессии при анализе полученных результатов.

## Цель работы

Провести сопоставление характера экспрессии антигенов *M. tuberculosis* при иммуногистохимическом исследовании и выявления кислотоустойчивых бактерий (КУБ) методом Циля–Нильсена в легочной ткани с туберкулемой при хроническом течении туберкулезного процесса в фазу обострения.

## Материалы и методы исследования

Материалом для исследований послужили резектаты легких с наличием в них туберкулемы от 19 пациентов, которым проводилось дополнительное хирургическое лечение по поводу туберкулеза легких в клинике ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины». До выполнения операции пациенты получили основной курс или несколько курсов специфической химиотерапии, однако удовлетворительного результата лечения достигнуто не было. Исходное гистологическое исследование проводили по гистопрепаратам, окрашенным по традиционной методике гематоксилином и эозином, с целью установления морфологической активности специфического воспалительного процесса согласно ранее установленным цитологическим и гистологическим критериям [3]. Во всех случаях была определена высокая степень активности специфического воспалительного процесса. Всего в каждом случае изготавливали четыре серийных среза легочной ткани с наличием участка туберкулемы и прилежащей легочной паренхимы. Толщина срезов составляла 5–6 микрон. Один срез окрашивался гематоксилином и эозином, другой – по методу Циля–Нильсена, третий и четвертый срезы (опыт и контроль) включали в ИГХ исследование.

ИГХ исследование проводили с использованием автостейнера AUTOSTAINER 360-2D производства

компании Thermo Fisher Scientific (США), для визуализации продуктов иммуногистохимической реакции использована система UltraVision Quanto HRP DAB. Для выявления микобактериальных антигенов применяли кроличье поликлональное антитело *Mycobacterium tuberculosis* Antibody (PA1-7231) производства компании Thermo Fisher Scientific (США), рабочее разведение – 1:2500. Микроскопическое исследование проводили на микроскопах OLYMPUS CX21 и OLYMPUS BX51. Рабочие увеличения микроскопов – x100, x200, x400, x1000. На малых увеличениях определяли наличие в препарате разных гистологических структур ткани легкого, в том числе – специфического характера. Большие увеличения (x400, x1000) применяли на этапе определения характера и выраженности экспрессии микобактериальных антигенов и для обнаружения КУБ.

Определение наличия разных форм и локализации КУБ в срезах ткани выполнялось по препаратам с окраской по Цилю–Нильсену. Для этого была использована следующая рабочая количественная градация обнаруженных КУБ – внеклеточно или же внутри макрофагов в одном поле зрения микроскопа (x1000): мало – 1–5 единиц; умеренное количество – 6–15 единиц и много – более 15 единиц. В гистопрепаратах с ИГХ обработкой определяли типы и относительное количество клеток с положительной реакцией (то есть с наличием антигенов микобактерии), внеклеточные скопления антигенного вещества. Оценивали уровень интенсивности положительной реакции (экспрессии) по условно принятой рабочей шкале: + – фоновая окраска, бледно-желтая, диффузного характера; ++ – гранулярная, преимущественно – мелкогранулярная (светло-коричневого цвета); +++ – выраженная грубогранулярная (интенсивно-коричневого цвета).

Микрофотографии тканевых срезов получали, используя фотокамеру-приставку к микроскопу OLYMPUS DP73 (Япония) с выведением изображения на компьютер с помощью программы cellSenc Standart.

Полученные данные статистически обработаны методом вариационной статистики с использованием математических и статистических функций программы Microsoft Excel 2007. Статистическую значимость различий частоты встречаемости признаков оценивали с помощью точного углового преобразования Фишера.

## Результаты и их обсуждение

Изначально при рутинном гистологическом исследовании уточнено, что во всех отобранных случаях туберкулем легких представлены морфологические признаки прогрессирования специфического воспалительного процесса.

Исследование срезов легочной ткани, окрашенных по Цилю–Нильсену, показало, что наиболее часто свободно расположенные КУБ выявлялись в некротическом ядре туберкулем (16 случаев, 84,2 %) и грануляционном слое капсулы туберкулем (13 случаев, 68,4 %). В 9 наблюдениях (47,4 %) возбудитель обнаруживался внутри альвеол вне самой туберкулемы и в 5 случаях (26,3 %) – в очагах специфической пневмонии вне туберкулемы. Чаще всего во всех наблюдениях отмечены единичные КУБ, только в пяти (26,3 %) изо

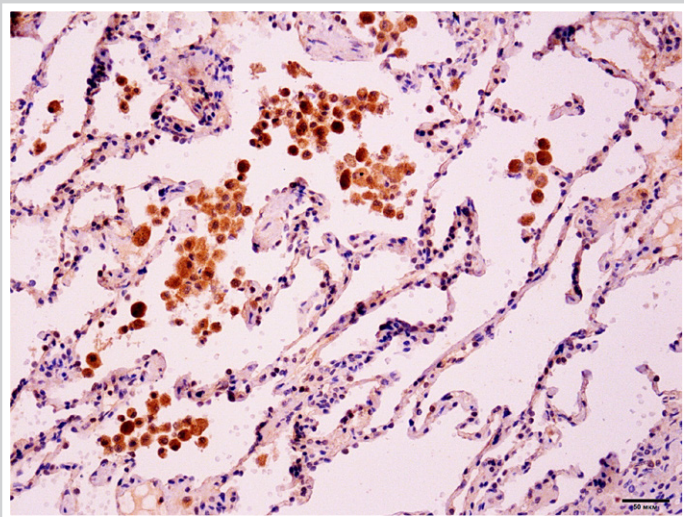


Рис. 1. В альвеолярных пространствах легкого определяются скопления макрофагов с грубо гранулярной и мелкогранулярной коричневой окраской цитоплазмы. ИГХ обработка с *Mycobacterium tuberculosis* Antibody. Ув.:  $\times 100$ .

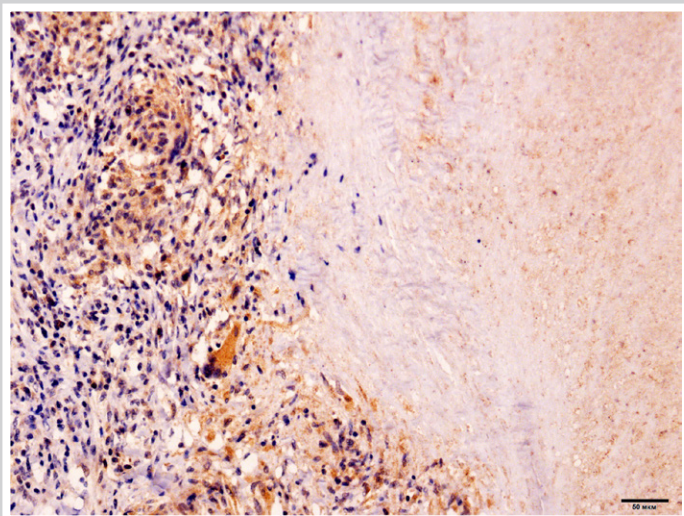


Рис. 2. Экспрессия антигенов МБТ в некротическом содержимом туберкулемы (справа) и в грануляционном слое капсулы (желто-коричневая окраска). ИГХ обработка с *Mycobacterium tuberculosis* Antibody. Ув.:  $\times 100$ .

всех 19 случаев были участки ткани, содержащие умеренное количество КУБ.

Гораздо больше и чаще выявляли палочки, которые локализовались внутри клеток, а именно – в цитоплазме макрофагов. Наиболее часто внутриклеточные КУБ были выявлены в макрофагах, расположенных в альвеолярных пространствах, – 16 (84,2 %) наблюдений. Несколько реже, в 11 случаях (57,9 %), подобные наблюдения были в макрофагах капсулы туберкулемы. В других гистологических структурах – очагах специфической (туберкулезной) пневмонии, туберкулезных очагах типа гранулемы с некрозом в центре и истинных гранулемах количество наблюдений составляло от 2 до 7 (10,5–36,8 %) в группе исследования. Существенным отличием от случаев

выявления внеклеточных бацилл было то, что более чем в половине всех таких наблюдений отмечено умеренное количество инфицированных клеток (6–15 в одном поле зрения (п/зр)), в 9 случаях были участки с большим скоплением инфицированных макрофагов (более 15 в п/зр), причем в 2 случаях значительные скопления макрофагов отмечены более чем в одной гистологической структуре в одном гистопреparate.

Суммируя результаты этого этапа исследования, можно утверждать, что в фазу прогрессирования туберкулезного воспаления большинство единиц возбудителя локализуется внутриклеточно, что можно рассматривать как один из видов биологической защиты микобактерий от противотуберкулезных химиопрепаратов.

Результаты ИГХ исследования показали, что практически во всех случаях определялись клетки с выраженной грубо гранулярной позитивной реакцией (+++) на антигены МБТ. Наибольшее число наблюдений макрофагов с грубо гранулярной реакцией выявлено внутри альвеол вне туберкулемы – всего 18 случаев (94,7 %) (рис. 1); несколько меньше наблюдений – макрофагов и эпителиоидных клеток с грубо гранулярной реакцией, было в грануляционном слое капсулы туберкулемы: всего 16 (84,2 %) (рис. 2). При этом удельный вес наблюдений большого количества клеток с экспрессией (+++) в альвеолах достигал 77,8 %, а в грануляционном слое капсулы туберкулемы – от 30 до 50 % в зависимости от типа клеток макрофагального ряда.

Реже встречались наблюдения умеренного количества клеток с выраженной экспрессией: в альвеолах – в 16,7 % случаев, в грануляционном слое – в 25 %. Реже всего наблюдали единичные клетки с грубо гранулярной окраской, причем во всех исследуемых гистологических структурах легкого.

Интересно, что мелкогранулярная окраска цитоплазмы клеток (уровень экспрессии ++) в этих же участках легочной ткани отмечалась наиболее часто, преобладали случаи наблюдений большого и/или умеренного количества клеток с такой интенсивностью окраски в поле зрения. В целом такие клеточные скопления отмечены практически во всех исследуемых гистологических структурах, в том числе внеклеточные скопления антигенных компонентов МБТ обнаружены в некротических массах туберкулемы (5 случаев, 26,3 %).

В полном соответствии со случаями клеток с экспрессией уровня (+++), наибольшее число наблюдений макрофагов с экспрессией (++) обнаружено в альвеолах вне туберкулемы – 14 (73,7 %), а также в клетках грануляционного слоя капсулы, в 10 (52,6 %) случаях это были типичные макрофаги и в 13 (68,4 %) случаях – эпителиоидные клетки. В 11 (57,9 %) наблюдениях выявлены макрофаги в очагах специфической пневмонии, и по 6 (31,6 %) случаев – макрофаги и эпителиоидные клетки гранулем.

С другой стороны, в отличие от случаев клеток с максимальным уровнем антигенной экспрессии, гораздо чаще обнаруживали эпителиоидные клетки с мелкогранулярной окраской цитоплазмы. Много таких наблюдений в грануляционном слое капсулы

туберкулемы – 13 (68,4 %) случаев, несколько меньше в гранулемах и очагах специфической пневмонии – 6 (31,6 %) и 5 (26,3 %) случаев соответственно.

Гигантские многоядерные клетки с грубо гранулярным окрашенным содержимым цитоплазмы наблюдали наиболее редко. Чаще эти клетки характеризовались мелкогранулярным светло-коричневым содержимым (экспрессия ++), с их размещением в грануляционном слое капсулы – 9 (47,4 %) случаев, и в гранулемах вне туберкулемы – 4 (21,1 %) случая.

В целом можно отметить, что наибольшую антигенную нагрузку демонстрируют типичные макрофаги – как в структурах туберкулемы, так и в окружающей ее легочной паренхиме. Эпителиоидные клетки, которые, как ранее установлено, являются одним из видов специализированных макрофагов [8], в меньшей степени накапливают антигены МБТ. Что касается специализированных гигантских многоядерных макрофагов, то, согласно результатам нашего исследования, грубо гранулярные скопления в них обнаружены в единичных случаях, независимо от локализации этих клеток.

Слабая позитивная реакция, а именно: экспрессия антигенов уровня (+) в различных участках легочной ткани (как внутри клеток, так и во внеклеточных пространствах) – нами не учитывалась, так как она соответствует фоновой окраске при использовании поликлональных антител, что имело место и в нашем исследовании.

Основные полученные нами данные представлены в виде диаграммы на рисунке 3.

Диаграмма демонстрирует, что высокий уровень совпадений (75–89 %) частоты определения экспрессии антигенов МБТ уровня ++ – +++ , а также КУБ при методе Циля–Нильсена выявился именно в макрофагах, расположенных в альвеолах вне туберкулемы, кроме того, практически совпадает частота обнаружения палочек при окраске по Цилю–Нильсену и целостных структур бактерий при ИГХ исследовании в некротическом содержимом туберкулемы. Достаточно близкие показатели частоты выявления получены при традиционном обнаружении КУБ, целостных структур бактерий при ИГХ исследовании и клеток с грубо гранулярным накоплением антигенов в цитоплазме макрофагов гранулем. Кроме того, и частота обнаружения клеток с мелкогранулярной окраской также незначительно отличалась в этих структурах.

Наибольший разброс показателей частоты обнаружения клеток с разной интенсивностью экспрессии антигенов МБТ, а также целостных структур и палочек при методе Циля–Нильсена отмечался в некротических массах ядра туберкулем и во внеклеточных пространствах. Эти факты можно объяснить следующим образом. Давно установлено [1, 13], что в некрозе накапливается весьма значительное количество целых МБТ, особенно в случаях прогрессирования туберкулезного воспаления. И понятно, что если это – массы детрита, то, как правило, в них отсутствуют сохраненные клеточные структуры, поэтому и наблюдения в них целых клеток с антигенами МБТ имели единичный характер. Что касается внеклеточных пространств, то, безусловно, в них проще обнаруживать целые МБТ, а скопление антигенов, скорее всего, происходит в

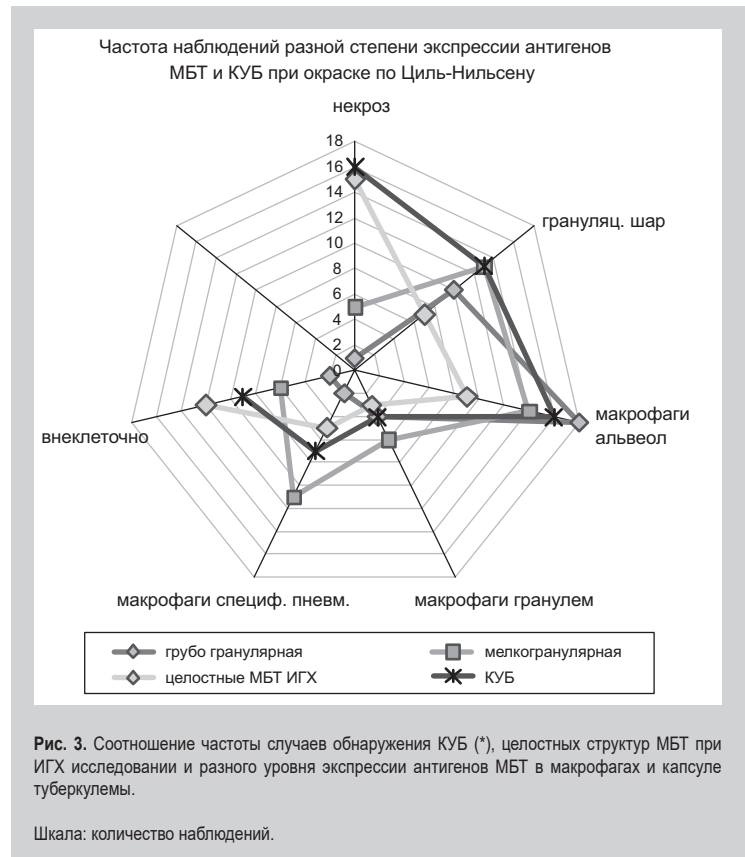


Рис. 3. Соотношение частоты случаев обнаружения КУБ (\*), целостных структур МБТ при ИГХ исследовании и разного уровня экспрессии антигенов МБТ в макрофагах и капсуле туберкулемы.

жидкой среде (экссудате). Последний имеет очаговый характер при туберкулемах, что может в определенной степени объяснить малое число наблюдений внеклеточных скоплений антигенов микобактерий.

Дополнительно выполнена статистическая обработка полученных количественных показателей при обоих методах выявления МБТ и/или их антигенов. В частности, установлено, что частота выявления макрофагов с грубо и мелкогранулярной окраской цитоплазмы при ИГХ исследовании (100 % случаев) достоверно выше частоты обнаружения целостных структур бактерий этим же способом в этих клетках (26,3 %), ( $\varphi_{\text{расчет}} = 6,362$ ,  $p < 0,01$ ). То есть можно предположить, что при хроническом течении туберкулеза даже в фазу обострения процесса количественно преобладает накопление антигенов МБТ в клетках макрофагального ряда по сравнению с количеством сохраненных «целостных» бактерий в них. Вероятно, прежде всего, это связано с результатом медикаментозного противотуберкулезного лечения таких пациентов.

## Выводы

1. В фазу прогрессирования туберкулеза при туберкулемах легких традиционный гистохимический метод Циля–Нильсена позволил выявить кислотоустойчивые бактерии в 18 (94,7 %) случаях. При иммуногистохимическом исследовании достоверная позитивная реакция (уровень экспрессии ++ – +++ ) на присутствие микобактериальных антигенов в клетках макрофагального ряда и/или целостные структуры возбудителя обнаружены во всех случаях (100 %).



2. Установлено, що традиційний метод Циля–Нильсена дозволило виявити КУБ чаще всего в некротическом ядре (16 случаев) и грануляционном слое (13 случаев) капсулы туберкулемы. По результатам ИГХ исследования максимальная антигенная нагрузка определялась в макрофагах внутри альвеол вне туберкулемы (18 случаев) и несколько меньше – в клетках макрофагального ряда грануляционного слоя капсулы туберкулемы (16 случаев). Результаты обоих методов выявления микобактерий и/или их фрагментов продемонстрировали совпадение максимальной локализации структур возбудителя – грануляционный слой капсулы туберкулемы и макрофаги сохранных альвеолярных пространств вне туберкулемы.

3. Гистологическое исследование серийных срезов легочной ткани с туберкулемой в фазу прогрессирования специфического воспалительного процесса, обработанных двумя методами, показало, что именно комплексное исследование обеспечивает наиболее полные данные о наличии, локализации и распределении в пораженной ткани как типичных КУБ, так и антигенов МБТ.

3. ИГХ исследование дополнительно проясняет вопрос о характере и различной антигенной нагрузке разных типов клеток макрофагального ряда, вовлеченных в развитие туберкулезного процесса. Эти данные полезны для более глубокого понимания патогенетических особенностей хронического течения туберкулеза легких и, в частности, объяснения способов и путей его прогрессирования.

#### Перспективы дальнейших исследований.

Продолжением такого рода исследований, вероятно, можно считать изучение наличия, локализации и распределения в пораженной ткани как типичных КУБ, так и антигенов МБТ при разной активности хронического течения туберкулеза, а также в случаях разных форм–фаз легочного туберкулеза. Эти данные послужат объективной основой для уточнения разных этапов патогенеза легочного туберкулеза.

#### Список литературы

- [1] Авербах М.М. Туберкулемы легкого / М.М. Авербах. – М.: Гос. изд-во мед. литературы, 1962. – 343 с.
- [2] ВІЛ-інфекція в Україні: інформаційний бюлетень. – 2016. – №46 / ДУ «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України».
- [3] Гістологічна діагностика ступеня активності туберкульозного запального процесу при туберкульозах легень: інформаційний лист / І.В. Ліскіна, С.Д. Кузовкова, С.О. Кравченко та ін. – К.: ДУ НІФП НАМН, 2010. – 4 с.
- [4] Рекалова О.М. Імунологічні методи діагностики туберкульозу / О.М. Рекалова, О.І. Білогорцева, Н.Г. Коваль // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2017. – №1. – С. 75–81.
- [5] Antibodies against mycobacterial proteins as biomarkers for HIV-associated smear-negative tuberculosis / M. Siev, D. Wilson, S. Kainth, et al. // Clin. Vaccine Immunol. – 2014. – Vol. 21. – №6. – P. 791–798.
- [6] Comparison of LuminU LED fluorescent attachment, fluorescent microscopy and Ziehl-Neelsen for AFB diagnosis / A. Trusov, R. Bumgarner, R. Valijev, et al. // International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. – 2009. – Vol. 13. – №7. – P. 836–841.
- [7] D'Avila H. Lipid bodies in innate immune response to bacterial and parasite infections / H. D'Avila, C.M. Maya-Monteiro, P.T. Bozza // International Immunopharmacology. – 2008. – Vol. 8. – №10. – P. 1308–1315.
- [8] Immunohistochemistry using a Mycobacterium tuberculosis complex specific antibody for improved diagnosis of tuberculous lymphadenitis / T. Mustafa, H.G. Wiker, S.G. Mfinanga, et al. // Modern Pathology. – 2006. – Vol. 19. – №12. – P. 1606–1614.

- [9] Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting Mycobacterium tuberculosis complex specific antigen MPT64 / M.R. Purohit, T. Mustafa, H.G. Wiker, et al. // Diagnostic Pathology. – 2007. – Vol. 2. – P. 36.
- [10] Global Tuberculosis Control: WHO Report [Електронний ресурс]: Global Tuberculosis Programme / World Health Organization, 2010. – Режим доступу: [http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/F530290AD0279399C12577D8003E9D65-Full\\_Report.pdf](http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/F530290AD0279399C12577D8003E9D65-Full_Report.pdf).
- [11] Guirado E. Macrophages in tuberculosis: friend or foe / E. Guirado, L.S. Schlesinger, G. Kaplan // Semin. Immunopathol. – 2013. – Vol. 35. – №5. – P. 563–583.
- [12] Histopathological findings in immunohistological staining of the granulomatous tissue reaction associated with tuberculosis [Електронний ресурс] / S. Karimi, M. Shamaei, M. Pourabdollah, et al. // Tuberculosis Research and Treatment. – 2014. – Vol. 2014. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/858396>.
- [13] Lawn S.D. Tuberculosis / S.D. Lawn, A.I. Zumla // Lancet. – 2011. – Vol. 378. – P. 57–72.
- [14] Lessons from a proficiency testing event for acid-fast microscopy / A. Somoskövi, J.E. Hotaling, M. Fitzgerald, et al. // Chest. – 2001. – Vol. 120. – №1. – P. 250–257.
- [15] Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen-negative Mycobacterium tuberculosis organisms and their precise localization in human tissue / T. Ulrichs, M. Lefmann, M. Reich, et al. // J. Pathol. – 2005. – Vol. 205. – P. 633–640.
- [16] Pedersen J.S. Improved detection of mycobacteria species in formalin-fixed tissue sections / J.S. Pedersen, I. Clarke, J. Mills // Histopathology. – 2011. – Vol. 59. – №5. – P. 993–1005.
- [17] Ryu Y.J. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms / Y.J. Ryu // Tuberc. Respir. Dis. – 2015. – Vol. 78. – P. 64–71.
- [18] Spindle cell tumors associated with mycobacteria in lymph nodes of HIV-positive patients: 'Kaposi sarcoma with mycobacteria' and 'mycobacterial pseudotumor' / S. Logani, D.R. Lucas, J.D. Cheng, et al. // American Journal of Surgical Pathology. – 1999. – Vol. 23. – №6. – P. 656–661.
- [19] The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic / E.L. Corbett, C.J. Watt, N. Walker et al. // Archives of Internal Medicine. – 2003. – Vol. 163. – №9. – P. 1009–1021.

#### References

- [1] Averbakh, M. M. (1962). *Tuberkulomy legkogo*. [Pulmonary tuberculosis]. Moscow: Gos. izd-vo med. literature [in Russian].
- [2] ДУ «Український центр контролю за соціально небезпечними хворобами Міністерства охорони здоров'я України» (2016) ВІЛ-інфекція в Україні. [HIV-infection in Ukraine]. *Informatsiyni biuleten*, 46. [in Ukrainian].
- [3] Liskina, I. V., Kuzovkova, S. D., Kravchenko, S. O., Zahaba, L. M., & Lukianchuk, V. H. (2010). *Histolohichna diahnozyka stupenia aktyvnosti tiberkuloznoho zapalnoho protsesu pry tiberkulomakh lehen* [Histological diagnostics of the activity degree of tuberculosis inflammatory process in pulmonary tuberculosis]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [4] Rekalova, O. M., Belohortseva, O. I., & Koval, N. G. (2017). Immunohichni metody diahnozyky tiberkulozu [Immunological methods of diagnosis of tuberculosis]. *Tuberkuloz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiia*, 1, 75–81. [in Ukrainian].
- [5] Siev, M., Wilson, D., Kainth, S., Kasprovicz, V. O., Feintuch, C. M., Jenny-Avital, E. R., & Achkar, J. M. (2014) Antibodies against mycobacterial proteins as biomarkers for HIV-associated smear-negative tuberculosis. *Clin. Vaccine Immunol*, 21(6):791-8. doi: 10.1128/CVI.00805-13.
- [6] Trusov, A., Bumgarner, R., Valijev, R., Chestnova, R., Talevski, S., Vragoterova, C., & Neeley, E. S. (2009) Comparison of LuminU LED fluorescent attachment, fluorescent microscopy and Ziehl-Neelsen for AFB diagnosis. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 13(7), 836–41.
- [7] D'Avila, H., Maya-Monteiro, C. M., & Bozza, P. T. (2008) Lipid bodies in innate immune response to bacterial and parasite infections. *International Immunopharmacology*, 8(10):1308-15. doi: 10.1016/j.intimp.2008.01.035.
- [8] Mustafa, T., Wiker, H. G., Mfinanga, S. G., Mørkve, O., & Sviland, L. (2006). Immunohistochemistry using a Mycobacterium tuberculosis complex specific antibody for improved diagnosis of tuberculous lymphadenitis. *Modern Pathology*, 9(12), 1606–14. doi: 10.1038/modpathol.3800697.
- [9] Purohit, M. R., Mustafa, T., Wiker, H. G., Mørkve, O., & Sviland, L. (2007). Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting Mycobacterium tuberculosis complex specific antigen MPT64. *Diagnostic Pathology*, 2, 36. doi: 10.1186/1746-1596-2-36.
- [10] World Health Organization (2010) Global Tuberculosis Control: WHO Report. Geneva. Retrieved from [http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/F530290AD0279399C12577D8003E9D65-Full\\_Report.pdf](http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/F530290AD0279399C12577D8003E9D65-Full_Report.pdf).
- [11] Guirado, E., Schlesinger, L. S., & Kaplan, G. (2013). Macrophages in tuberculosis: friend or foe. *Semin. Immunopathol*, 35(5), 563–83. doi: 10.1007/s00281-013-0388-2.

- [12] Karimi, S., Shamaei, M., Pourabdollah, M., Sadr, M., Karbasi, M., Kiani, A., & Bahadori, M. (2014). Histopathological findings in immunohistological staining of the granulomatous tissue reaction associated with tuberculosis. *Tuberculosis Research and Treatment*, 2014. doi: 10.1155/2014/858396.
- [13] Lawn, S. D., & Zumla, A. I. (2011). Tuberculosis. *Lancet*, 378, 57–72.
- [14] Somoskövi, A., Hotaling, J. E., Fitzgerald, M., O'Donnell, D., Parsons, L. M., & Salfinger, M. (2001). Lessons from a proficiency testing event for acid-fast microscopy. *Chest*, 120(1), 250–257. doi: 10.1378/chest.120.1.250.
- [15] Ulrichs, T., Lefmann, M., Reich, M., Morawietz, L., Roth, A., Brinkmann, V., et al. (2005). Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl–Neelsen-negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue. *Journal Pathology*, 205, 633–640. doi: 10.1002/path.1728.
- [16] Pedersen, J. S., Clarke, I., & Mills, J. (2011). Improved detection of mycobacteria species in formalin-fixed tissue sections. *Histopathology*, 59(5), 993–1005. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04015.x.
- [17] Ryu, Y. J. (2015). Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. *Tuberculosis Respiratory Disease*, 78, 64–71. doi: 10.4046/trd.2015.78.2.64.
- [18] Logani, S., Lucas, D. R., Cheng, J. D., Ioachim, H. L., & Adsay, N. V. (1999). Spindle cell tumors associated with mycobacteria in lymph nodes of HIV-positive patients: 'Kaposi sarcoma with mycobacteria' and 'mycobacterial pseudotumor'. *American Journal of Surgical Pathology*, 23(6), 656–661.
- [19] Corbett, E. L., Watt, C. J., Walker, N., Maher, D., Williams, B. G., Ravigione, M. C., & Dye, C. (2003). The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. *Archives of Internal Medicine*, 163(9), 1009–1021. doi: 10.1001/archinte.163.9.1009.

Zahaba L. M., MD, PhD, Researcher of the Laboratory of Pathomorphology, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kuzovkova S. D., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Pathomorphology, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kuts V. V., Senior Researcher of the Department of Information and Computer Technologies, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine", Kyiv.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 07.07.2017

Після доопрацювання / Revised: 18.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 29.09.2017

#### Сведения об авторах:

Лискина И. В., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, зав. лабораторией патоморфологии, ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Мельник О. А., младший научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Загаба Л. М., канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Кузовкова С. Д., канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Куц В. В., старший научный сотрудник отдела информационно-компьютерных технологий, ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

#### Відомості про авторів:

Ліскіна І. В., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. лабораторії патоморфології, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Мельник О. О., молодший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Загаба Л. М., канд. мед. наук, науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Кузовкова С. Д., канд. мед. наук, старший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Куц В. В., старший науковий співробітник відділу інформаційно-комп'ютерних технологій, ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

#### Information about authors:

Liskina I. V., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Pathomorphology, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Melnik O. A., Junior Researcher of the Laboratory of Pathomorphology, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine", Kyiv.

## Рівень біогенних амінів у вагітних із психоемоційними порушеннями, що зумовлені тривожністю

В. Г. Сюсюка

Запорізький державний медичний університет, Україна

**Ключові слова:**  
вагітність,  
психоемоційний  
стан, тривожність,  
біогенні аміни.

**Патологія.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 344–347

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2017.3.118755

**E-mail:**  
svg.zp@i.ua

**Мета роботи** – визначити рівень біогенних амінів у вагітних жінок із психоемоційними порушеннями, що зумовлені тривожністю.

**Матеріали та методи.** Обстежили 90 жінок у II та III триместрах вагітності. До основної групи включені 58 вагітних із середнім і високим рівнем ситуативної тривожності, а також 32 вагітні з рівнем тривоги 30 балів і нижчим, що свідчить про низький рівень СТ (група порівняння). Для оцінювання ситуативної та особистісної тривожності використовували шкалу Ч. Д. Спілбергера, котра адаптована Ю. Л. Ханінім. Рівень серотоніну, мелатоніну вимірювали флуорометричним методом у гемолізаті крові вагітних.

**Результати.** Згідно з результатами біохімічного дослідження гемолізату еритроцитарної маси крові вагітних, яких обстежили, визначено, що зростання ситуативної тривожності супроводжувалось статистично вірогідним ( $p < 0,05$ ) підвищенням рівня серотоніну та зниженням рівня мелатоніну. Такі особливості мали безпосередній вплив на зростання ( $p < 0,05$ ) серотонін/мелатонін індексу, котрий у вагітних основної групи у 2,5 раза перевищував відповідний показник жінок групи порівняння.

**Висновки.** Результати дослідження у вагітних свідчать, що зростання рівня ситуативної тривожності супроводжується статистично вірогідним ( $p < 0,05$ ) підвищенням вмісту у крові серотоніну та статистично вірогідним ( $p < 0,05$ ) зниженням мелатоніну. Такі результати мають безпосередній вплив на зростання ( $p < 0,05$ ) серотонін/мелатонін індексу у вагітних із середнім і високим рівнями ситуативної тривожності, порівнюючи з відповідним показником у жінок із низьким її рівнем.

**Ключевые слова:**  
беременность,  
психоэмоцио-  
нальное состояние,  
тревожность,  
биогенные амины.

**Патология.** – 2017. –  
Т. 14, № 3(41). –  
С. 344–347

## Уровень биогенных аминов у беременных с психоэмоциональными нарушениями, обусловленными тревожностью

В. Г. Сюсюка

**Цель работы** – определить уровень биогенных аминов у беременных с психоэмоциональными нарушениями, обусловленными тревожностью.

**Материалы и методы.** Обследовано 90 женщин во II и III триместрах беременности. В основную группу включены 58 беременных со средним и высоким уровнем ситуативной тревожности, а также 32 беременные с уровнем тревожности 30 баллов и ниже, что свидетельствует о низком уровне СТ (группа сравнения). Для оценки ситуативной и личностной тревожности использовалась шкала Ч. Д. Спилбергера, которая адаптирована Ю. Л. Ханиным. Уровень серотонина и мелатонина измеряли флуорометрическим методом в гемолизате крови беременных.

**Результаты.** Согласно полученным результатам биохимического исследования гемолизата эритроцитарной массы крови обследованных беременных определили, что рост ситуативной тревожности сопровождается статистически достоверным ( $p < 0,05$ ) повышением уровня серотонина и снижением уровня мелатонина. Такие особенности имели непосредственное влияние на рост ( $p < 0,05$ ) серотонин/мелатонин индекса, который у беременных основной группы в 2,5 раза превышал соответствующий показатель у женщин группы сравнения.

**Выводы.** Результаты исследования у беременных свидетельствуют о том, что рост уровня ситуативной тревожности сопровождается статистически достоверным ( $p < 0,05$ ) повышением содержания в крови серотонина и статистически достоверным ( $p < 0,05$ ) снижением мелатонина. Такие результаты имеют непосредственное влияние на рост ( $p < 0,05$ ) серотонин/мелатонин индекса у беременных со средним и высоким уровнями ситуативной тревожности при сравнении с соответствующим показателем у женщин с низким ее уровнем.

**Key words:**  
pregnancy,  
psychoemotional  
state, anxiety,  
biogenic amines.

**Pathologia**  
2017; 14 (3), 344–347

## Level of biogenic amines in pregnant women with psycho-emotional disorders stipulated by anxiety

V. G. Syusyuka

**Object of research** – to determine level of biogenic amines in pregnant women with psycho-emotional disorders stipulated by anxiety.

**Group of examined women and methods of research.** 90 pregnant women were examined in II and III trimester of pregnancy. The main group includes 58 pregnant women with the medium and high level of state anxiety and 32 pregnant women with anxiety level of 30 points and less that indicates the low level of SA (control group). For estimation of the state anxiety and trait anxiety the scale of Spielberger-Hanin was used. Level of serotonin and melatonin was measured with fluorometric method in blood hemolysate of pregnant women.



**Results.** According to the obtained results of biochemical research of hemolysate of packed red cells of blood of examined women it was stated that increase of state anxiety was accompanied by statistically reliable ( $P < 0.05$ ) rise of serotonin level and decrease of melatonin level. Thus, special features have direct influence on increase ( $P < 0.05$ ) of serotonin/melatonin index. Pregnant women of the main group have the index which was 2.5 times higher than the same index in women of the control group.

**Conclusions.** Results of performed research among pregnant women have indicated that increase of state anxiety is accompanied by statistically reliable ( $P < 0.05$ ) rise of serotonin content in blood and statistically reliable ( $P < 0.05$ ) decrease of melatonin. Such results have direct influence on increase ( $P < 0.05$ ) of serotonin/melatonin index in pregnant women with medium and high levels of state anxiety comparing to the certain index in women with the low level of anxiety.

Висока тривожність у прегравідарний період і під час вагітності, очевидно, може бути індикатором ризику несприятливих репродуктивних результатів [12]. Жінки є чутливішими та емоційнішими, у них виразніше гальмується парасимпатичний відділ вегетативної нервової системи, тому частіше порушується робота системи травлення, є схильність до страху та депресії, з'являються дисфункції репродуктивної сфери [6]. Сьогодні відомо, що активація процесів пероксидації та виразність невротичної тривоги (оцінена за шкалою Спілбергера – Ханіна) мають високу кореляцію [1,5]. Наявність надлишкових реакційно спроможних видів кисню може призвести до клітинного пошкодження нуклеїнових кислот, ліпідів і білків [17]. Ендогенними модуляторами клітинної генерації активних форм кисню розглядають біогенні аміни, зокрема мелатонін (М), який є прямим акцептором вільних радикалів і непрямим антиоксидантом. М та його метаболічні похідні здатні знижувати окислювальний стрес [16,18–20]. М виявляє унікальні нейроантиоксидантні властивості, що дає змогу назвати його ідеальним інгібітором вільних радикалів [3]. Як М, так і серотонін (С) відіграють важливу роль у підтримці матково-плацентарного кровообігу на адекватному рівні [16,17]. Зокрема, С регулює великий діапазон психічних і фізіологічних реакцій організму [13]. Саме тому адаптаційні механізми, котрі спрямовані на збереження вагітності, являють собою складний нейрогуморальний процес, що реалізується за допомогою біогенних амінів як на клітинному, органному, так і на організменному рівнях [7]. Незважаючи на велику кількість досліджень, котрі присвячені фізіологічним змінам в організмі жінки при вагітності, дотепер відсутня загальновізнана теорія, що пояснює різноманіття адаптаційних змін.

## Мета роботи

Визначити рівень біогенних амінів у вагітних із психо-емоційними порушеннями, що зумовлені тривожністю.

## Матеріали і методи дослідження

Обстежили 90 жінок у II та III триместрах вагітності. Групи дослідження поділили залежно від рівня ситуативної тривожності (СТ). Сама СТ є проявом так званої емоційної реакції на стресову ситуацію та характеризується суб'єктивно пережитими емоціями на відміну від особистісної тривожності (ОТ), що є стійкою індивідуальною рисою та показує схильність суб'єкта до тривоги [12]. До основної групи включені 58 вагітних із середнім і високим рівнем СТ, а також 32 вагітні з рівнем тривоги 30 балів і нижчим, що свідчить про низький рівень СТ (група порівняння). Критерієм виклю-

чення були захворювання серцево-судинної, сечової систем та ендокринна патологія. Середній вік вагітних в основній групі –  $27,40 \pm 0,84$  року та  $27,78 \pm 1,54$  року у групі контролю.

Психоемоційний стан вагітних досліджували з використанням комплексу психодіагностичних методів: напівструктуроване інтерв'ю, шкала ситуативної (СТ) й особистісної тривожності (ОТ) Ч. Д. Спілбергера, що адаптована Ю. Л. Ханіним [4].

Метод визначення рівня С у крові базується на вимірюванні флюоресценції С, який виділений із гемолізату, у кислому середовищі [11]. Визначення М у крові базується на екстракції М із гемолізату, очищенням екстракту з наступним формуванням флюоресцентного конденсату з орто-фталевим альдегідом [8]. Результат вимірювання С і М показували у мкмоль/л.

Вивчення показників біохімічного гомеостазу здійснювали у відділі молекулярної фармакології та функціональної біохімії (начальник відділу – д-р біол. наук, професор І. Ф. Беленічев) навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (начальник – д-р мед. наук, професор А. В. Абрамов).

З кожною вагітною обговорили доцільність додаткових методів дослідження та отримали згоду на їхнє проведення. Дослідження відповідає сучасним вимогам морально-етичних норм щодо правил ICH/GCP, Гельсінкської декларації (1964), Конференції Ради Європи про права людини та біомедицини, а також положенням законодавчих актів України.

Обраний напрям дослідження тісно пов'язаний із планом науково-дослідної роботи кафедри акушерства і гінекології Запорізького державного медичного університету та є фрагментом докторської дисертації.

Варіаційно-статистичне опрацювання результатів здійснювали з використанням ліцензованого стандартного пакета прикладних програм багатовимірної статистичного аналізу «Statistica 6.0» (ліцензійний номер AXXR712D833214FAN5). Порівняння кількісних даних двох незалежних груп здійснювали за допомогою непараметричного критерію U Манна–Уїтні (U test Mann–Whitney). До частоти визначали 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ). Щодо визначення сили та напрямку взаємозв'язку між змінними, розраховували ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена (Spearman) (r).

## Результати та їх обговорення

Групи дослідження поділені залежно від рівня СТ. Встановлено, що середній показник СТ у групі порівняння статистично вірогідно нижчий ( $p < 0,05$ ) за середній показник в основній групі (рис. 1). Відзначимо, що рівень ОТ, який є стійкою індивідуальною рисою та показує

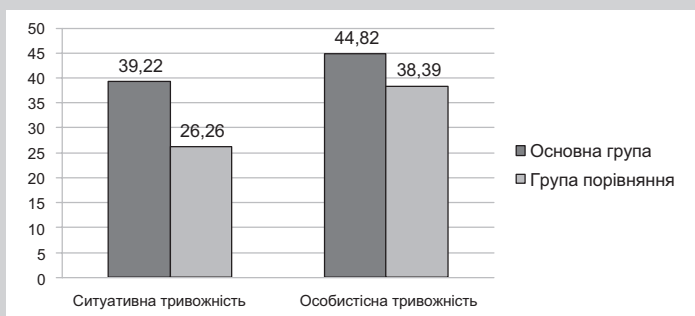


Рис. 1. Рівень тривожності у вагітних груп дослідження, бали.

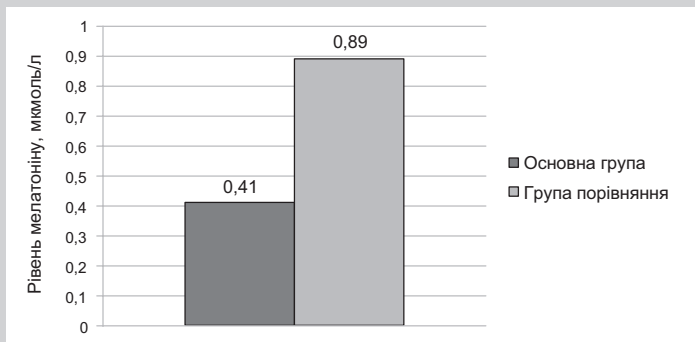


Рис. 2. Рівень мелатоніну у вагітних з урахуванням рівня СТ.

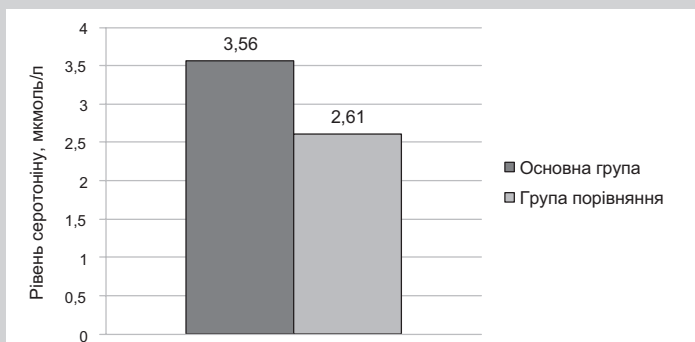


Рис. 3. Рівень серотоніну у вагітних з урахуванням рівня СТ.

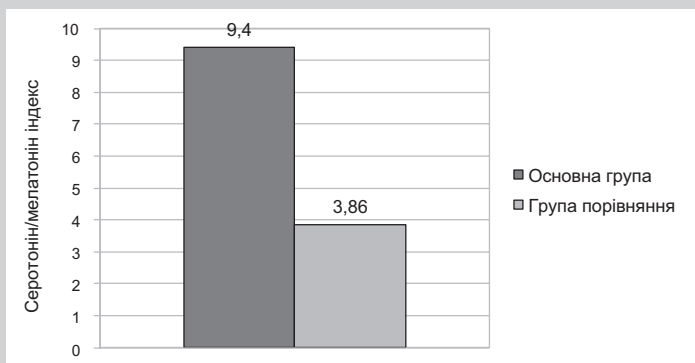


Рис. 4. Серотонін/мелатонін індекс у вагітних з урахуванням рівня СТ.

схильність суб'єкта до тривоги, теж був статистично вірогідно нижчим ( $p < 0,05$ ) у групі порівняння.

Аналізуючи взаємозв'язок показників ОТ і СТ, встановлено деяку ( $r = +0,306$ ,  $p < 0,05$ ) кореляційну залежність у групі вагітних із середнім і високим рівнем СТ. Серед жінок із низьким СТ такий зв'язок не встановлений.

Згідно з результатами біохімічного дослідження гемолізату еритроцитарної маси крові вагітних, яких обстежували, визначено, що зростання СТ супроводжувалось підвищенням рівня С і зниженням М. Так, уміст М у крові жінок із низьким рівнем СТ статистично вірогідно переважав ( $p < 0,05$ ) аналогічний показник тривожних жінок удвічі (рис. 2).

Взаємозв'язок зниження М зі зростанням рівня СТ у вагітних основної групи підтверджується також наявністю негативного кореляційного зв'язку ( $r = -0,330$ ,  $p < 0,05$ ). Шишкоподібна залоза діє на систему гіпоталамус – гіпофіз – статеві залози виключно як інгібітор [2,10]. М розглядають як один із головних медіаторів між нервовою, ендокринною та імунною системами, а також він є паракринним регулятором та ендогенним адаптогеном [9]. Саме тому зниження рівня М зі зростанням тривожності у вагітних може сприяти порушенню зазначених вище механізмів, а це має безпосередній вплив на перебіг вагітності.

Під час оцінювання С встановлена протилежна картина. У вагітних основної групи його рівень статистично вірогідно переважав ( $p < 0,05$ ) відповідний показник вагітних групи порівняння (рис. 3).

Відомо, що гіперсеротоніемія спостерігається при різних ускладненнях вагітності. Доведений зв'язок підвищеного рівня С із такими станами, як-от: загрозові передчасні пологи, важкі форми гестозу [14]. С стимулює гістамінові, серотонінові рецептори та призводить до розвитку генералізованого спазму судин із наступним пошкодженням ендотелію, що є одним з основних етіологічних факторів плацентарної недостатності та гестозу [14,15].

Порівнюючи серотонін/мелатонін індекс, встановлено: у вагітних основної групи він у 2,5 рази перевищував відповідний показник у жінок групи порівняння (рис. 4).

Взаємозв'язок серотонін/мелатонін індексу зі зростанням рівня СТ у вагітних основної групи деякою мірою підтверджується також наявністю позитивного кореляційного зв'язку ( $r = -0,290$ ,  $p < 0,05$ ). У вагітних із низьким рівнем СТ такі зв'язки не встановлені. Відзначимо, що наявного зв'язку тривожності з рівнем С у вагітних досліджуваних груп не виявлено.

## Висновки

1. Результати дослідження у вагітних свідчать, що зростання рівня ситуативної тривожності супроводжується статистично вірогідним ( $p < 0,05$ ) підвищенням вмісту у крові серотоніну та зниженням мелатоніну.

2. Такі результати мають безпосередній вплив на зростання ( $p < 0,05$ ) серотонін/мелатонін індексу у вагітних із середнім і високим рівнями ситуативної тривожності порівняно з відповідним показником у жінок із низьким її рівнем.

## Список літератури

- [1] Александровский Ю.А. Неврозы и перекисное окисление липидов / Ю.А. Александровский, М.В. Пожуровский, Г.Г. Незнамов. – М.: Наука, 1991. – 144 с.
- [2] Анисимов В.Н. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова. – СПб.: Система, 2008. – 44 с.
- [3] Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев, Н.А. Горчакова, и др. // Украинский медицинский часопис. – 2014. – №1(99). – С. 22–28.
- [4] Астахов В.М. Психодиагностика в репродуктивной медицине / В.М. Астахов, О.В. Бацылева, И.В. Пузь. – Вінниця: Нілан-ЛТД, 2016. – 380 с.
- [5] Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – К.: Черныльинтеринформ, 1997. – 420 с.
- [6] Грибан В.Г. Валеология / В.Г. Грибан. – К.: Центр учебной литературы, 2008. – 214 с.
- [7] Гутикова Л.В. Роль биогенных аминов в реализации репродуктивной функции организма / Л.В. Гутикова, Д.А. Бубешко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №2. – С. 5–9.
- [8] Дадамбаев Е.Т. Флуориметрический метод определения мелатонина крови / Е.Т. Дадамбаев // Лабораторное дело. – 1986. – №1. – С. 30–32.
- [9] Новые подходы к исследованию патогенеза и диагностике прегестоза / В.И. Грищенко, О.П. Липко, Т.В. Рубинская и др. // Международный медицинский журнал. – 2004. – Т. 10. – №3. – С. 114–116.
- [10] Особенности мелатонинового обмена и гормонального статуса женщин в зависимости от латерализации плаценты в предродовом периоде в различные сезоны года / Н.А. Рогова, Т.Л. Боташева, В.В. Авруцкая, и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – №4. – С. 152.
- [11] Юденфренд С. Флуоресцентный анализ в биологии и медицине / С. Юденфренд. – М.: Мир, 1965. – 483 с.
- [12] Сурмач М.Ю. Уровень тревожности женщины во время беременности и медико-социальные факторы, влияющие на него / М.Ю. Сурмач, О.Г. Богдан, А.В. Синицкая // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2012. – №2. – С. 12–18.
- [13] Фурс В.В. Некоторые показатели обмена триптофана при физиологически протекающей беременности / В.В. Фурс, Е.М. Дорошенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2011. – №4. – С. 36–38.
- [14] Фурс В.В. Роль биогенных аминов при беременности, осложнённой плацентарной недостаточностью / В.В. Фурс // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2010. – №4. – С. 12–16.
- [15] Экспрессия биогенных аминов при плацентарной недостаточности / О.Н. Аржанова, И.М. Кветной, А.В. Кузнецова, А.В. Колобов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. LV. – №1. – С. 44–49.
- [16] Biogenic amines in the reduction of oxidative stress: melatonin and its metabolites / R.J. Reiter, D.X. Tan, M.J. Jou, et al. // *Neuro Endocrinol Lett.* – 2008. – Vol. 29(4). – P. 391–8.
- [17] Duhig K. Oxidative stress in pregnancy and reproduction / K. Duhig, L.C. Chappell, A.H. Shennan // *Obstet Med.* – 2016. – Vol. 9(3). – P. 113–6.
- [18] Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism / D.X. Tan, L.C. Manchester, E. Esteban-Zubero, et al. // *Molecules.* – 2015. – Vol. 20(10). – P. 18886–906.
- [19] Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans / R.J. Reiter, D.X. Tan, J.C. Mayo, et al. // *Acta Biochim Pol.* – 2003. – Vol. 50(4). – P. 1129–46.
- [20] Zhang H.M. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions / H.M. Zhang, Y. Zhang // *J Pineal Res.* – 2014. – Vol. 57(2). – P. 131–46.
- [7] Gutikova, L. V., & Bubeshko, D. A. (2014). Rol' biogenykh aminov v realizacii reprodukivnoy funkcii organizma [Role of biogenic amines in realization of reproductive function of organism]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 2, 5–9. [in Russian].
- [8] Dadambaev, E. T. (1986). Fluorimetriceskij metod opredeleniya melatonina krovi [Fluorimetric method for determination of melatonin of blood]. *Laboratornoe delo*, 1, 30–32. [in Russian].
- [9] Grishhenko, V. I., Lipko, O. P., Rubinskaya, T. V., Potapova, L. V., & Shherbina, I. N. (2004) Novye podkhody k issledovaniyu patogeneza i diagnostike pregestoza [New approaches to the study of pathogenesis and diagnosis of preterest]. *Mezhdunarodnyj medicinskij zhurnal*, 3, 114–116. [in Russian].
- [10] Rogova, N. A., Botasheva, T. L., Avrutsкая, V. V., Kaushanskaya, L. V., & Frolov, A. A. (2013) Osobennosti melatoninovogo obmena i gormonal'nogo statusa zhenshin v zavisimosti ot lateralizacii placenty v predrodovom periode v razlichnye sezony goda [Peculiarities of melatonin exchange and hormonal status of women in dependence on placental lateralization in preterm period in different seasons of the year]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 4, 152. [in Russian].
- [11] Yudenfrend, S. (1965). *Fluorescentnyj analiz v biologii i medicine [Fluorescence analysis in biology and medicine]*. Moscow: Mir. [in Russian].
- [12] Sumrach, M. U., Bogdan, O. G., & Sinitskaya, A. V. (2012). Uroven' trevozhnosti zhenshiny vo vremena beremennosti i mediko-social'nye faktory, vliyayushhie na nego [Level of anxiety in pregnant woman, medical and social factors influencing it]. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoj medicinskoj akademii*, 2, 12–18. [in Russian].
- [13] Furs, V. V., & Doroshenko, E. M. (2011). Nekotorye pokazateli obmena triptofana pri fiziologicheski protekayushhej beremennosti [Tryptophan metabolism rates in physiological pregnancy]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 4, 36–38. [in Russian].
- [14] Furs, V. V. (2010). Rol' biogenykh aminov pri beremennosti, oslozhnionnoj placentarnoj nedostatochnost'yu [Role of biogenic amines in pregnancy complicated by placental insufficiency]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 4, 12–16. [in Russian].
- [15] Arjanova, O. N., Kvetnoy, I. M., Kuznecova, A. V., & Kolobov, A. V. (2006). E'kspressiya biogenykh aminov pri placentarnoj nedostatochnosti Biogenic Amines Expression In Placental Insufficiency]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*, LV(1), 44–49. [in Russian].
- [16] Reiter, R. J., Tan, D. X., Jou, M. J., Korkmaz, A., Manchester, L. C., & Paredes, S. D. (2008). Biogenic amines in the reduction of oxidative stress: melatonin and its metabolites. *Neuro Endocrinol Lett.*, 29(4), 391–8.
- [17] Duhig, K., Chappell, L. C., & Shennan, A. H. (2016). Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet Med.*, 9(3), 113–6. doi: 10.1177/1753495X16648495.
- [18] Tan, D. X., Manchester, L. C., Esteban-Zubero, E., Zhou, Z., & Reiter, R. J. (2015). Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. *Molecules*, 20(10), 18886–906. doi: 10.3390/molecules201018886.
- [19] Reiter, R. J., Tan, D. X., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Leon, J., & Czarnocki, Z. (2003). Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol.*, 50(4), 1129–46. doi: 0350041129.
- [20] Zhang, H. M., & Zhang, Y. (2014). Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *J Pineal Res.*, 57(2), 131–46. doi: 10.1111/jpi.12162.

## Відомості про автора:

Сюсюка В. Г., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства і гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторе:

Сюсюка В. Г., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Information about author:

Syusyuka V. G., MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 13.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 06.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2017



## Дослідження динаміки кількості та топографії LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у тимусі щурів у ранньому післянатальному періоді в нормі та після пренатального введення дексаметазону

М. А. Волошин, Є. О. Аравіцький, О. Г. Куш

Запорізький державний медичний університет, Україна

### Ключові слова:

LCA<sup>+</sup>-дендритні клітини, дексаметазон, тимус.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 348–352

### DOI:

10.14739/2310-1237.2017.3.118757

### E-mail:

aravitskiyevgeniy@i.ua

**Мета роботи** – вивчити особливості динаміки LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин тимуса новонароджених щурів у постнатальному періоді після введення у внутрішньоутробному періоді дексаметазону.

**Матеріали та методи.** Вивчали тимус 144 білих нелінійних щурів на 1–3, 5, 9, 14, 21, 30 добу після народження. Виділені 3 групи по 48 щурів у кожній: 1 – інтактна група; 2 – експериментальна група щурів, яким на 18 добу пренатального періоду через матку, через оболонку, внутрішньоплідно введено 0,05 мл дексаметазону (в розведенні 1:40), 3 – контрольна група щурів, яким вводили 0,05 мл 0,9 % NaCl за методом М. А. Волошина. Для вивчення особливостей розподілу дендритних клітин у тимусі, що несуть рецептори до  $\alpha$ -D манози, використовували лектин сочевиці (LCA) з застосуванням стандартних наборів НВО «Лектинотест».

**Результати.** Встановлено, що максимальний вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин тимуса в інтактній (3,92 ± 0,65), експериментальній (3,41 ± 0,49) і контрольній (4,07 ± 0,53) групах припадає на першу добу після народження. Мінімальна кількість LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин виявлена на 5 добу в інтактній (1,88 ± 0,37) і контрольній (1,73 ± 0,34) групах, а в експериментальній групі їхній мінімум (2,35 ± 0,48) визначається тільки на 30 добу після народження. У експериментальній групі з 5 по 9 добу спостерігається вірогідно більша кількість LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин, ніж у групах порівняння.

**Висновки.** Введення дексаметазону на 18 добу пренатального періоду призводить до вірогідного збільшення вмісту LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин в експериментальних щурів із 5 по 9 добу життя. Це опосередковано збігається зі збільшенням кількості лімфоцитів, таких, що гинуть і мітотично поділяються, в тимусі щурів у постнатальному періоді.

### Ключевые слова:

LCA<sup>+</sup>-дендритные клетки, дексаметазон, тимус.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 348–352

## Исследование динамики количества и топографии LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток в тимусе крыс в раннем постнатальном периоде в норме и после пренатального введения дексаметазона

Н. А. Волошин, Е. О. Аравитский, О. Г. Куш

**Цель работы** – изучить особенности динамики LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток тимуса новорожденных крыс в постнатальном периоде после введения во внутриутробном периоде дексаметазона.

**Материалы и методы.** Исследовали тимус 144 белых нелинейных крыс на 1–3, 5, 9, 14, 21, 30 сутки после рождения. Выделены 3 группы по 48 крыс в каждой: 1 – интактная группа; 2 – экспериментальная группа крыс, которым на 18 сутки пренатального периода чрезматочно, чрезоболочечно, внутривлагалищно введено 0,05 мл дексаметазона (в разведении 1:40), 3 – контрольная группа крыс, которым вводили 0,05 мл 0,9 % NaCl по методу Н. А. Волошина. Для изучения особенностей распределения дендритных клеток в тимусе, несущих рецепторы к  $\alpha$ -D маннозе, использовали лектин чечевицы (LCA) с применением стандартных наборов НПО «Лектинотест».

**Результаты.** Установлено, что максимальное содержание LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток тимуса в интактной (3,92 ± 0,65), экспериментальной (3,41 ± 0,49) и контрольной (4,07 ± 0,53) группах приходится на первые сутки после рождения. Минимальное количество LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток обнаружено на 5 сутки в интактной (1,88 ± 0,37) и контрольной (1,73 ± 0,34) группах, а в экспериментальной группе их минимум (2,35 ± 0,48) определяется только на 30 день после рождения. В экспериментальной группе с 5 по 9 день определяется достоверно большее количество LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток, чем в группах сравнения.

**Выводы.** Введение дексаметазона в пренатальном периоде приводит к достоверному увеличению содержания LCA<sup>+</sup>-дендритных клеток в экспериментальной группе с 5 по 9 сутки жизни, что косвенно совпадает с увеличением количества гибнущих и митотически делящихся лимфоцитов в тимусе крыс в постнатальном периоде.

### Key words:

LCA<sup>+</sup>-dendritic cells, dexamethasone, thymus gland.

Pathologia 2017; 14 (3), 348–352

## Determination of the quantity and topography dynamics of the LCA<sup>+</sup>-dendritic cells in rat thymus in early postnatal period in norm and after the prenatal administration of the dexamethasone

М. А. Voloshyn, Ye. O. Aravitskiy, O. G. Kushch

**Purpose** was to study the dynamics of LCA<sup>+</sup>-dendritic thymus cells in newborn rats in the postnatal period after administration of dexamethasone in the intrauterine period.

**Materials and methods.** The study was performed on 144 white nonlinear rats on the 1<sup>st</sup>–3<sup>rd</sup>, 5<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, 30<sup>th</sup> days after birth. There are 3 groups with 48 rats in each group: 1 – intact group; 2 – experimental group of rats, who received peritoneal

injection of 0.05 ml of dexamethasone (in dilution 1:40) on the 18<sup>th</sup> day of the prenatal period, and a control group of rats receiving 0.05 ml of 0.9 % NaCl according to M. A. Voloshyn. To study the dynamics of dendritic cells in the thymus carrying the  $\alpha$ -D mannose receptors, LCA-lectin was used.

**Results.** It has been established that the maximum content of LCA<sup>+</sup>-dendritic thymus cells in the intact ( $3.92 \pm 0.65$ ), experimental ( $3.41 \pm 0.49$ ) and control ( $4.07 \pm 0.53$ ) groups occurs on the 1<sup>st</sup> day after birth. The minimum number of LCA<sup>+</sup>-dendritic cells was detected on the 5<sup>th</sup> day in the intact ( $1.88 \pm 0.37$ ) and control ( $1.73 \pm 0.34$ ) groups, and their minimum in the experimental group ( $2.35 \pm 0.48$ ) was determined on the 30<sup>th</sup> day after birth. In the experimental group from the 5<sup>th</sup> day to the 9<sup>th</sup> day a significantly higher number of LCA<sup>+</sup>-dendritic cells than in the comparison groups was detected.

**Conclusions.** The introduction of dexamethasone in the prenatal period leads to the significant increase in the LCA<sup>+</sup>-dendritic cell content in the experimental group from the 5<sup>th</sup> to the 9<sup>th</sup> day of life, which indirectly coincides with the increase in the number of peripheral and mitotic dividing lymphocytes in the thymus of rats in the postnatal period.

У ранньому постнатальному періоді відбувається адаптація новонародженого до умов довкілля, що супроводжується максимальною напругою процесів становлення імунної системи [2].

Дендритні клітини – один із ключових чинників процесу проліферації, диференціювання та селекції лімфоцитів у тимусі, впливають на формування імунологічної толерантності та імунної відповіді [6,9]. Беручи участь у зв'язуванні та презентації антигенів, вони експресують велику кількість рецепторів на цитолемі, що належать до сімейств Toll- і цитокінових рецепторів (TLR3, TLR7, TLR8, TLR10, Myd88, IL7R- $\alpha$ , IL10 тощо) та C-лектинів (DEC-205, Langerin/CD207, Dectin-1, Dectin-2, Mincle тощо). Рецептори сімейства C-лектинів є специфічними для вуглеводних залишків  $\beta$ -глюканів,  $\alpha$ -D манози, N-ацетилглюкозаміну [8,11].

Маркером, що здатний виявляти вуглеводний залишок  $\alpha$ -D занози, є лектин сочевиці, його можна використовувати для виявлення дендритних клітин, оскільки він міститься в цитоплазматичній мембрані та цитоплазмі цих клітин [3].

За даними О. Г. Куц, М. А. Волошина (2010), ключову роль у процесах морфогенезу відіграють вуглеводні залишки, що входять до складу глікопротеїдів рецепторів клітин і забезпечують міжклітинні, клітинно-матриксні взаємодії, в тому числі імуннекомпетентних клітин. Зміна вуглеводного компонента мембранного та цитоплазматичного рецепторного апарату клітин може призвести до незворотних морфо-функціональних порушень [4].

У науковій літературі наявні суперечності щодо впливу глюкокортикоїдів на імунну систему плода. На думку M. D. Taves, A. W. Plumb, B. A. Sandkam, J. G. Van Der Gugten (2015), виживання новонароджених пов'язано з фізіологічним підвищенням рівня глюкокортикоїдів наприкінці гестаційного періоду [10]. Крім того, згідно з наказом МОЗ України, ризик передчасних пологів є показанням до призначення глюкокортикоїдів (дексаметазону) [5]. Водночас, згідно з дослідженнями R. D. Moleriu et al. (2014), K. Šitum et al. (2015), введення глюкокортикоїдів при невиношуванні вагітності не поліпшує її прогнозу та може призводити до резорбції плодів, внутрішньоутробної смерті або до значного зменшення розмірів плодів, що залишилися в живих [7,9].

Враховуючи реактивність вилочкової залози у відповідь на пренатальне введення дексаметазону, котра проявляється в чималому збільшенні незрілих лімфоцитів, що гинуть, і компенсаторному збільшенні частки клітин із фігурами мітозу, вивчення динаміки

морфо-функціонального стану дендритних клітин тимуса та їхнього рецепторного профілю є актуальним [1].

## Мета роботи

Вивчити особливості динаміки кількості та топографії LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин тимуса щурів у ранньому постнатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробного введення дексаметазону.

## Матеріали і методи дослідження

Вивчили тимус 144 білих нелінійних щурів на 1–3, 5, 9, 14, 21, 30 добу після народження. Виділено 3 групи по 48 щурів у кожній: 1 – тварини інтактної групи; 2 – тварини експериментальної групи, яким на 18 добу пренатального періоду черезматково, черезоболонково, внутрішньоплідно ввели 0,05 мл дексаметазону (в розведенні 1:40); 3 – тварини контрольної групи, яким вводили 0,05 мл 0,9 % NaCl за методом М. А. Волошина. Для вивчення особливостей розподілу дендритних клітин у тимусі, що несуть рецептори до  $\alpha$ -D манози, використовували лектин сочевиці (LCA) з застосуванням стандартних наборів HBO «Лектинотест» (м. Львів) [2]. Оброблення гістологічних зрізів здійснювали кон'югатом лектин сочевиці – пероксидаза хрому (LCA-HRP) у темряві, протягом 2 годин при температурі 200 °C після попередньої інактивації ендогенної пероксидази. Контрольні зрізи інкубували з кон'югатом LCA-HRP за присутності 0,4 % розчину манози. Для виявлення ділянок зв'язування лектину сочевиці використовували систему візуалізації діамінобензидин – перекис водню. Мікроскопічне дослідження здійснювали з використанням світлооптичного мікроскопа Carl Zeiss Primo Star (ФРН) зі збільшенням  $\times 900$ . Кількісний підрахунок дендритних клітин – за допомогою програми аналізу зображень AxioVision Rel. 4.8 на умовній одиниці площі, що дорівнює 1500  $\mu\text{m}^2$  у межах кортико-медулярної зони тимуса новонароджених щурів. Статистичне опрацювання результатів виконали в програмі Statistica for Windows 10.0. Вірогідність даних оцінювали з використанням критерію Стьюдента. Порівнянні результати вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

На першу добу після народження LCA<sup>+</sup>-клітини мають розміри 17–25  $\mu\text{m}$ , неправильну полігональну або трикутну форму з 3–6 локаціями виходу відростків. Ядра

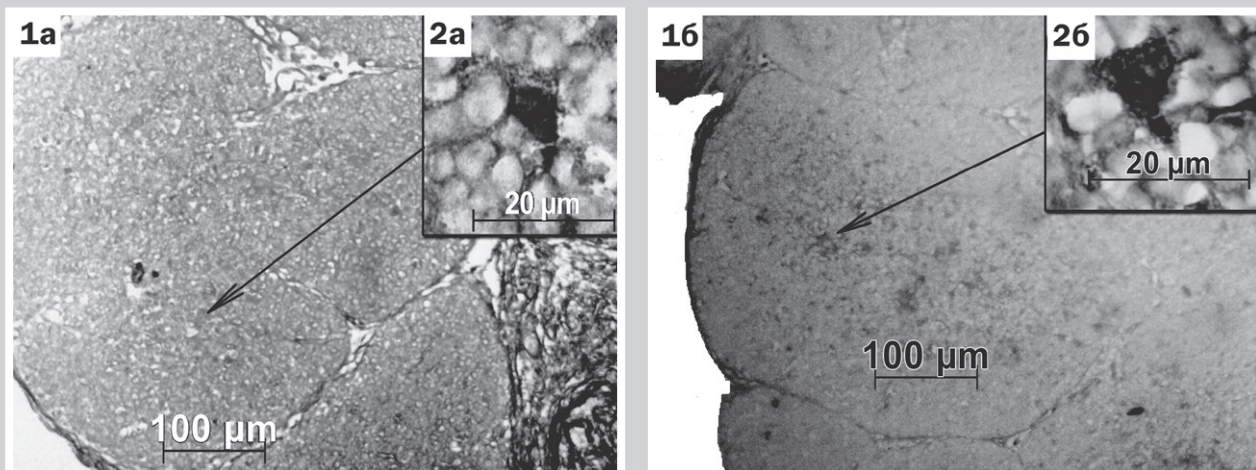


Рис. 1. Розподіл LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у кортико-медулярній зоні тимуса щурів: а) інтактної та б) експериментальної групи на першу добу постнатального періоду. 1а, 1б – зб.: ×100, 2а, 2б – зб.: ×900.

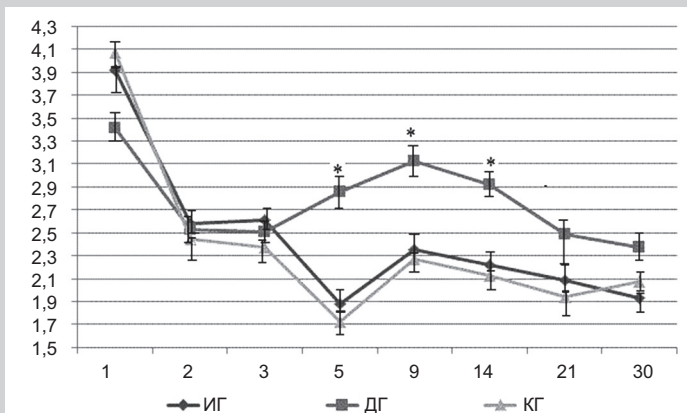


Рис. 2. Динаміка вмісту LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у тимусі щурів у постнатальному періоді.

\*: різниця показника експериментальної групи вірогідна щодо інтактної та контрольної груп ( $p < 0,05$ ); ИГ: група інтактних тварин; ДГ: група тварин, яким пренатально вводили декса-метазон; КГ: група контрольних тварин.

розташовані ексцентрично, світлі, мають округлу або овоїдну форму. Частинки бензидину нашаровуються на поверхні цитоплазматичної мембрани, в самій цитоплазмі утворюють дрібнопетлястий сітчастий малюнок. Дендритні клітини, що несуть рецептори до  $\alpha$ -D-манози, локалізуються переважно на кортико-медулярній зоні, іноді утворюючи групи або ланцюжок із кількох розташованих поруч клітин унаслідок контакту між своїми відростками. У мозковій речовині тимуса їхня кількість незначна й розташовані вони хаотичніше. Ця закономірність розташування LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин характерна як для груп інтактних і контрольних тварин, так і для експериментальної групи (рис. 1).

Введення фізіологічного розчину контрольній групі тварин не викликало вірогідних змін у тимусі порівняно з інтактною групою в усіх досліджуваних термінах. У тварин інтактної та контрольної груп щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці на поверхні та в цитоплазмі дендритних клітин менша (++) , ніж у тварин експериментальної групи (+++/++) . У всіх досліджу-

ваних групах щурів виявляється максимальний вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин на умовній одиниці площі. При цьому значущих відмінностей у вмісті LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин між групами не виявили: тварини інтактної групи –  $3,92 \pm 0,65$  клітини; тварини, яким пренатально вводили дексаметазон, –  $3,41 \pm 0,49$  клітини; тварини контрольної групи –  $4,07 \pm 0,53$  клітини на умовну одиницю площі.

На другу добу після народження зберігається виражена (+++) інтенсивність розподілу залишків  $\alpha$ -D-манози, що є рецептором до лектину сочевиці в усіх досліджуваних групах. Також відзначається тенденція до зниження кількості LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин порівняно з новонародженими щурами як в інтактній ( $2,58 \pm 0,45$ ), так і в експериментальній групі ( $2,53 \pm 0,68$ ). При цьому значущих відмінностей у розподілі бензидинової мітки до лектину сочевиці на цитолемі та в цитоплазмі дендритних клітин між досліджуваними групами не виявлено.

На третю добу після народження визначається помірна (++) інтенсивність накопичення бензидинової мітки до LCA в інтактній, експериментальній і контрольній групах. Порівняно з другою добою в усіх досліджуваних групах тварин вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин зберігається на колишньому рівні. До того ж вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин та їхнє взаємне розташування залишається практично ідентичним у всіх групах тварин (рис. 2).

На 5 добу після народження в інтактній і контрольній групах реєструється низька щільність (+) розподілу рецепторів лектину сочевиці, а в експериментальній групі, навпаки, виявлено високу (+++) інтенсивність накопичення залишків до  $\alpha$ -D-манози. В інтактній ( $1,88 \pm 0,37$ ) і контрольній ( $1,73 \pm 0,34$ ) групах кількість LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин різко знижується порівняно з попереднім терміном спостереження. Однак в експериментальній групі вміст LCA<sup>+</sup>-клітин, навпаки, збільшується ( $2,86 \pm 0,42$ ) порівняно з 3 добою, вірогідно перевищуючи відповідний показник груп порівняння (рис. 3).



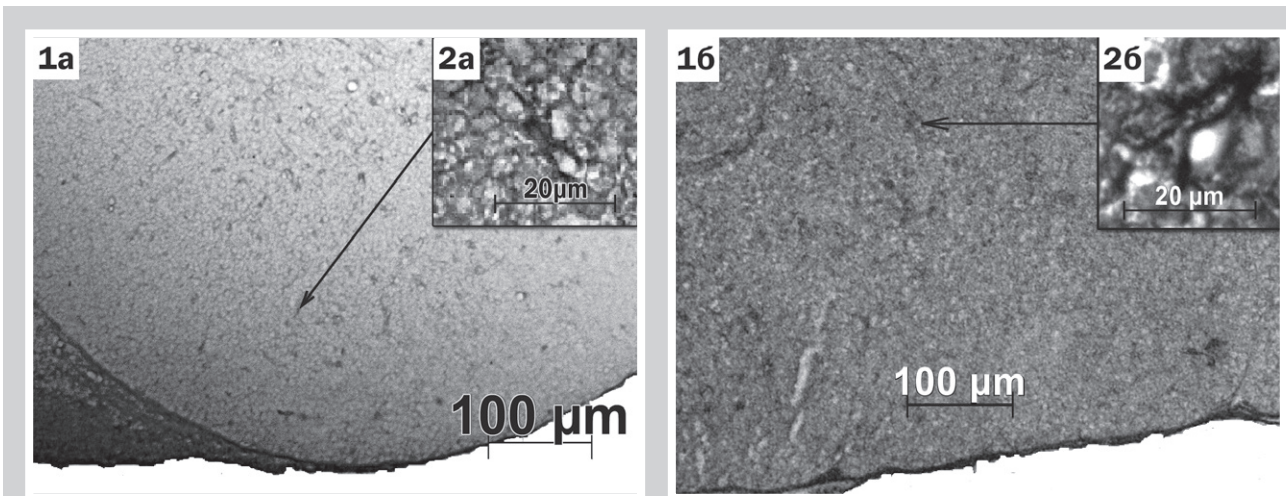


Рис. 3. Розподіл LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у кортико-медулярній зоні тимуса щурів: а) інтактної та б) експериментальної групи на п'ять добу постнатального періоду. 1а, 1б – зб.:  $\times 100$ , 2а, 2б – зб.:  $\times 900$ .

На 9 добу після народження в інтактній і контрольній групах інтенсивність розподілу рецепторів до лектинів сочевиці зберігається на низькому рівні (+), тоді як в експериментальній групі щільність розподілу рецепторів є значно вищою (+++). У інтактній, експериментальній і контрольній групах кількість дендритних клітин із LCA<sup>+</sup>-позитивною цитоплазмою незначно збільшується порівняно з попереднім терміном спостереження (рис. 2). Але у групі щурів після пренатального введення дексаметазону кількість LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин зберігається більшою ( $3,13 \pm 0,27$ ,  $p < 0,05$ ), ніж у групах порівняння.

На 14 добу після народження виявлено помірну (++) щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці в інтактній і контрольній групах, а в експериментальній групі інтенсивність накопичення бензидинової мітки до лектину сочевиці вища (+++), ніж у групах порівняння. Вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин поступово знижується в усіх групах тварин (рис. 2). При цьому у групі після пренатального введення дексаметазону їхня кількість залишається вірогідно більшою ( $2,92 \pm 0,31$ ), ніж в інтактній і контрольній групах.

У третій тиждень після народження в цитоплазмі та на мембрані дендритних клітин експресується помірна (++) кількість рецепторів до лектинів сочевиці в усіх досліджуваних групах. При цьому вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у тимусі інтактних і контрольних щурів залишається на колишньому рівні (рис. 2), як і їхня топографія, тоді як в експериментальній групі досліджувані клітини виявляються рідше ( $2,49 \pm 0,24$ ), ніж у попередній термін спостереження. Значущих відмінностей між групами щурів не виявили.

На 30 добу постнатального життя кількість рецепторів до лектину сочевиці на мембрані дендритних клітин знижується порівняно з 21 добою та виявляється слабка (+) інтенсивність накопичення бензидинової мітки як в експериментальній групі, так і у групах порівняння. Вміст LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин незначно знижується в усіх досліджуваних групах (рис. 2). У експериментальній групі зберігається тенденція до збільшення чисельності LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин.

Під час вивчення вмісту LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин у тимусі у тварин інтактної, експериментальної та контрольної груп виявлена хвилеподібна зміна їхньої кількості. Максимальна чисельність визначається в кортико-медулярній зоні тимуса всіх досліджуваних груп у першу добу після народження, що збігається з даними М. А. Волошина (2011), R. D. Moleriu (2014), а також співвідноситься з динамікою вмісту лімфоцитів, відсотком мітозів та апоптозів, вказуючи на високу функціональну активність дендритних клітин тимуса новонароджених, оскільки вони здатні стимулювати проліферацію Т-лімфоцитів [1,2]. У експериментальній групі з 5 по 9 добу визначається вірогідно більша кількість дендритних клітин із LCA<sup>+</sup>-позитивною цитоплазмою, ніж у групах порівняння, що супроводжується збільшенням кількості клітин, котрі гинуть, із фігурами мітозів у тимусі щурів у ранньому постнатальному періоді [1]. Цей факт підтверджується роботами інших науковців [2,9]. Мінімальна кількість LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин виявлена на 5 добу в інтактній і контрольній групах, співвідноситься з циклічністю заселення периферичних лімфоїдних органів тимоцитами, а в експериментальній групі їхній мінімум визначається тільки на 30 добу після народження. Примітно, що за весь період спостереження кількість досліджуваних клітин в експериментальній групі змінюється незначно, наближаючись до максимального значення на 9 добу, що може показувати їхню високу функціональну активність на тлі інтенсивних процесів проліферації, диференціювання та загибелі лімфоцитів після пренатального введення дексаметазону.

## Висновки

1. Введення дексаметазону на 18 добу пренатального періоду призводить до вірогідного збільшення вмісту LCA<sup>+</sup>-дендритних клітин в експериментальних щурів із 5 по 9 добу життя.

2. У експериментальній групі максимальна ( $3,41 \pm 0,49$ ) і мінімальна ( $2,37 \pm 0,19$ ) кількість дендритних клітин із LCA<sup>+</sup>-цитоплазмою виявлена на 1 та 30 добу постнатального життя відповідно.

3. У тварин експериментальної групи зміни в морфо-функціональному стані дендритних клітин із 5 по 14 добу постнатального періоду збігаються з процесами підвищення проліферативної активності лімфоцитів і зі зменшенням кількості клітин із картинами апоптозу в мозковій речовині.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні розподілу рецепторів до лектинів зародків пшениці та арахісу в тимусі новонароджених щурів після пренатального впливу дексаметазону.

#### Список літератури

- [1] Аравицкий Е.О. Особенности реактивности субкапсулярной зоны тимуса после внутриутробного гормонального воздействия / Е.О. Аравицкий, Н.А. Волошин // Сучасні аспекти медицини та фармації: матеріали конференції. – 2017. – С. 5–6.
- [2] Волошин М.А. Тимус новонароджених / М.А. Волошин, О.А. Григор'єва. – Запоріжжя, 2011. – 344 с.
- [3] Волошин Н.А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза (обзор литературы и собственных исследований) / Н.А. Волошин, О.А. Григор'єва // Журнал АМН України. – 2005. – Т. 11. – №2. – С. 223–237.
- [4] Куц О.Г. Методика вивчення популяції γδ-T-лімфоцитів із використанням панелі лектинів / О.Г. Куц, М.А. Волошин // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16. – №1. – С. 76–80.
- [5] Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 03.11.2008 р. №624 «Про внесення змін до наказу МОЗ України від 15 грудня 2003 року № 582 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги», наказу МОЗ від 31.12.2004 року № 676 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги».
- [6] Delamarre L. Dendritic cell-targeted vaccines / L. Delamarre, L. Cohn // Frontiers in Immunology. – 2014. – №5. – P. 255–260.
- [7] Insights into the mechanisms of thymus involution and regeneration by modeling the glucocorticoid-induced perturbation of thymocyte populations dynamics / R.D. Moleriu, D. Zaharie, L.C. Moatar-Moleriu, et al. // Theor Biol. – 2014. – Vol. 348(2). – P. 84–87.
- [8] Sancho D. Signaling by myeloid C-type lectin receptors in immunity and homeostasis / D. Sancho, C. Reis e Sousa // Annu Rev. Immunol. – 2012. – Vol. 30. – P. 491–529.
- [9] Relative potencies of three glucocorticoids to induce hypoplasia of the thymus and concomitant biochemical alterations in the rat / K. Šitum, K. Đurić, B. Bošnjak, et al. // Drug Chem Toxicol. – 2015. – Vol. 38(3). – P. 272–277.
- [10] Steroid profil in greveals widespread local regulation of glucocorticoid levels during mouse development / M.D. Taves, A.W. Plumb, B.A. Sandkam, et al. // Endocrinology. – 2015. – Vol. 156(2). – P. 511–522.
- [11] The dendritic cell receptor Clec9A binds damaged cells via exposed actin filaments / J.G. Zhang, P.E. Czabotar, A.N. Policheni, et al. // Immunity. – 2012. – Vol. 36(4). – P. 646–57.

#### References

- [1] Voloshin, N. A., & Aravickij, E. O. (2017) *Osobennosti reaktivnosti subkapsulyarnoj zony timusa posle vnutriutrobnogo gormonal'nogo vozdejstviya* [Features of the reactivity of the subcapsular zone of the thymus after intrauterine hormonal action.]. *Suchasni aspekty medytsyny ta farmatsii*. Proceedings of the Conference, (p. 5–6). Zaporizhzhia. [in Russian].
- [2] Voloshyn, M. A., & Hryhorieva, O. A. (2011) *Tymus novonarodzhennykh* [Thymus of newborn]. Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
- [3] Voloshin, N. A., & Grigor'eva, E. A. (2005). Lektiny zhivotnogo i rastitel'nogo proiskhozhdeniya: rol' v processakh morfogeneza (obzor literatury i sobstvennykh issledovaniy) [Lectins of animal and plant origin: the role in the processes of morphogenesis (review of literature and own research)]. *Zhurnal AMN Ukrainy*, 11(2), 223–237. [in Russian].
- [4] Kushch, O. H., & Voloshyn, M. A. (2010). Metodyka vyvchennia populatsii γδ-T-limfotsytiv iz vykorystanniam paneli lektyniv [The methodology of the population population γδ-T- lymphocytes in the panel of lectins]. *Visnyk morfologii*, 16(1), 76–80. [in Ukrainian].
- [5] (2008) Nakaz Ministerstva okhorony zdorov'ia Ukrainy vid 03.11.2008 r. №624 Pro vnesennia zmin do nakazu MOZ Ukrainy vid 15 hrudnia 2003 roku №582 «Pro zatverdzhennia klinichnykh protokoliv z akusherskoi ta hinekolohichnoi dopomohy», nakazu MOZ vid 31.12.2004 roku №676 «Pro zatverdzhennia klinichnykh protokoliv z akusherskoi ta hinekolohichnoi dopomohy» [The order of the Ministry of Health of Ukraine from November, 3, 2008, №624 On Amendments to the Order

of the Ministry of Health of Ukraine of December, 15, 2003 No.582 "On Approval of Clinical Protocols on Obstetric and Gynecological Aid", MOH Order of December, 31, 2004 No.676 "On Approval of Clinical Protocols on Obstetric and Gynecological Aid"]. [in Ukrainian].

- [6] Delamarre, L., & Cohn, L. (2014). Dendritic cell-targeted vaccines. *Frontiers in Immunology*, 5, 255–260. doi: 10.3389/fimmu.2014.00255.
- [7] Moleriu, R. D., Zaharie, D., Moatar-Moleriu, L. C., Gruia, A. T., Mic, A. A., & Mic, F. A. (2014). Insights into the mechanisms of thymus involution and regeneration by modeling the glucocorticoid-induced perturbation of thymocytepopulations dynamics. *J Theor Biol.*, 348(2), 84–87 doi: 10.1016/j.jtbi.2014.01.020.
- [8] Sancho, D., & Reis e Sousa, C. (2012). Signaling by myeloid C-type lectin receptors in immunity and homeostasis. *Annu Rev. Immunol.* 30, 491–529. doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101352.
- [9] Hrvacic, B., Šitum, K., Đurić, K., Bošnjak, B., Ferenčić, Ž., Brajša, K., et al. (2015). Relative potencies of three glucocorticoids to induce hypoplasia of the thymus and concomitant biochemical alterations in the rat. *Drug Chem Toxicol.*, 38(3), 272–277. doi: 10.3109/01480545.2014.947502.
- [10] Taves, M. D., Plumb, A. W., Sandkam, B. A., Ma, Ch., Van Der Gugten, J. G., Holmes, D. T. et al. (2012). Steroid profiling reveals widespread local regulation of glucocorticoid levels during mouse development. *Endocrinology*, 156(2), 511–22. doi: https://doi.org/10.1210/en.2013-1606.
- [11] Zhang, J. G., Czabotar, P. E., Policheni, A. N., Caminschi, I., Wan, S. S., Kitsoulis, S., et al. (2012). The dendritic cell receptor Clec9A binds damaged cells via exposed actin filaments. *Immunity*, 36(4), 646–57. doi: 10.1016/j.immuni.2012.03.009.

#### Відомості про авторів:

**Волошин М. А.**, д-р мед. наук, професор, зав. каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

Аравицький Є. О., аспірант каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Куц О. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Сведения об авторах:

**Волошин Н. А.**, д-р мед. наук, профессор, зав. каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Аравицкий Е. О., аспирант каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Куц О. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. нормальной физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### Information about authors:

**Voloshyn M. A.**, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Aravitskiy Ye. O., PhD student, Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kushch O. G., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 26.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 01.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2017

## Субмікроскопічні зміни структурних компонентів тимуса при дії на організм налбуфіну

Т. В. Гарапко, А. С. Головацький

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна

У медицині вже давно використовуються наркотичні анальгетики з лікувальною метою, але їхній вплив на органи імунної системи вивчений недостатньо.

**Мета роботи** – дослідити закономірність субмікроскопічних змін структурних компонентів тимуса білих щурів-самців у динаміці шеститижневого впливу на організм опіюду налбуфіну, а також через один тиждень після його відміни.

**Матеріали та методи.** Дослідження здійснили на 52 білих щурах-самцях репродуктивного віку з початковою масою тіла 140–150 г. Препарат «Налбуфін» вводили внутрішньом'язово 1 раз на добу о 10–11 годині протягом 42 діб, підвищуючи дозу кожні 7 діб. Експериментальних тварин поділили на 8 груп: перша – інтактні тварини; друга група, яким упродовж 1 тижня щоденно вводили внутрішньом'язово опіюд налбуфін у дозі 8 мг/кг; третя група, яким протягом 2 тижня дозу налбуфіну збільшили до 15 мг/кг; четверта група, яким упродовж 3 тижня дозу налбуфіну збільшили до 20 мг/кг; п'ята група, яким упродовж 4 тижня дозу налбуфіну збільшили до 25 мг/кг; шоста група, яким протягом 5 тижня дозу налбуфіну збільшили до 30 мг/кг; сьома група, яким упродовж 6 тижня дозу налбуфіну збільшили до 35 мг/кг; восьма група, у яких забирали матеріал через один тиждень після відміни препарату. Забір матеріалу виконували згідно з загальноприйнятими правилами. Зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-6М за допомогою алмазного ножа (DIATOM) і здійснювали подвійне контрастування – за Рейнольдсом та уранілацетатом. Досліджували зрізи тимуса за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа TEM-100. Фотодокументували досліджуваний матеріал за допомогою цифрової камери SONY-H9.

**Результати.** Через один тиждень експерименту розширюється міжклітинний простір. Через два тижні контури ядер тимоцитів нерівні, розмиті. Через три – чотири тижні виникають деструктивно-дегенеративні зміни тимоцитів та епітеліоретикулоцитів. Через п'ять – шість тижнів частина тимоцитів та епітеліоретикулоцитів мають пікнотичні електронно-щільні ядра, збільшується кількість деструктивно змінених тимоцитів, епітеліоретикулоцитів і макрофагів із пікнотичними ядрами та у стані апоптозу. Через один тиждень після відміни налбуфіну наявні численні деструктивно змінені тимоцити та епітеліоретикулоцити й клітини у стані апоптозу, ядерна мембрана та плазмолема місцями пошкоджені.

**Висновки.** При нетривалому впливі налбуфіну на організм протягом 2 тижнів не відбувається значущих структурних змін у тимусі. При дії налбуфіну впродовж 3–4 тижнів виникають деструктивно-дегенеративні зміни структурних компонентів тимуса. При тривалій дії налбуфіну протягом 5–6 тижнів настають глибокі деструктивно-дегенеративні зміни, що навіть через тиждень після відміни препарату не відновлюються.

### Ключові слова:

тимус, налбуфін, тимоцити, епітеліоретикулоцити, апоптоз.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 353–357

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2017.3.118760

**E-mail:**  
garapkotv@gmail.com

## Субмикроскопические изменения структурных компонентов тимуса при воздействии на организм налбуфина

Т. В. Гарапко, А. С. Головацкий

В медицине уже давно используются наркотические анальгетики с лечебной целью, однако их влияние на органы иммунной системы изучено недостаточно.

**Цель работы** – изучить закономерность субмикроскопических изменений структурных компонентов тимуса белых крыс-самцов в динамике шестинедельного воздействия на организм опиоида налбуфина, а также через одну неделю после его отмены.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 52 белых крысах-самцах репродуктивного возраста с начальной массой тела 140–150 г. Препарат «Налбуфин» вводили внутримышечно 1 раз в сутки в 10–11 часов в течение 42 суток, повышая дозу каждые 7 дней. Экспериментальные животные разделены на 8 групп: первая группа – интактные животные; вторая группа, которым на протяжении 1 недели ежедневно вводили внутримышечно опиоид налбуфин в дозе 8 мг/кг; третья группа, которым на протяжении 2 недели дозу налбуфина увеличили до 15 мг/кг; четвертая группа, которым на протяжении 3 недели дозу налбуфина увеличили до 20 мг/кг; пятая группа, которым на протяжении 4 недели дозу налбуфина увеличили до 25 мг/кг; шестая группа, которым на протяжении 5 недели дозу налбуфина увеличили до 30 мг/кг; седьмая группа, которым на протяжении 6 недели дозу налбуфина увеличили до 35 мг/кг; восьмая группа, у которых забирали материал через одну неделю после отмены препарата. Забор материала проводили согласно общепринятым правилам. Срезы изготавливали на ультрамикротоме УМТП-6М с помощью алмазного ножа (DIATOM) и проводили двойное контрастирование – по Рейнольдсу и уранилацетатом. Исследовали срезы тимуса с помощью электронного трансмиссионного микроскопа ТЭМ-100. Фотодокументировали исследуемый материал с помощью цифровой камеры SONY-H9.

**Результаты.** Через одну неделю эксперимента расширяется межклеточное пространство. Через две недели контуры ядер тимоцитов неровные, размыты. Через три – четыре недели появляются деструктивно-дегенеративные изменения тимоцитов и эпителиоретикулоцитов. Через пять – шесть недель часть тимоцитов и эпителиоретикулоцитов имеют пикнотические электронно-плотные ядра, увеличивается количество деструктивно измененных тимоцитов, эпителио-

### Ключевые слова:

тимус, налбуфин, тимоциты, эпителиоретикулоциты, апоптоз.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 353–357



ретикулоцитів і макрофагов с пикнотическими ядрами и в состоянии апоптоза. Через одну неделю после отмены налбуфина имеются многочисленные деструктивно измененные тимоциты и эпителиоретикулоциты и клетки в состоянии апоптоза, ядерная мембрана и плазмолемма местами повреждены.

**Выводы.** При непродолжительном воздействии налбуфина на организм в течение 2 недель не происходит значительных структурных изменений в тимусе. При действии налбуфина в течение 3 – 4 недель возникают деструктивно-дегенеративные изменения структурных компонентов тимуса. При длительном воздействии налбуфина в течение 5 – 6 недель наступают глубокие деструктивно-дегенеративные изменения, которые даже через неделю после отмены препарата не восстанавливаются.

## Key words:

thymus, nalbuphine, thymocytes, epithelial cells, apoptosis.

## Pathologia

2017; 14 (3), 353–357

## Submicroscopic changes in the structural components of thymus under the action of nalbuphine on the body

T. V. Harapko, A. S. Holovatskyi

In medicine narcotic analgesics have long been used for therapeutic purposes, but their influence on the organs of the immune system is insufficiently studied.

**Aim of the work** was the investigation of submicroscopic changes in the structural components of the thymus of white male rats in the dynamics of six weeks exposure of the nalbuphine to the body and one week after its abolition.

**Materials and methods.** The study was conducted on 52 white male rats of reproductive age with an initial body weight of 140–150 g. The drug «Nalbuphine» was injected intramuscularly 1 time per day at 10–11 o'clock during 42 days, increasing the dose every 7 days. Experimental animals are divided into 8 groups: the first group – intact animals; opioid nalbuphine was daily injected intramuscularly at a dose of 8 mg/kg in the second group within 1 week; in the third group twithin 2 weeks nalbuphine dose increased to 15 mg/kg; in the fourth group within 3 weeks nalbuphine dose increased to 20 mg/kg; in the fifth group within 4 weeks nalbuphine dose increased to 25 mg/kg; in the sixth group within 5 weeks nalbuphine dose increased to 30 mg/kg; in the seventh group within 6 weeks nalbuphine dose increased to 35 mg/kg; in the eighth group material was taken one week after discontinuation of therapy. The material was collected in accordance with generally accepted rules. The slices were made on UMTP–6M ultramicrotome using diamond knife (DIATOM) and double-contrasted according to Reynolds and with uranyl acetate. The thymus sections were investigated using an electronic TEM–100 transmissive microscope. The photo documentation of studied material was carried out using SONY–H9 digital camera.

**Results.** After one week of experiment, the intercellular space is expanded. Two weeks later, the contours of thymocyte nuclei are uneven, blurred. Three to four weeks there are destructive degenerative changes of thymocytes and epithelial reticular cells. Five to six weeks later, part of thymocytes and epithelial reticular cells have picnotic osmiofilic nuclei, an increase in the number of destructively altered thymocytes, epithelial reticular cells and macrophages with picnotial nuclei and in the state of apoptosis. One week after the discontinuation of nalbuphine, there are numerous destructively altered thymocytes and epithelial reticular cells and cells in the state of apoptosis, the nuclear membrane and plasmalemma have been damaged in some places.

**Conclusions.** With a short-term effect of nalbuphine on the body for 2 weeks, there are no significant structural changes in the thymus. Under the action of nalbuphine for 3–4 weeks there are destructive-degenerative changes of the structural components of the thymus. With prolonged action of nalbuphine within 5–6 weeks, deep destructive degenerative changes occur, which are not restored even a week after discontinuation of the drug.

Наркоманія – одна з найактуальніших медико-соці-альних проблем сучасного суспільства [1]. У медицині вже давно використовують наркотичні анальгетики з лікувальною метою, зокрема опіоїдні анальгетики, котрі належать до препаратів центральної дії, оскільки впливають на опіоїдні рецептори центральної нервової системи [2].

Налбуфін (нубаїн) – наркотичний анальгетик, напів-синтетичний опіоїд, похідне фенантрена, є частковим агоністом κ-рецепторів та антагоністом μ-рецепторів. Опіоїдні рецептори виконують дві основні функції, що пов'язані з різними ділянками рецепторного комплексу: хімічну регуляцію та біологічну дію [3].

У науковій літературі є дані щодо дії опіоїдів на різні органи та системи – на шкіру, очне яблуко, язик, підшлункову залозу, мозочок [2–6]. Довготривалий вплив опіоїду зумовлює значні дистрофічні зміни як епідермісу, так і структурних компонентів дерми, що може сприяти виникненню шкірних захворювань [3,5]. При 42-денному впливі налбуфіну на статевозрілих щурів-самців виявлені значущі альтернативні зміни проксимальних звивистих каналців нефронів – від

зернистої дистрофії епітеліоцитів (через 2 тижні) до некротичних змін (через 4 тижні) [4]. Однак ще недостатньо вивчений вплив опіоїдних анальгетиків, зокрема налбуфіну, на лімфоїдні (імунні) органи. Особливий інтерес викликають первинні лімфоїдні органи, до яких належать тимус і червоний кістковий мозок. У загруздинній залозі щурів з опіковою травмою шкіри, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію, через 1, 3, 7, 14 діб експерименту виявлено набряк ендотеліоцитів, їхній парціальний і тотальний некроз у стінці гемокapілярів і венул, що призводить до трансмуральних дефектів, набряку та крововиливів [7].

У тимусі відбувається антигеннезалежна проліферація та диференціація субпопуляцій Т-лімфоцитів, що з мозкової речовини потрапляють у кровоносне річище та розносяться до вторинних лімфоїдних органів, де формується імунна відповідь [8]. Оскільки тимус забезпечує адекватну відповідь організму на чужорідні екзо- та ендоеантигени, актуальним є вивчення особливостей впливу опіоїдних анальгетиків на структурні компоненти часточок цього органа.

## Мета роботи

Дослідити закономірність субмікроскопічних змін структурних компонентів тимуса білих щурів-самців репродуктивного віку в динаміці шеститижневого впливу на організм опіюду налбуфіну, а також через один тиждень після його відміни.

## Матеріали та методи дослідження

Дослідження здійснили на 52 білих щурах-самцях репродуктивного віку з початковою масою 140–150 г.

Ін'єкції препарату «Налбуфін» робили внутрішньом'язово щоденно 1 раз на добу в однаковий проміжок часу (10–11 година) протягом 42 діб, підвищуючи дозу кожні 7 діб. Експериментальних тварин поділили на 8 груп: перша (5 особин) – інтактні тварини; друга група – 5 особин, яким упродовж 1 тижня щоденно вводили внутрішньом'язово опіюд налбуфіну в дозі 8 мг/кг; третя група – 5 особин, яким протягом 2 тижня дозу налбуфіну збільшили до 15 мг/кг; четверта група – 5 особин, яким упродовж 3 тижня дозу налбуфіну збільшили до 20 мг/кг; п'ята група – 5 особин, яким упродовж 4 тижня дозу налбуфіну збільшили до 25 мг/кг; шоста група – 5 особин, яким протягом 5 тижня дозу налбуфіну збільшили до 30 мг/кг; сьома група – 5 особин, яким упродовж 6 тижня дозу налбуфіну збільшили до 35 мг/кг; восьма група – 5 особин, у яких забирали матеріал через один тиждень після відміни препарату з попереднім шеститижневим впливом препарату. Контролем слугували 12 білих щурів-самців, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію.

Препарат налбуфін вводили згідно з патентом № 76564 У Україна «Спосіб моделювання фізичної опіюдної залежності у щурів» [9].

Збір матеріалу здійснили згідно з загальноприйнятими правилами. Зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-6М за допомогою алмазного ножа (DIATOM) і виконували подвійне контрастування – за Рейнольдсом та ураніацетатом [10]. Досліджували зрізи тимуса за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа TEM-100. Фотодокументували досліджуваний матеріал за допомогою цифрової камери SONY-H9.

## Результати та їх обговорення

Досліджуючи тимус інтактних тварин, виявили тимоцити типової форми з чіткими границями плазмолемі.

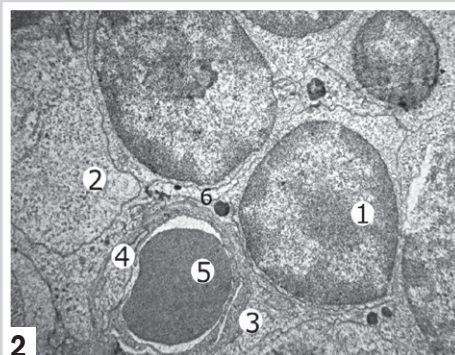
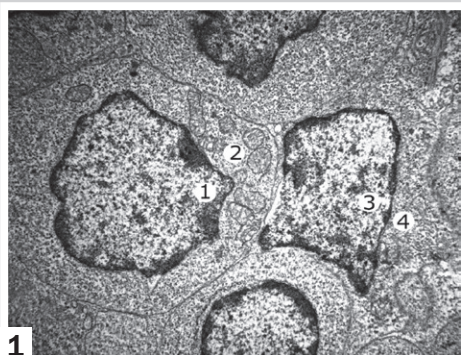
Ядерна оболонка – рівна, без випинів. У цитоплазмі чітко диференціюються органели (мітохондрії, комплекс Гольджі, ендоплазматична сітка, рибосоми). Між тимоцитами розміщені епітеліоретикулоцити, які своїми відростками утворюють «каркас» органа (рис. 1).

Через один тиждень дії налбуфіну структура тимоцитів та епітеліоретикулоцитів не змінилась. Вони мають типову форму, границі плазмолемі чіткі, у цитоплазмі диференціюються органели: мітохондрії, комплекс Гольджі, ендоплазматична сітка, рибосоми без змін. У частини тимоцитів ядра гіпертрофовані, нечисленні органели мало змінені. Контури ядерної оболонки не розмиті. Дещо розширений міжклітинний простір (рис. 2).

Через два тижні щоденного введення налбуфіну в тимусі білих щурів-самців репродуктивного віку виявлені такі субмікроскопічні зміни: міжклітинні простори розширені, контури ядер тимоцитів нерівні, дещо розмиті. Тимоцити та епітеліоретикулоцити зберігають призматичну їм форму, контури ядерної оболонки тимоцитів нерівні (рис. 3). У цитоплазмі спостерігається небагато органел, а окремі з них змінені. Отже, встановили: при нетривалому впливі налбуфіну на організм протягом 2 тижнів не відбувається значущих структурних змін у тимусі, ці процеси є компенсаторними.

Через три тижні щоденного введення налбуфіну виявлені тимоцити з пікнотичними ядрами, у каріоплазмі яких міститься нерівномірно розподілений гетерохроматин, ядерна оболонка нечітко контурована, цитоплазма тимоцита просвітлена та набрякла, міжклітинні простори розширені. Трапляються апоптично змінені тимоцити, які оточені клітинним детритом. У цитоплазмі наявні великі вакуолеподібні структури та електроннощільні вclusions (рис. 4). Збільшується кількість макрофагів.

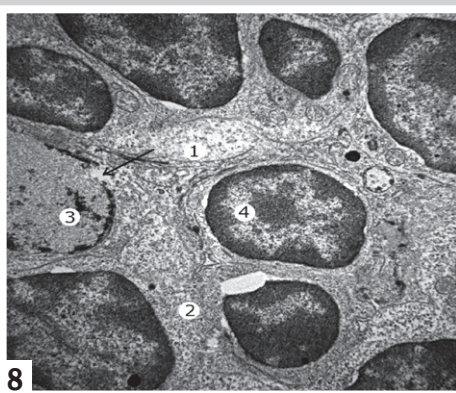
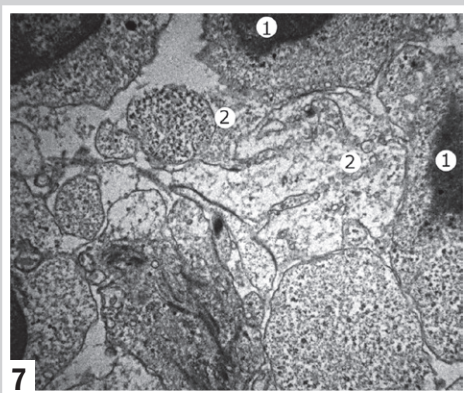
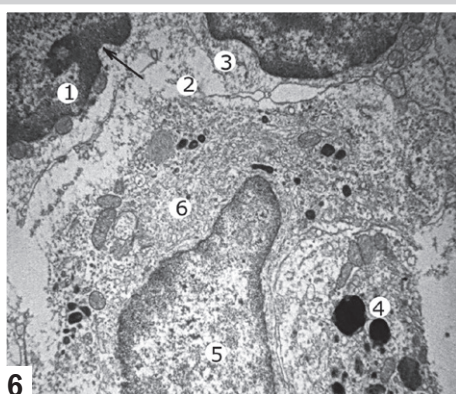
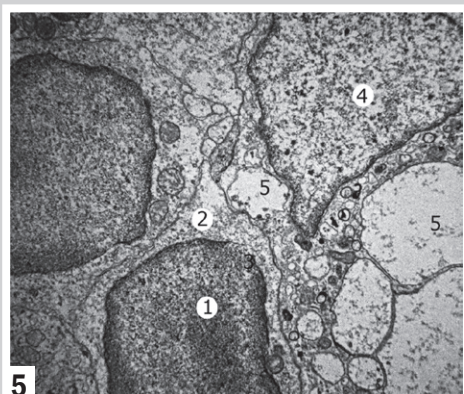
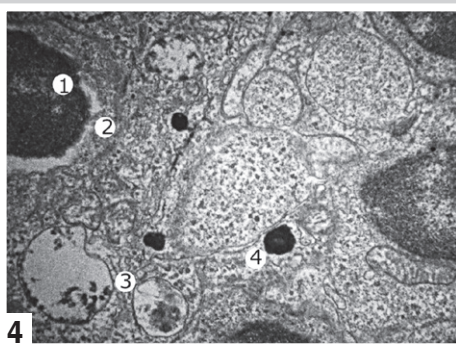
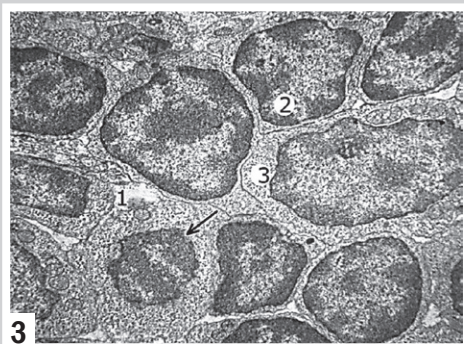
Через чотири тижні дослідження в тимусі експериментальних тварин виявлені розширення міжклітинних просторів, нечіткі границі між тимоцитами, розмиті контури ядер тимоцитів із пошкодженням цілісності, цитоплазма стоншена, просвітлена. Мітохондрії просвітлені, збільшені. Комплекс Гольджі деструктуризований. Є ознаки пікнозу ядер епітеліоретикулоцитів, органели в цитоплазмі змінені, деструктуризовані, утворюються вакуолеподібні вclusions (рис. 5). Ядра дещо набрякли, частка цитоплазми зменшена. Отже, при дії налбуфіну протягом 3–4 тижнів виникають деструктивно-дегенеративні зміни структурних компонентів.



**Рис. 1.** Субмікроскопічна організація часточки тимуса інтактного білого щура-самця. 1: ядро тимоцита; 2: цитоплазма тимоцита; 3: ядро епітеліоретикулоцита; 4: цитоплазма епітеліоретикулоцита. Електронна мікрофотографія. Зб.:  $\times 4000$ .

**Рис. 2.** Щільно розміщені тимоцити (1) в часточці загруднинної залози білого щура-самця через один тиждень дії налбуфіну; 2: епітеліоретикулоцит; 3: базальна мембрана гемокапіляра; 4: мікрроворсинки плазмолемі ендотеліоцита; 5: еритроцит у просвіті гемокапіляра; 6: розширений міжклітинний простір. Електронна мікрофотографія. Зб.:  $\times 4000$ .





**Рис. 3.** Розширений міжклітинний простір (1), ядро (2) та цитоплазма (3) тимоцита в кірковій речовині часточки за грудничної залози білого щура-самця через два тижні введення налбуфіну. Нерівні контури ядер (стрілка). Електронна мікрофотографія. 36.: ×4000.

**Рис. 4.** Електронно-щільне ядро (1) і просвітлена цитоплазма (2) тимоцита в мозковій речовині часточки тимуса білого щура-самця через три тижні дії налбуфіну; 3: вакуолеподібні утворення; 4: електронно-щільне включення. Електронна мікрофотографія. 36.: ×6000.

**Рис. 5.** Ядро (1) та цитоплазма (2) тимоцита, дефект ядерної оболонки (3), ядро (4) та вакуолізована цитоплазма (5) епітеліоретикулоцита в мозковій речовині часточки тимуса білого щура-самця через чотири тижні впливу налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: ×6000.

**Рис. 6.** Ядро тимоцита (1) із нерівними та нечіткими контурами (стрілка), пошкоджена ділянка плазмолема (2), просвітлена цитоплазма тимоцита (3), електронно-щільна структура (4), ядро епітеліоретикулоцита (5), цитоплазма епітеліоретикулоцита (6) у мозковій речовині часточки тимуса білого щура через п'ять тижнів введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: ×6000.

**Рис. 7.** Каріопікноз тимоцита (1) і клітинна деструктуризація (2) у кірковій речовині часточки тимуса білого щура-самця через шість тижнів введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: ×6000.

**Рис. 8.** Просвітлена цитоплазма тимоцита (1) у мозковій речовині часточки тимуса білого щура-самця через один тиждень після відміни налбуфіну; 2: нечіткі границі між клітинами; 3: пікнотично змінене ядро епітеліоретикулоцита, ядерна оболонка пошкоджена (стрілка); 4: ядро тимоцита. Електронна мікрофотографія. 36.: ×4000.

Через п'ять тижнів експерименту патологічні зміни нарастають: тимоцити з пікнотично зміненими електронно-щільними ядрами, ядерна мембрана місцями пошкоджена, контури ядерної оболонки тимоцитів нечіткі, в ядрі переважає конденсований хроматин (рис. 6). Міжклітинні простори значно розширені з формуванням вакуолеподібних структур. У цитоплазмі багатьох тимоцитів наявні деструктуризовані просвітлені та вакуолізовані мітохондрії. Відзначається збільшення кількості деструктивно змінених тимоцитів, епітеліоретикулоцитів і макрофагів. Спостерігаються окремі тимоцити з ознаками як апоптозної трансформації, так і гідропічної дистрофії з глибокою деструкцією органел та утворенням електронно-щільних і вакуолеподібних структур.

Через шість тижнів експерименту виявили, що контури ядер тимоцитів та епітеліоретикулоцитів нечіткі, гетерохроматин, каріо- та гіалоплазма просвітлені. Тимоцити з пікнотично зміненими електронно-щільними ядрами. Відзначається збільшення кількості деструк-

тивно змінених епітеліоретикулоцитів. У цитоплазмі багатьох тимоцитів та епітеліоретикулоцитів наявні деструктуризовані просвітлені та вакуолізовані мітохондрії, пошкоджені мембрани ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі. Тимоцити з ознаками каріопікнозу та каріолізу. Збільшується кількість деструктивно змінених клітин (рис. 7). Міжклітинні простори розширені, плазмолема та ядерна оболонка частково зруйновані. Усі патологічні зміни поглиблені.

Через один тиждень після відміни налбуфіну в тимусі експериментальних тварин структурні зміни подібні до змін у тварин попередньої групи. У частини тимоцитів відзначається каріопікноз і каріолізу. У їхній цитоплазмі спостерігалась значуща деструкція органел. Клітинна та ядерна оболонки на багатьох ділянках втрачають чіткість, частково зруйновані, численні ділянки міжклітинних просторів розширені (рис. 8). Мітохондрії деструктуризовані, зі світлим матриксом. Відзначається пошкодження мембран



комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки. Кількість деструктивно змінених клітин не зменшується. Ядра деяких епітеліоретикулоцитів пікнотичні, з нечіткими контурами ядерної оболонки. Цитоплазма просвітлена, з ознаками пошкодження органел. Отже, при тривалій дії налбуфіну впродовж 5–6 тижнів настають глибокі деструктивно-дегенеративні зміни, що навіть через тиждень після відміни препарату не відновлюються.

Клітинні зміни у структурі тимуса при дії налбуфіну подібні до змін при інших патологічних впливах на організм, тобто мають неспецифічний характер [7,8]. Однак підтвержено та доповнено закономірності динаміки змін при дії наркотичних препаратів.

## Висновки

1. Внаслідок шеститижневого впливу на організм налбуфіну, а також через один тиждень після його відміни в тимусі білих щурів-самців репродуктивного віку виявлено чітку залежність глибини та закономірності динаміки змін структурних компонентів клітинного складу від тривалості та дози введення налбуфіну.

2. При короткотривалій дії (1–2 тижні) виникають незначні структурні зміни, що пов'язані з первинною реакцією органа на дію препарату. При дії налбуфіну впродовж 3–4 тижнів виникають деструктивно-дегенеративні зміни структурних компонентів тимуса, викликані компенсаторно-приспосувальною реакцією органа. При тривалій дії налбуфіну протягом 5–6 тижнів настають глибокі деструктивно-дегенеративні зміни. Це свідчить про суб- та декомпенсацію залози, що викликана довготривалим впливом налбуфіну. Через тиждень після відміни препарату з попереднім шеститижневим впливом зворотних змін не виявили.

## Список літератури

- [1] Рощина І.О. Наркоманія: стан і проблеми боротьби з нею (сучасна парадигма) / І.О. Рощина // Вісник кримінального судочинства. – 2015. – № 2. – С. 175–180.
- [2] Бекесевич А.М. Морфологічні особливості структури кори мозочка щура в нормі та за умов тривалого впливу опію / А.М. Бекесевич // Запорозький медичний журнал. – 2015. – № 3 (90). – С. 82–85.
- [3] Матешук-Вацеба Л.Р. Ультраструктурні зміни шкіри щурів при довготривалому впливі опію / Л.Р. Матешук-Вацеба, І.С. Дісковський // Вісник української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини». – 2014. – Т.14. – Вип. 4 (48). – С. 205–208.
- [4] Вільхова І.В. Зміни структури ниркового тільця на різних термінах хронічного опію впливу / І.В. Вільхова // Світ медицини та біології. – 2014. – Т. 4. – № 46. – С. 78–81.
- [5] Дісковський І.С. Особливості мікроструктури шкіри щура за умов впливу опію / І.С. Дісковський // Експериментальна і клінічна медицина. – 2014. – №3. – С. 61–64.
- [6] Якимів Н.Я. Мікроструктурна характеристика райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів при опію впливі / Н.Я. Якимів, Ю.Я. Кривко // Світ медицини та біології. – 2013. – № 4. – С. 120–124.
- [7] Черкасов Е.В. Структурні зміни тимуса при експериментальній опію хворобі у щурів за умов лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С / Е.В. Черкасов // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10. – № 2. – С. 165–168.
- [8] Волошин В.М. Морфологічні зміни тимуса білих щурів після інгаляційного впливу епіхлоргідрину та можливість їх корекції / В.М. Волошин // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 2. Т. 1(92). – С. 131–135.
- [9] Пат. 76564 У Україна, МПК Ф 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опію залежності у щурів / заявники: Онисько Р.М., Пальтов Є.В., Фік В.Б., Вільхова І.В., Кривко Ю.Я., Якимів Н.Я., Фітькало О.С.; патентовласник: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – №U201207124; заявл. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013. Бюлетень. №1.
- [10] Саркисов Д.С. Микроскопическая техника / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина. – 1996. – С. 362.

## References

- [1] Roshchina, I. (2015). Narkomaniya: stan i problemy borotby z neiu (suchasna paradyhma) [Addiction: state and problems of struggle against it (the modern paradigm)]. *Visnyk kryminalnoho sudochynstva*, 2, 175–180. [in Ukrainian].
- [2] Bekesevych, A. M. (2015). Morfolohichni osoblyvosti struktury kory mozochka shchura v normi ta za umov tryvaloho vplyvu opioidu [Morphological features of the structure of the cerebellar cortex of rats in the norm and under prolonged exposure to the opiod]. *Zaporozhye medical journal*, 3(90), 82–85. [in Ukrainian]. doi: 10.14739/2310-1210.2015.3.44505.
- [3] Mateshuk-Vatseba, L. R., & Diskovskiy, I. S. (2014). Ultrastrukturni zminy shkiry shchuriv pry dovgotryvalomu vplyvi opioidu [Ultrastructural changes in the skin of rats under opiods exposure]. *Visnyk ukraïnskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii «Aktualni problemy suchasnoi medytsyny»*, 14, 4(48), 205–208. [in Ukrainian].
- [4] Vilkhova, I. V. (2014). Zminy struktury nyrkovoho tilsia na riznykh terminakh khronichnoho opioidnoho vplyvu [Structural changes of renal corpuscle in the late stages of chronic opiod effect]. *Svit medytsyny ta biolohiyi*, 4(46), 78–81. [in Ukrainian].
- [5] Diskovskiy, I. S. (2014). Osoblyvosti mikrostruktury shkiry shchura za umov vplyvu opioidu [Peculiarities of rat skin microstructure under influence of opiod]. *Eksperymentalna i klinichna medytsyna*, 3, 61–64. [in Ukrainian].
- [6] Yakymiv, N. Y., & Kryvko, Y. Y. (2013). Mikrostrukturna kharakterystyka rayduzhno-rohivkovoho kuta ochnoho yabluka shchuriv pry opioydnomu vplyvi [Microstructural characteristics of iridocorneal angle of the eye of rats under the influence of opiod]. *Svit medytsyny ta biolohiyi*, 4, 120–124. [in Ukrainian].
- [7] Cherkasov, E. V. (2012). Strukturni zminy tymusa pry eksperymentalni opikovii khvorobi u shchuriv za umov yii likuvannya shliakhom vnutrish-novennoi infuzii laktoproteinu-S [Changes of thymic structure during experimental burn disease in rat under the condition of its treatment by the intravenous infusion of lactoproteinum-S]. *Ukrayinskyi morfolohichnyi almanakh*, 10(2), 165–168. [in Ukrainian].
- [8] Voloshin, V. M. (2012). Morfolohichni zminy tymusa bilykh shchuriv pislia inhalatsiynoho vplyvu epikhlorhidrynu ta mozhlyvist yikh korektsii [Morphological Changes In Thymus Of White Rats After Inhalation Of Epichlorhydrin And The Possibility Of Their Correction]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 2, 1(92), 131–135. [in Ukrainian].
- [9] Onysko, R. M., Paltov, Ye. V., Fik, V. B., Vilkhova, I. V., Kryvko, Yu. Ya., Yakymiv, N. Ya., & Fitkalo, O. S. (patentee) (2013) Patent 76564 U Ukrainy, MPK F 61 K 31/00 Sposib modeliuвання fizychnoi opioidnoi zalezhnosti u shchuriv [Patent 76564 U Ukraine, IPC F 61 K 31/00 Method for modeling physical opiod dependence in rats]. *Biuletyn*, 1. [in Ukrainian].
- [10] Sarkisov, D. S., & Perova, Yu. L. (1996). *Mikroskopicheskaya tehnika* [Microscopic technology]. Moscow: Medicina. [in Russian].

## Відомості про авторів:

Гарапко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. анатомії людини та гістології, медичний факультет, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна.  
Головацький А. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. анатомії людини та гістології, медичний факультет, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна.

## Сведения об авторах:

Гарапко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. анатомии человека и гистологии, медицинский факультет, ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина.  
Головацкий А. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. анатомии человека и гистологии, медицинский факультет, ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина.

## Information about authors:

Harapko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Uzhhorod National University, Ukraine.  
Holovatskyi A. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Human Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Uzhhorod National University, Ukraine.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 17.07.2017

Після доопрацювання / Revised: 22.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 28.09.2017

# Peculiarities of lymphocytes emigration from newborn thymus

O. A. Grygorieva, O. A. Apt

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

**Key words:**

thymus,  
lymphocytes,  
lymphatic vessels,  
mast cells.

**Pathologia**

2017; 14 (3), 358–363

**DOI:**

10.14739/2310-1237.  
2017.3.118765

**E-mail:**

elengrig212@gmail.com

**Introduction.** Mechanisms of mass lymphocytes' emigration from thymus are still unclear. The process of lymphocytes migration and mechanisms, which provide it, form one of the important problems of immunomorphology.

**Aim** of the work: to establish the peculiarities of newborn thymus structure and to reveal pathways and mechanisms which provide lymphocytes' emigration from thymus.

**Materials and methods.** Morphological, histological and histochemical analyses of 160 rats' thymuses from birth up to the 7<sup>th</sup> day after birth were conducted and discussed. The animals were handled according to the European Commission Directive (86/609/EEC). The profound microscopic analysis of cell contents, lymphatic vessels morphology in morpho-functional areas of rats' thymuses during the first week after birth in 4 hours interval was carried out. All quantitative results were estimated by the statistic methods.

**Results.** It is settled that thymus specific density tightly depends on the quantity of degranulated mast cells, absolute quantity of microcirculatory vessels, especially of lymphatic ones. The index of specific density, lymphocyte-epithelial index change wavy during the first week after birth every 12 hours. These changes are followed by the changes of extracellular matrix structure, absolute quantity of small lymphocytes in thymic cortex and lymphocytes' adhesive properties. The key periods are: from 0 till 2, from 12 till 16, and from 108 till 120 hours after birth. At that time discrete migration of lymphocytes from the thymus occurs through paravascular lymphatic vessels. After temporal edema reduction, lymphatic vessels turn to be empty, their quantity decreases.

**Conclusion.** Therefore, emigration of lymphocytes from thymus takes place through lymphatic vessels on the top of periodical short-term local edema.

**Ключові слова:**

тимус, лімфоцити,  
лімфатичні судини,  
тучні клітини.

**Патологія. – 2017. –**

**Т. 14, № 3(41). –**  
**С. 358–363**

## Особливості еміграції лімфоцитів із тимуса

О. А. Григор'єва, О. А. Апт

Сьогодні активно досліджуються механізми еміграції тимоцитів із тимуса на периферію, але вони й досі залишаються не вивченими.

**Мета роботи** – описати структурні особливості будови тимуса новонароджених, визначити шляхи та механізми, що забезпечують процес еміграції лімфоцитів із тимуса.

**Матеріали та методи.** Здійснили морфологічне, гістологічне, гістохімічне дослідження препаратів 160 тимусів білих щурів від моменту народження до 7 доби життя. Під час роботи з експериментальними тваринами керувалися «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986). Догляд за тваринами здійснювали відповідно до норм і вимог, що розроблені згідно з кодексом Ради міжнародних медичних організацій «Міжнародні рекомендації для проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин». Досліджували кількість лімфоцитів, епітеліоретикулоцитів, тучних клітин, кровоносних і лімфатичних судин у морфофункціональних ділянках тимуса щурів протягом першого тижня після народження через інтервал 4 години. Кількісні дані опрацювали методами варіаційної статистики.

**Результати.** Запропонували гіпотезу міграції тимоцитів із тимуса через лімфатичні судини під час періодичного короточасного локального набряку. Встановлено, що у новонароджених, починаючи з 8 години життя, кожні 12 годин збільшуються питома щільність тимуса, абсолютна кількість судин мікроциркуляторного річища, особливо лімфатичних, лімфо-епітеліальний індекс, кількість тучних клітин та їхніх дегранулятивних форм. Змінюються структура екстрацелюлярної матриці, внутрішньотимічного мікросередовища та адгезивні властивості лімфоцитів. Абсолютна кількість дрібних лімфоцитів у корковій речовині тимуса хвилеподібно коливається. Всі ці зміни яскраво виражені з 0 до 2, із 12 до 16, з 108 до 120 годин післянатального життя. У цей період паравазальні лімфатичні судини щільно заповнені лімфоцитами, тобто відбувається дискретна міграція лімфоцитів із тимуса. Після швидкого зменшення набряку кількість лімфатичних судин падає, вони стають порожніми.

**Висновки.** У тимусі новонародженого спостерігається періодичний короточасний локальний набряк, на піку якого виникає дискретна міграція лімфоцитів із тимуса.

**Ключевые слова:**

тимус, лимфоциты,  
лимфатические  
сосуды,  
тучные клетки.

**Патологія. – 2017. –**

**Т. 14, № 3(41). –**  
**С. 358–363**

## Особенности эмиграции лимфоцитов из тимуса

Е. А. Григорьева, О. А. Апт

Механизмы, обеспечивающие массовую эмиграцию лимфоцитов из тимуса, до сих пор остаются не изученными. Процесс миграции лимфоцитов и механизмы, обеспечивающие его, формируют одну из важных задач иммуноморфологии.

**Цель работы** – описать структурные особенности строения тимуса новорожденных, выявить пути и механизмы, обеспечивающие эмиграцию лимфоцитов из тимуса.

**Материалы и методы.** Провели морфологическое, гистологическое и гистохимическое изучение препаратов 160 тимусов белых крыс от момента рождения до 7 суток жизни. При работе с животными руководствовались «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях» (Страсбург, 18.03.86). Уход за животными осуществляли в соответствии с нормами и требованиями, разработанными согласно кодексу Совета международных медицинских организаций «Международные рекомендации для проведения медико-биологических исследований с использованием животных». Исследовали количество лимфоцитов, эпителио-ретикулоцитов, тучных клеток, кровеносных и лимфатических сосудов в морфофункциональных зонах тимуса крыс в течение первой недели жизни через 4-часовые интервалы. Полученные количественные данные обработаны методами вариационной статистики.

**Результаты.** На основании полученных данных предложена гипотеза о механизмах эмиграции лимфоцитов из тимуса через лимфатические сосуды во время периодического кратковременного местного отека. Установлено, что у новорожденных, начиная с 8 часов после рождения, каждые 12 часов увеличиваются удельная плотность тимуса, абсолютное количество сосудов микроциркуляторного русла, особенно лимфатических, лимфо-эпителиальный индекс, количество тучных клеток и их дегранулированных форм. Изменяется структура экстрацеллюлярного матрикса, внутритимического микроокружения и адгезивная способность лимфоцитов. Абсолютное количество малых лимфоцитов в коре тимуса волнообразно колеблется. Все эти изменения были максимально выражены с 0 до 2, с 12 до 16, со 108 до 120 часов постнатальной жизни. На протяжении этих периодов паравазальные лимфатические сосуды заполнены лимфоцитами. Таким образом, имеет место дискретный тип миграции лимфоцитов из тимуса. После быстрого уменьшения отека количество лимфатических сосудов сокращается, они опустевают.

**Выводы.** В тимусе новорожденных наблюдается периодический кратковременный местный отек, на пике которого происходит дискретная миграция лимфоцитов из тимуса.

## Introduction

During the first hours after birth settling of peripheral lymphoid organs by T-lymphocytes takes place [7,8]. Among T-lymphocytes, which settle peripheral lymphoid organs during first hours after birth there are immunological immature T-lymphocytes,  $\gamma\delta$ -T-lymphocytes, which conduct function of morphogenesis control in peripheral lymphoid and non-lymphoid organs [7]. Mechanisms of mass lymphocytes' emigration from thymus are still unclear. Nowadays lymphocytes migration and mechanisms, which provide it, are of great interest [4,5,8]. Attention is paid to the entrance of pre-T-lymphocytes into thymus [3,6] and to the intrathymical migration of lymphocytes during maturation and differentiation [1,2]. Emigration of lymphocytes from thymus is less understood. Pathways and mechanisms, which provide it, are also still unclear.

According to the data of '70s of last century, post-capillary veins of thymus medulla are the main place of lymphocytes' emigration. According to Yarilin's opinion (1991) cortico-medullary junction of thymus is the main place of T-lymphocytes' emigration from thymus after they have gone positive or negative selection and differentiation [11]. Forced emigration of T-lymphocytes from thymus before and after birth according to this data is provided by development of cholinergic innervations of thymus. Mori et. al. (2007) consider that perivascular spaces of cortico-medullary junction is a place of pre-T-cells immigration into the thymus as well as a place of mature T-cells emigration from the thymus [4]. But the problem of perivascular spaces structure and origin is still unsolved.

**Aim of the work:** to establish the peculiarities of newborn thymus structure and to reveal pathways and mechanisms which provide lymphocytes' emigration from thymus.

## Materials and methods

Object of investigation – 173 rats' thymuses from the birth up to the 7<sup>th</sup> day after birth. Newborns were obtained from rats with established day of pregnancy. Newborns were

born on the 23–24<sup>th</sup> day of pregnancy at different daytime. All animals were kept under standard stable conditions (temperature:  $20 \pm 2$  °C, relative humidity:  $50 \pm 5$  %, lighting from 8:00 to 20:00, a Panlab balanced diet and water ad libitum). The animals were handled according to the European Commission Directive (86/609/EEC). Rats were sacrificed by decapitation under ether narcosis with interval of 4 hours up to the 48<sup>th</sup> hour after birth and with interval of 12 hours up to the 7<sup>th</sup> day after birth. Shape, mass and volume of thymus were investigated, specific density of thymus was estimated. For histological investigation of thymus organs were fixed in Bouen solution. Samples were stained with PAS-reactive, with hematoxylinum-eosinum. Cell contents of thymus was analyzed, lymphocyte-epithelial index was estimated. Microcirculatory vessels of thymus were revealed under impregnation of samples by silver carbonate after Laidlaw. Absolute number of mast cells and its dynamics in thymus capsule, interlobular septa and along vessels of cortico-medullary region were examined. Glycosaminoglycans were revealed by staining of samples with alcian blue (pH 2.6) after Scott & Dorling. All the quantitative results were estimated by the statistic methods,  $M \pm m$ , the results were considered significant at  $P < 0.05$ .

## Results and discussion

Specific density of newborn thymus is  $1.066 \pm 0.020$  mg/mm<sup>3</sup>. The majority of cells is represented by small lymphocytes. The highest solidity of cells is in cortex ( $55.50 \pm 6.26$ ). Maximal lymphocyte-epithelial index is also in this morpho-functional zone (29.5). By means of histological samples staining with silver carbonate after Laidlaw we came to the conclusion that perivascular spaces of medulla and cortico-medullary junction of the thymus were perivascular lymphatic vessels, evidence of which was explained by Sviridov (1966) [10]. Maximal contents of microcirculatory vessels are revealed in cortico-medullary junction (Table 2). Capillaries are predominated over. Absolute number of perivascular lymphatic vessels is  $5.60 \pm 0.22$ .



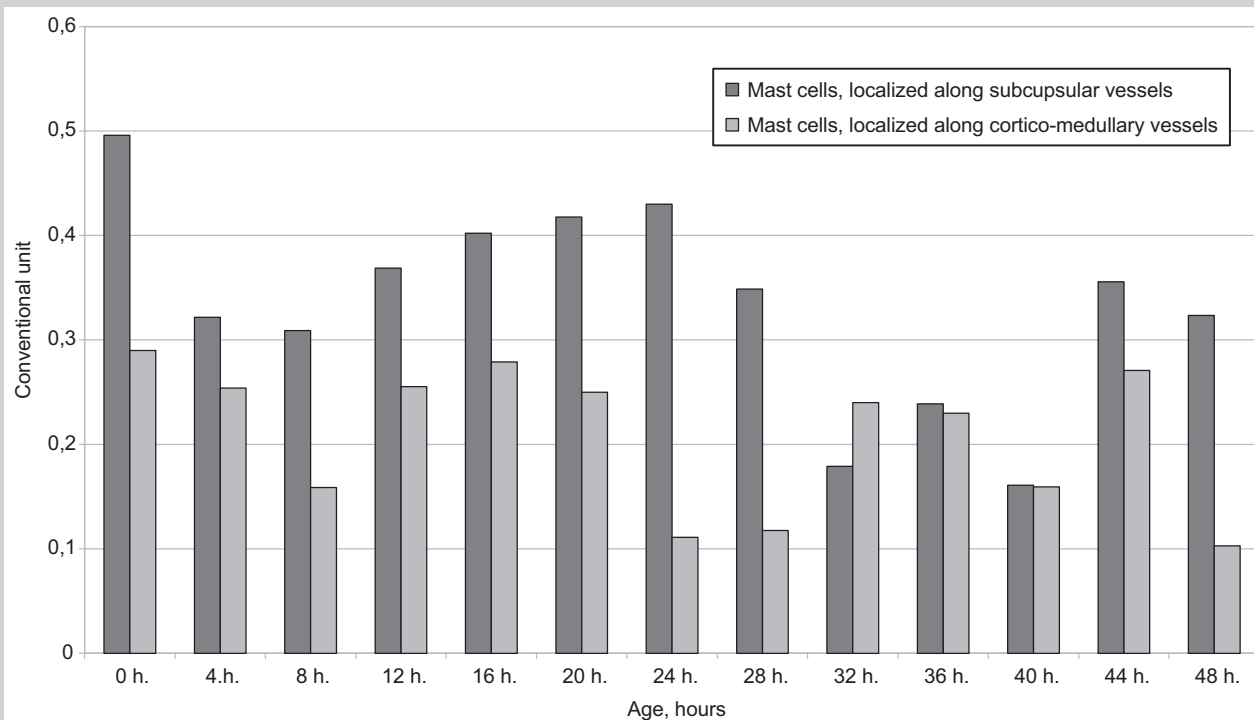


Fig. 1. Dynamics of mast cells degranulation index in rat thymus in early postnatal period.

Number of mast cells is nearly maximal (Table 3). Mast cells are settled in groups consisting of 3–4 cells in the inner cortical region and along vessels of thymus capsule, where its specific solidity is higher ( $1.36 \pm 0.31$ ) than along blood vessels of cortico-medullary junction ( $0.91 \pm 0.20$ ). The number of degranulated mast cells situated along capsular vessels is the highest one (Fig. 1).

All types of glycosaminoglycans are present in thymus. Contents of glycosaminoglycans in newborn thymus are rather high. Sulfated glycosaminoglycans are predominated. Alcianofilic contents are present in thymus epithelial channels up to 6 hour after birth. Contents of hyaluronic acid increase in the contents of thymus extracellular matrix, in interlobular septa, in the walls of blood vessels up to 6 hour after birth. This fact causes the increasing of hydrophilicity of thymus.

During 8 hours after birth specific density of thymus decreases (Table 1). Lymphocyte-epithelial index also decreases (Fig. 2).

The number of perivascular lymphatic vessels decreases nearly by 3.5 times in medulla and in cortico-medullary junction (Table 2). Absolute number of mast cells decreases (Table 3) and the number of degranulated mast cells also decreases (Fig. 1).

At the 16<sup>th</sup> hour after birth specific density of thymus is the highest one (Table 1), lymphocyte-epithelial index in cortex is the lowest one (Fig. 2), number of perivascular lymphatic vessels increases in medulla as well as in cortico-medullary junction (Table 2). Degranulative index of mast cells increases (Fig. 1), but the number of mast cells itself a little bit decreases (Table 3). Contents of hyaluronic acid in interlobular septa, in blood vessels' walls are still high up to the end of the 1<sup>st</sup> day after birth.

Amount of hyaluronic acid in the contents of epithelial congestions increases.

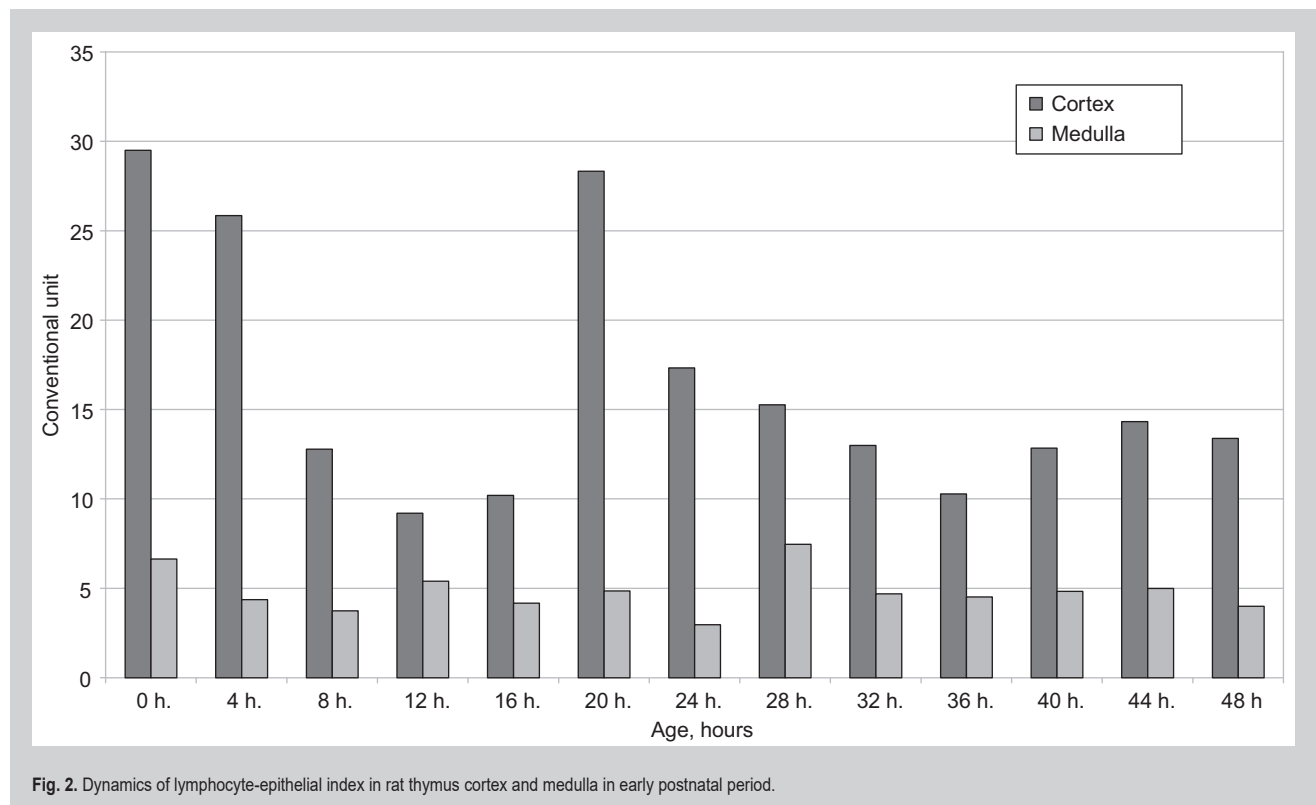
At the 20<sup>th</sup> hour after birth rapid increasing of lymphocyte-epithelial index in cortex is revealed. This index slowly decreases up to the 36<sup>th</sup> hour after birth, then up to the 108<sup>th</sup> hour of postnatal life it hardly changes. From the 108<sup>th</sup> hour after birth up to the 120<sup>th</sup> hour after birth lymphocyte-epithelial index is still low, but up to the 132<sup>nd</sup> hour of postnatal life it increases and hardly changes up to the end of the 1<sup>st</sup> week after birth (Fig. 2).

Specific density of thymus changes wavy during the first week of postnatal life (Table 1). The highest specific density is fixed at the 16<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup>, 72<sup>nd</sup> and 120<sup>th</sup> hour after birth. Number of perivascular lymphatic vessels also changes wavy during the first week after birth. The highest number of this kind of microcirculatory vessels is revealed on the 1<sup>st</sup>, 16<sup>th</sup>, 36<sup>th</sup>, 72<sup>nd</sup> and 144<sup>th</sup> hour of postnatal life (Table 2). The most marked changes of mast cells' degranulative index are revealed during two days after birth and from the 108<sup>th</sup> up to the 132<sup>nd</sup> hour of postnatal life (Fig. 1). The contents and composition of thymus extracellular matrix glycosaminoglycans change up to the end of the 1<sup>st</sup> day of life. Increasing of sulfated glycosaminoglycans amount takes place.

Increasing of capillary permeability is the base of any edema. It may be caused by different effects, one of which is increasing of histamine level in blood plasma and in extracellular matrix of tissues. Increasing of fluid amount in interstitium leads to passive opening of lymphatic vessels by means of anchor filaments. High index of thymus volume on the background of low index of relative mass and specific density is revealed during first hours after birth [9]. Later on relative mass of thymus and its specific

**Table 1.** Dynamics of absolute, average mass of thymus, its specific density and volume in early postnatal period

Age of animals, hours	Average mass of the rats, mg	Absolute thymus mass, mg	Average thymus mass, %	Specific gravity of thymus, mg/mm <sup>3</sup>	Thymus volume, mm <sup>3</sup>
0 (n = 7)	5664.29 ± 461.23	9.07 ± 1.43	0.16 ± 0.02	1.066 ± 0.020	8.45 ± 1.37
2 (n = 6)	5651.67 ± 642.56	8.50 ± 1.40	0.15 ± 0.02	1.064 ± 0.020	8.02 ± 1.51
4 (n = 8)	5892.86 ± 522.86	11.43 ± 2.41	0.19 ± 0.03	1.065 ± 0.010	10.74 ± 2.27
6 (n = 6)	5311.67 ± 305.23	10.08 ± 0.59	0.19 ± 0.01	1.068 ± 0.030	9.44 ± 0.59
8 (n = 6)	5400.00 ± 879.56	9.92 ± 2.44	0.18 ± 0.01	1.078 ± 0.010	9.19 ± 1.78
10 (n = 6)	5150.29 ± 527.68	8.45 ± 1.37	0.17 ± 0.01	1.080 ± 0.010	7.89 ± 1.54
12 (n = 6)	4834.00 ± 695.18	7.70 ± 1.35	0.16 ± 0.01	1.082 ± 0.020	7.11 ± 1.15
16 (n = 6)	6750.00 ± 134.19	11.25 ± 1.64	0.17 ± 0.02	1.082 ± 0.010	10.27 ± 1.64
20 (n = 6)	6451.67 ± 1086.58	11.75 ± 1.56	0.18 ± 0.03	1.080 ± 0.010	12.40 ± 1.81
24 (n = 6)	5446.67 ± 853.99	9.83 ± 0.85	0.18 ± 0.01	1.074 ± 0.020	9.77 ± 0.25
28 (n = 6)	5698.33 ± 498.44	9.42 ± 1.14	0.17 ± 0.03	1.099 ± 0.030	8.60 ± 1.12
32 (n = 7)	6118.57 ± 251.49	9.86 ± 1.99	0.16 ± 0.03	1.084 ± 0.020	9.09 ± 1.84
36 (n = 7)	6390.00 ± 938.90	9.25 ± 1.54	0.15 ± 0.02	1.057 ± 0.010	8.77 ± 1.55
40 (n = 6)	7556.67 ± 736.29	13.75 ± 1.98	0.18 ± 0.01	1.052 ± 0.020	13.11 ± 2.05
44 (n = 7)	8342.86 ± 806.07	15.36 ± 2.89	0.18 ± 0.03	1.063 ± 0.020	14.46 ± 2.79
48 (n = 6)	5566.00 ± 412.38	10.60 ± 2.39	0.19 ± 0.04	1.071 ± 0.020	9.92 ± 2.28
54 (n = 6)	5895.00 ± 371.84	10.66 ± 1.46	0.18 ± 0.02	1.055 ± 0.010	10.10 ± 1.34
60 (n = 5)	7974.00 ± 745.36	16.00 ± 2.15	0.20 ± 0.01	1.048 ± 0.020	15.33 ± 2.33
66 (n = 6)	8008.33 ± 999.49	15.83 ± 2.34	0.20 ± 0.01	1.050 ± 0.010	15.03 ± 2.24
72 (n = 7)	7890.00 ± 1018.83	15.71 ± 2.05	0.20 ± 0.13	1.059 ± 0.020	14.81 ± 2.06
84 (n = 6)	6892.0 ± 617.27	13.90 ± 2.75	0.20 ± 0.04	1.067 ± 0.010	13.03 ± 2.59
96 (n = 6)	9248.00 ± 1224.30	19.50 ± 2.66	0.21 ± 0.01	1.070 ± 0.010	18.24 ± 2.49
108 (n = 6)	9762.00 ± 2281.95	21.20 ± 5.47	0.22 ± 0.03	1.060 ± 0.010	20.04 ± 5.28
120 (n = 6)	9978.33 ± 1375.05	22.92 ± 4.47	0.23 ± 0.02	1.067 ± 0.011	21.54 ± 4.39
132 (n = 7)	11071.67 ± 721.66	22.58 ± 5.37	0.20 ± 0.04	1.059 ± 0.008	21.38 ± 5.21
144 (n = 6)	11621.67 ± 996.96	26.58 ± 1.31	0.23 ± 0.02	1.058 ± 0.003	25.13 ± 1.32
156 (n = 5)	12520.00 ± 1715.3	27.10 ± 6.64	0.21 ± 0.04	1.062 ± 0.010	25.55 ± 6.32
168 (n = 5)	11942.0 ± 1406.48	27.20 ± 1.29	0.23 ± 0.02	1.052 ± 0.006	25.85 ± 1.66

**Fig. 2.** Dynamics of lymphocyte-epithelial index in rat thymus cortex and medulla in early postnatal period.

**Table 2.** Dynamics of microcirculatory vessels number in rat thymus (per 8640 mcm<sup>2</sup>) in early postnatal period

Animals age, hours	"Peripheral" parts of thymus lobules		"Central" parts of thymus lobules		
	Total number of microcirculatory vessels	Blood capillaries	Total number of microcirculatory vessels	Blood capillaries	Perivascular lymphatic capillaries
0	18.72 ± 1.44	14.40 ± 2.20	27.69 ± 4.16	16.00 ± 4.80	5.60 ± 0.22
2	16.00 ± 3.30	11.60 ± 2.20	27.50 ± 2.75	15.50 ± 2.75	5.50 ± 1.38
4	16.70 ± 0.71	11.40 ± 3.90	16.89 ± 3.67	8.44 ± 2.44	2.2 ± 0.10
6	14.29 ± 3.14	10.57 ± 1.57	15.20 ± 2.75	5.60 ± 0.55	2.60 ± 0.55
8	21.20 ± 3.30	13.20 ± 1.10	16.00 ± 2.75	6.67 ± 1.83	1.33 ± 0.21
10	18.43 ± 1.44	10.56 ± 0.92	16.34 ± 2.06	6.89 ± 0.61	2.25 ± 0.15
12	15.67 ± 0.92	8.33 ± 1.83	17.30 ± 0.92	7.00 ± 1.83	3.30 ± 0.05
16	16.00 ± 1.83	12.00 ± 1.83	16.00 ± 3.67	6.67 ± 0.15	5.33 ± 1.03
20	15.50 ± 1.38	11.00 ± 1.38	21.33 ± 2.06	8.00 ± 0.61	4.59 ± 0.61
24	14.57 ± 0.78	9.14 ± 0.78	17.75 ± 2.06	7.50 ± 1.38	5.00 ± 0.69
28	16.00 ± 0.92	11.67 ± 1.83	17.25 ± 2.06	7.00 ± 1.33	2.25 ± 0.69
32	15.33 ± 1.83	13.33 ± 0.92	20.25 ± 2.06	11.50 ± 1.33	2.50 ± 0.69
36	15.67 ± 0.92	13.30 ± 1.83	17.33 ± 1.83	8.33 ± 0.92	4.50 ± 0.92
40	14.75 ± 1.38	12.00 ± 1.38	22.00 ± 1.83	12.67 ± 1.83	3.33 ± 0.92
44	12.50 ± 0.10	9.50 ± 1.38	20.67 ± 1.83	14.00 ± 1.83	2.67 ± 0.92
48	14.50 ± 0.69	8.75 ± 0.69	25.20 ± 2.20	14.40 ± 2.20	4.50 ± 1.10
54	14.80 ± 1.11	12.40 ± 2.20	21.33 ± 1.83	13.30 ± 1.83	2.33 ± 0.92
60	16.30 ± 1.83	13.00 ± 1.83	20.50 ± 1.38	12.25 ± 1.38	2.50 ± 0.69
66	11.43 ± 1.57	9.71 ± 1.57	22.00 ± 4.40	12.80 ± 3.30	4.80 ± 1.10
72	13.30 ± 1.83	9.33 ± 0.92	19.71 ± 1.57	8.57 ± 0.79	4.00 ± 0.79
84	12.20 ± 0.92	7.67 ± 0.92	21.75 ± 3.44	15.00 ± 2.75	4.00 ± 1.38
96	12.57 ± 1.57	7.71 ± 1.57	22.86 ± 1.57	10.86 ± 1.57	3.71 ± 0.79
108	14.25 ± 1.38	6.25 ± 0.69	23.60 ± 1.57	8.80 ± 2.20	4.11 ± 1.10
120	9.20 ± 1.1	6.00 ± 1.10	21.67 ± 1.83	10.33 ± 1.83	4.00 ± 0.92
132	12.00 ± 1.57	11.14 ± 1.57	26.00 ± 2.75	12.00 ± 1.83	3.67 ± 0.92
144	14.00 ± 1.82	8.67 ± 1.82	24.80 ± 2.20	12.80 ± 2.20	3.71 ± 0.79
156	14.00 ± 0.69	11.75 ± 1.33	18.00 ± 2.75	8.50 ± 0.69	3.75 ± 0.69
168	11.00 ± 1.38	6.00 ± 1.38	20.33 ± 0.92	10.00 ± 1.83	2.33 ± 0.92

**Table 3.** Dynamics of absolute number of mast cells in rat thymus (per 8640 mcm<sup>2</sup>) in early postnatal period

Animals age, hours	Mast cells, localized below thymus capsule and along interlobular septas of thymus	Mast cells, localized along vessels of cortico-medullary region
0	2.56 ± 0.59	1.70 ± 0.37
2	1.88 ± 0.43	1.74 ± 0.30
4	1.60 ± 0.35	1.09 ± 0.29
6	1.67 ± 0.37	0.72 ± 0.26
8	1.77 ± 0.36	1.36 ± 0.29
10	1.98 ± 0.37	1.24 ± 0.26
12	2.15 ± 0.39	1.13 ± 0.35
16	1.98 ± 0.38	0.92 ± 0.29
20	1.53 ± 0.48	1.40 ± 0.39
24	1.74 ± 0.43	0.95 ± 0.30
28	1.64 ± 0.39	0.89 ± 0.31
32	1.02 ± 0.36	0.92 ± 0.31
36	1.06 ± 0.35	0.85 ± 0.26
40	1.57 ± 0.41	1.23 ± 0.34
44	1.84 ± 0.56	0.95 ± 0.33
48	1.43 ± 0.47	1.47 ± 0.48
54	2.05 ± 0.57	1.81 ± 0.50
60	0.82 ± 0.32	0.65 ± 0.30
66	1.06 ± 0.39	0.82 ± 0.31
72	1.33 ± 0.39	0.78 ± 0.29
84	1.43 ± 0.41	0.51 ± 0.22
96	1.67 ± 0.50	1.50 ± 0.49
108	1.53 ± 0.37	0.65 ± 0.24
120	2.12 ± 0.52	1.10 ± 0.36
132	1.79 ± 0.48	1.02 ± 0.27
144	1.79 ± 0.47	0.96 ± 0.30
156	2.28 ± 0.51	0.99 ± 0.33
168	0.96 ± 0.28	0.51 ± 0.23

density increase but thymus volume decreases (*Table 1*). Increasing of specific density index is also fixed at the 24<sup>th</sup>, 48<sup>th</sup>, 64<sup>th</sup> hours after birth.

Tissue of newborns thymus is under conditions of respiratory acidosis which takes place during transferring of the body into extrauterine conditions. Increasing of thymus volume may be explained because of its hydration, that is by development of physiological edema.

During the first hours after birth the number of perivascular lymphatic vessels is the highest. On this background erythrocytes' capillary sludge is usually revealed. Contents of mast cells in newborn thymus are also high. Degranulative index of mast cells is the highest in newborns. Histamine secretion into extracellular matrix of thymus takes place during mast cells degranulation. Histamine increases capillary permeability as well as permeability of extracellular matrix and increases hydrophilicity of thymus tissue.

All the mentioned reflects development of thymus tissue edema. In the absence of inflammation or any other tissue impairment, hyperhydration of tissue may be concerned as physiological edema, which takes place in newborns tissues as reflection of respiratory acidosis.

During the first hours after birth lymphocyte-epithelial index rapidly decreases, but the number of destroyed cells is not increased. This fact points on lymphocytes' emigration from thymus. Obtained results coordinate with our previous results of Voloshyn et al. (2002, 2005) for lymphocytes' entrance in spleen, skin and other lymphoid and nonlymphoid organs during this period of life [7,8].



Lymphocytes have got less energy capacity that is why they cannot themselves provide massive active emigration from thymus. So, lymphocytes' emigration from thymus must be a passive process. Opened lymphatic vessels are a convenient way. During edema development interstitial pressure changes and lymphocytes with interstitial fluid stream pass through lymphatic vessels and leave the thymus. This universal mechanism is caused by periodical thymus edema (increasing of tissue hydration).

## Conclusions

It is established that lymphocytes emigration from thymus takes place through perivascular lymphatic vessels and is provided by development of discrete local physiological edema.

## Сведения об авторах:

Григорьева Е. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Апт О. А., канд. мед. наук, доцент каф. анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 07.09.2017

Після доопрацювання / Revised: 28.09.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.10.2017

## References

- [1] Crisa, L., Cirulli, V., Ellisman, M. H., Ishii, J. K., Elices, M. J., & Salomon, D. R. (1996) Cell adhesion and migration are regulated at distinct stages of thymic T cell development: the roles of fibronectin, VLA4, and VLA5. *J. Exp. Med.*, 184(1), 215–28. doi: 10.1084/jem.184.1.215.
- [2] Jotereau, F., Heuze, F., Salomon-Vie, V., & Gascan, H. (1987) cell kinetics in the fetal mouse thymus: precursor cell input, proliferation, end emigration. *J. of Immunology*, 138(4), 1026–1030.
- [3] Kawakami, N., Nishizawa, F., Sakane, N., Iwao, M., Tsujikawa, K., Ikawa, M., et al. (1999) Roles of integrins and CD44 on the adhesion and migration of fetal liver cells to the fetal thymus. *J. of Immunology*, 163, 3211–3216.
- [4] Mori, K., Itoi, M., Tsukamoto, N., Kubo, H., & Amagai, T. (2007) The perivascular space as a path of hematopoietic progenitor cells and mature T cells between blood circulation and the thymic parenchyma. *International Immunology*, 19(6), 745–753. doi: 10.1093/intimm/dxm041.
- [5] Weinreich, M. A., & Hogquist, K. A. (2008) Thymic emigration: when and how T cells leave home. *The journal of immunology*, 181, 2265–2270. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.4.2265>.
- [6] Wilkinson, B., Owen, J. J., & Jenkinson, E. J. (1999) Factors regulating stem cell recruitment to the fetal thymus. *J. Immunology*, 162, 3873–3881.
- [7] Voloshyn, M. A. (2005) Limfotsyt – faktor morfoheneza [Lymphocyte is a factor of morphogenesis]. *Zaporozhye medical journal*, 3, 122 [in Ukrainian].
- [8] Voloshyn, N. A., Karzow, M. V., Grigoreva, E. A., Kusch, O. G., Medvedev, A. E., & Popravko, M. I. (2002). Vnutritrobnoe vvedenie antigena – model' dlya izucheniya processov morfoheneza limfoidnykh organov [Intrauterine antigen injection – a model for studying the processes of morphogenesis of lymphoid organs]. *Tavrisheskij mediko-biologicheskij vestnik*, 5(3), 43–46 [in Russian].
- [9] Voloshin, N. A., & Grigor'eva, E. A. (2011) Timus novorozhdennykh [Thymus of newborns]. *Zaporizhzhia: ZGMU* [in Russian].
- [10] Sviridov, A. I. (1966) Anatomicheskij atlas limfaticeskikh kapillyarov [Anatomical atlas of lymphatic capillaries]. Kyiv: Zdorovya [in Russian].
- [11] Yarinin, A. A., Pinchuk, V. G., & Grinevich, Yu. A. (1991) Struktura tymusa I differencirovka T-limfocitov [Thymus structure and differentiation of T-lymphocytes]. Kyiv: Nauka [in Russian].

## Information about authors:

Grygorieva O. A., MD, PhD, DSc, Professor,  
Head of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Apt O. A., MD, PhD, Associated Professor of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Григор'єва О. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Апт О. А., канд. мед. наук, доцент каф. анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Современные подходы и новые методические возможности в оценке функционального состояния мелких лабораторных животных

Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, А. В. Абрамов, М. Ю. Колесник, Т. В. Иваненко, С. В. Тищенко, М. В. Данукало, М. И. Федотова

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

**Ключевые слова:** диагностика функционального состояния сердца, эхокардиография, электрокардиография, биоимпедансометрия, артериальное давление, крысы.

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 364–370

**DOI:** 10.14739/2310-1237.2017.3.118770

**E-mail:** gancheva@zsmu.pp.ua

**Ключові слова:** діагностика функціонального стану серця, ехокардіографія, електрокардіографія, біоім-педансометрія, артеріальний тиск, щури.

**Патологія.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 364–370

**Key words:** heart function tests, echocardiography, electrocardiography, bioimpedance measurement, arterial pressure, rats.

**Pathologia** 2017; 14 (3), 364–370

Современные биомедицинские исследования, проводимые в научных лабораториях, являются базисом не только для изучения патогенетических механизмов формирования и прогрессирования болезней – сегодня они широко используются для разработки высокоинформативных методов диагностики, создания новых лекарственных препаратов, изучения влияния на организм вновь разрабатываемых фармсоединений с оценкой их потенциальной эффективности. В статье освещены новые подходы и возможности оценки функционального состояния мелких лабораторных животных с учетом современных международных требований к проведению исследований и интерпретации полученных результатов.

### Сучасні підходи та нові методичні можливості в оцінюванні функціонального стану дрібних лабораторних тварин

Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, А. В. Абрамов, М. Ю. Колесник, Т. В. Иваненко, С. В. Тищенко, М. В. Данукало, М. И. Федотова

Сучасні біомедичні дослідження, що проводяться в наукових лабораторіях, є базисом не тільки для вивчення патогенетичних механізмів формування та прогресування хвороб – сьогодні вони широко використовуються для розробки високоінформативних методів діагностики, створення нових лікарських препаратів, вивчення впливу на організм тих фармсполук, що розробляються вперше, з оцінюванням їхньої потенційної ефективності. У статті висвітлено нові підходи та можливості оцінювання функціонального стану дрібних лабораторних тварин з урахуванням сучасних міжнародних вимог щодо досліджень та інтерпретації результатів, котрі отримали.

### Modern approaches and new methodological possibilities in the functional state of small laboratory animals assessing

Yu. M. Kolesnyk, O. V. Hancheva, A. V. Abramov, M. Yu. Kolesnyk, T. V. Ivanenko, S. V. Tishchenko, M. V. Danukalo, M. I. Fedotova

Modern biomedical research conducted in scientific laboratories is a basis not only for studying the pathogenetic mechanisms of diseases formation and progression, today they are widely used for highly informative diagnostic methods development, new medicines creation, and the study of newly developed pharmaceutical compounds influence on the organism with their potential effectiveness assessment. The article highlights new approaches and possibilities for the functional state of small laboratory animals assessing, taking into account modern international requirements for research conduction and findings interpretation.

В связи с совершенствованием и усложнением методик медико-биологического эксперимента, условием которого является создание тождественных моделей патологии человека, возникла острая необходимость не только в использовании животных современных линий, но и в усовершенствовании диагностического оборудования, которое используется научными лабораториями [1].

Американская ассоциация лабораторных животных (American Association for Laboratory Animal Science AALAS) важным условием гуманности и эффективности проводимых исследований рассматривает их малую инвазивность, отсутствие болевых воздействий и сохранение жизни животного [2]. Соблюдение этих требований позволяет осуществить наиболее адекватное моделирование физиологических и патологических процессов, избежать элементов случайности в эксперименте и ошибочности истолкования полученных фактов [3].

Именно эти принципы и были взяты за основу при создании лаборатории экспериментальной патофизиологии в учебном медико-лабораторном центре Запорожского государственного медицинского университета. За последние пять лет лаборатория оснащена новым, стандартизированным и высокотехнологичным оборудованием, разработанным ведущими мировыми производителями. С учетом результатов многолетних собственных исследований и полученного опыта работы с различными системами регистрации физиологических параметров у мелких лабораторных животных нами выбраны программно-аппаратные комплексы, наилучшим образом отвечающие современной методологии научных исследований в биологии и медицине:

1. Система неинвазивной регистрации ЭКГ ecgTUNNEL (emka TECHNOLOGIES, France).
2. Система неинвазивного измерения кровяного давления Blood Pressure Analysis Systems™ BP-2000

Series II (Visitech Systems, USA) с автоматическим контролем температуры в иммобилизационном туннеле.

3. Анализатор состава тела лабораторных животных – система биоимпедансметрии VET BIS1 (ImpediMed Limited, Australia).

4. Радиальный лабиринт с 8 плечами AgnTho's LE760 (PanLab Harvard Apparatus, Spain) с видеофиксацией Video Tracking System (SONY, Japan).

5. Беговая дорожка для мелких грызунов Treadmill Control LE8710 (PanLab Harvard Apparatus, Spain) с электрошокером.

6. Прибор эксперт-класса для кардиоваскулярных исследований Vivid E9 XDclear Console 4D Expert 100 (General Electric, USA), оснащенный высокочастотным матричным линейным датчиком ML6-15-D с максимально возможной частотой сканирования в 15 МГц.

Подобные программно-аппаратные комплексы осуществляют автоматизированный контроль исследуемых показателей при минимальной инвазивности самого процесса регистрации, обеспечивают проведение эксперимента у ненаркотизированных животных, то есть в условиях, максимально приближенных к физиологическим, позволяют обработать большой массив электронных данных эксперимента и провести компьютерный анализ физиологических параметров животных.

## Цель работы

Сформулировать современные научные подходы к оценке функционального состояния мелких лабораторных животных в эксперименте.

### Особенности регистрации ЭКГ у мелких лабораторных животных.

Электрокардиография (ЭКГ) у крыс является широко применяемым экспериментальным методом при изучении сердечно-сосудистой системы. Запись ЭКГ отражает электрическую активность сердца и может дать важную информацию о функциональных и структурных характеристиках миокарда. Техника записи ЭКГ у лабораторных животных достаточно проста, однако интерпретация электрокардиографических параметров является сложной задачей. Это связано с тем, что, в отличие от человека, критерии контрольных показателей ЭКГ у крыс не установлены: существуют значительные различия в параметрах ЭКГ между исследованиями у этих животных. По мнению большинства ученых, это связано с различными экспериментальными установками, такими как тип анестезии, вид используемой линии крыс, пол, возраст животных и частота сердечных сокращений (ЧСС) [4].

*Подготовка животного к регистрации ЭКГ и ее проведение.*

Регистрация ЭКГ у крыс с помощью системы ecgTUNNEL позволяет исключить большинство из вышеописанных проблем, так как животные не подвергаются наркотизации, а находятся в иммобилизационном туннеле (рис. 1).

Важными условиями эффективности проведения регистрации ЭКГ являются предварительная, на протя-

жении 2–3 дней, подготовка животного для адаптации и исключения стресс-реакций, создание максимальной шумоизоляции в условиях температурного диапазона окружающей среды 24–26 °С.

Большую сложность при регистрации ЭКГ у крыс создает высокая ЧСС, превышающая 500 ударов в минуту, а при некоторых экспериментальных моделях она достигает 700–800 ударов. Для решения этой проблемы система ecgTUNNEL оснащена стандартными фильтрами, уменьшающими помехи и электрические артефакты, а также программно настраиваемыми диапазонными фильтрами высоких и низких частот. Это позволяет выделять определенные паттерны электрической активности сердца.

При записи ЭКГ проводится одновременная регистрация в шести отведениях: стандартных (I, II, III) и усиленных (AVR, AVL, AVF). Это дает возможность кроме стандартных параметров (продолжительность и конфигурация интервалов и зубцов комплекса PQRS) с помощью программного обеспечения установить среднее смещение интервала ST, площадь зубца S и его пиковую амплитуду, рассчитать показатель эффективности (% отношение регистрируемых импульсов к общему числу сигналов в одной сессии); подсчитать среднее число регистрируемых импульсов в пределах одной сессии.

### Особенности неинвазивного измерения кровяного давления у мелких лабораторных животных.

Сегодня широко используются три основных метода регистрации артериального давления у мелких грызунов – это неинвазивное измерение на хвостовой артерии при помощи манжетки; инвазивное, или прямое измерение с использованием внутриартериального катетера, а также радиотелеметрический метод [5], причем каждый из них имеет как свои достоинства, так и недостатки.

Мы выбрали первый метод. Главное его достоинство – это отсутствие хирургических вмешательств и анестезии, что дает возможность проведения многократных измерений на одном животном в разные временные отрезки. Долгое время в нашей стране для измерения АД у крыс использовалось несовершенное оборудование с ограниченными возможностями при проведении измерений (измерялось только систолическое давление), с высокой погрешностью, невозможностью автоматической регистрации и сохранения полученных данных. Использование компьютеризированной системы BP-2000 неинвазивного измерения кровяного давления у крыс исключило вышеописанные недостатки (рис. 2). Более того, в 90-х годах J. H. Kregel et al. провели на мышах с разными моделями артериальной гипертензии многократные сравнительные исследования этой системы регистрации АД с прямым инвазивным внутриартериальным методом регистрации кровяного давления. Ими сделано заключение, что система BP-2000 дает воспроизводимые результаты и будет полезна для исследований, в которых желателен неинвазивный подход, особенно при долгосрочных экспериментах [6].

*Подготовка животного и проведение исследования.*

Для измерения АД крысы размещаются в специальных фиксаторах, оборудованных на термостати-



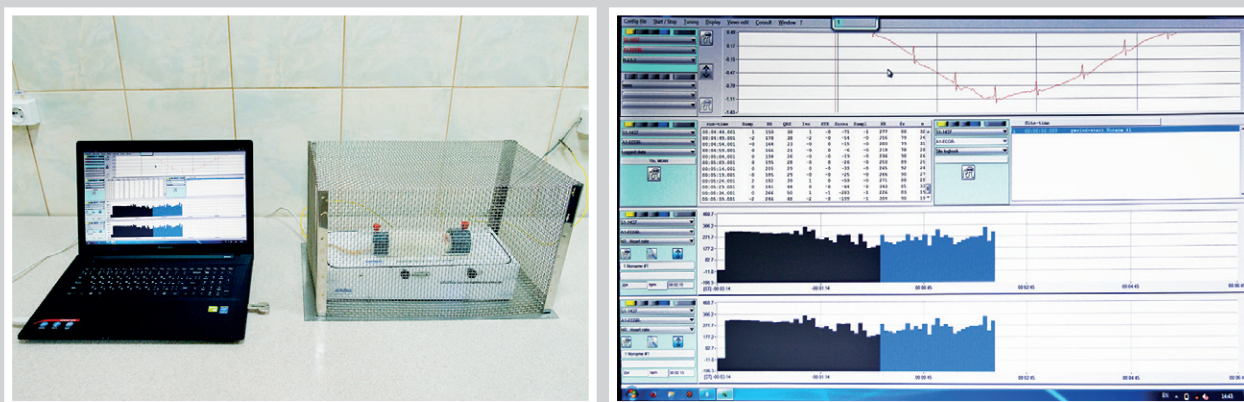


Рис. 1. ЕКГ-регистрація серцевої діяльності 12-місячної крыси лінії Вистар, маса – 380 г. Собственные данные.

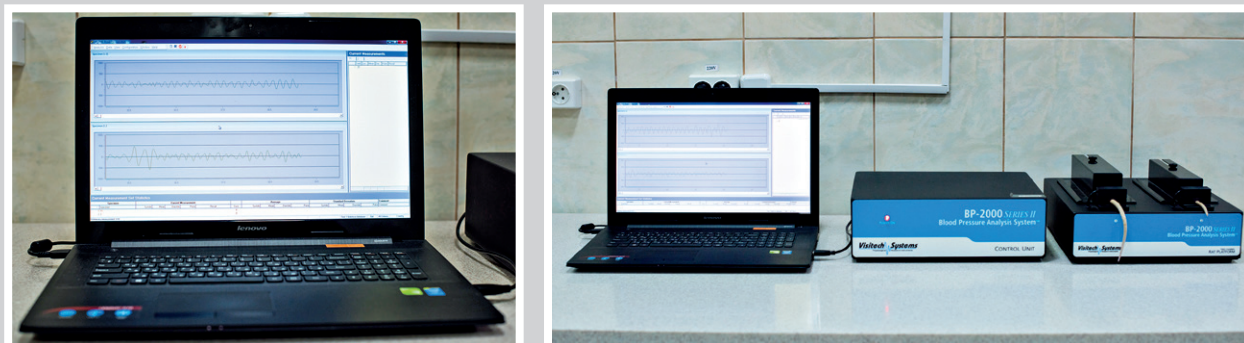


Рис. 2. Одновременное измерение кровяного давления у двух крыс линии Вистар, возраст – 12 месяцев, масса – 380 г. Собственные данные.

ческой платформе, которая обеспечивает постоянное поддержание температуры 37–39 °С. Фиксаторы для животных светонепроницаемы, что необходимо для быстрого снижения у них уровня стресса. Среднее время регистрации АД составляет 3–7 минут, во время которого проводится 3–5 предварительных и 3–5 контрольных измерений с расчетом средних значений ЧСС, систолического и диастолического давления. Система укомплектована программным обеспечением для ведения базы данных, что позволяет сохранять цифровые и графические данные, создавать отчеты, хранить результаты всех экспериментов.

**Особенности определения состава тела методом биоимпедансометрии у мелких лабораторных животных.**

Биоэлектрический импедансный анализ состава тела сегодня широко используется в спортивной и клинической медицине. Данный метод основан на способности биологических тканей проводить электрический ток. Сопротивление тканей электрическому току зависит от содержания в них жидкости. Так, высокогидратированные ткани, например мышечная, выступают как проводники электрического тока, тогда как плохо гидратированная жировая ткань является изолятором. Таким образом, импеданс обратно пропорционален содержанию жидкости в тканях организма [7]. Биоимпедансный анализ состава тела позволяет контролировать состояние липидного, белкового и

водного обменов организма, оценить риск развития метаболического синдрома и степень гидратации тканей [8]. У больных сердечно-сосудистыми заболеваниями данный метод используют для оценки нарушения водного баланса, перераспределения жидкости в организме и подбора лекарственных средств [9].

За последние три десятилетия биоэлектрический импедансный анализ гидратации и состава тела лабораторных животных достиг значительного прогресса. С развитием биоимпедансной спектроскопии появилась возможность, не выводя животное из эксперимента, рассчитать объем вне- и внутриклеточной жидкости, массу жира и безжировую часть тела [10]. Оценка распределения жидкости в организме необходима для анализа состояния питания, направленности метаболических процессов, функции почек и сердечно-сосудистой функции. Сегодняшние исследователи считают, что биоимпедансная спектроскопия – это универсальный неинвазивный метод не только оценки баланса жидкостей организма, но и пористости клеточной мембраны [11].

*Подготовка животного и проведение исследования.*

Перед проведением исследования крыс необходимо взвесить и измерить длину от кончика носа до основания хвоста. Полученные параметры вводятся непосредственно в систему анализа. Животных подвергают наркотизации (кетамин, 50 мг/кг массы тела), после чего подкожно вводятся электроды по схеме и

проводится 3–5 кратное измерение с расчетом среднего значения (рис. 3).

**Оценка скорости формирования поискового рефлекса, пространственной и непространственной памяти у лабораторных животных** сегодня очень широко используется в области нейронаук и доклинических испытаний. Их проведение предоставляет надежные данные в области фундаментальной и клинической психофармакологии, включающие определение фенотипических характеристик (различия между линиями животных, эффекты генетических модификаций) и изучение поведенческих эффектов фармакологических субстанций [12]. Использование видеофиксации позволяет записывать и анализировать активность, траекторию и скорость движения, события социального взаимодействия (рис. 4).

Специальная система видеофиксации животного дает возможность не только идентифицировать крысу в лабиринте, но и определять положение отдельных частей ее тела (голова, центр и/или основание хвоста) в тестах на распознавание объекта, при изучении социальных взаимодействий, осуществлять регистрацию поведенческого комплекса (стойка на задних лапах, повороты). Использование данной технологии помогает отказаться от маркировки животных, а также позволяет точнее оценивать некоторые специфические поведенческие элементы, такие как исследовательская активность животных, выбор места, повороты, исследование цикличности поведения животных.

**Для исследования у лабораторных животных моторной функции, проведения нагрузочных тестов, оценки степени усталости и выносливости** используются беговые дорожки серии LE8700. Скорость движения дорожки может устанавливаться в любых пределах от 5 до 150 см/с. Система оснащена двумя дорожками, каждая из которых имеет свою независимую решетку, находящуюся под напряжением. Уклон беговой дорожки изменяется в диапазоне от -25 до +25 градусов с инкрементом в 5 градусов (рис. 5).



Рис. 3. Проведение биоимпедансометрии у крысы линии Вистар, возраст – 12 месяцев, масса – 380 г. Собственные данные.

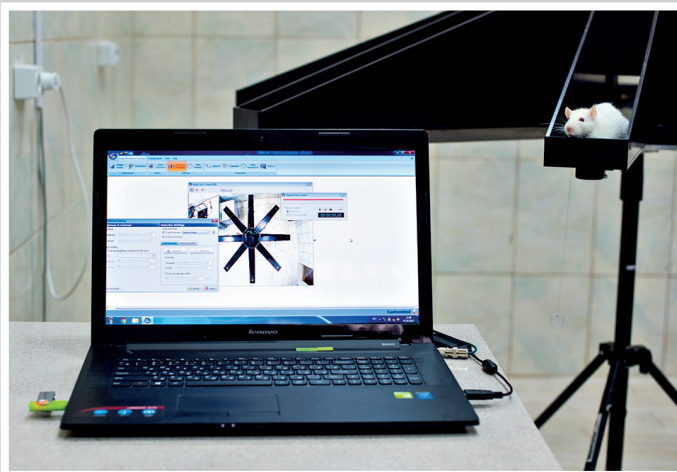


Рис. 4. 8-плечный радиальный лабиринт с видеофиксацией и программным обеспечением.



Рис. 5. Проведение беговой тренировки крысы линии Вистар, возраст – 12 месяцев, масса – 380 г. Скорость движения дорожки – 50 см/с, угол наклона – 0 градусов, время тренировки – 7 минут. Собственные данные.



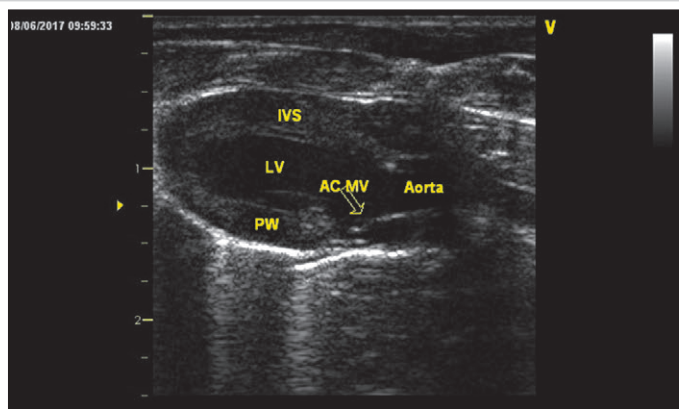


Рис. 6. Эхограмма 12-месячной крысы линии Вистар массой 380 г. Собственные данные. В-режим сканирования. Парастернальная позиция. Длинная ось левого желудочка.

AC MV: передняя створка митрального клапана; IVS: межжелудочковая перегородка; LV: левый желудочек; PW: задняя стенка левого желудочка.

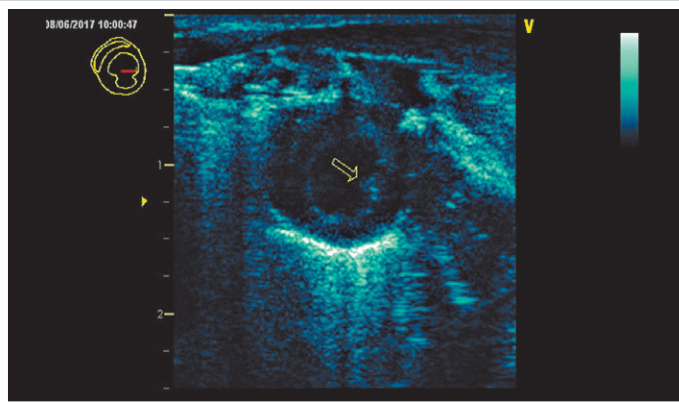


Рис. 7. Эхограмма 12-месячной крысы линии Вистар массой 380 г. Собственные данные. В-режим сканирования. Парастернальная позиция. Короткая ось левого желудочка на уровне папиллярных мышц. Стрелкой указана головка медиа-латеральной папиллярной мышцы.

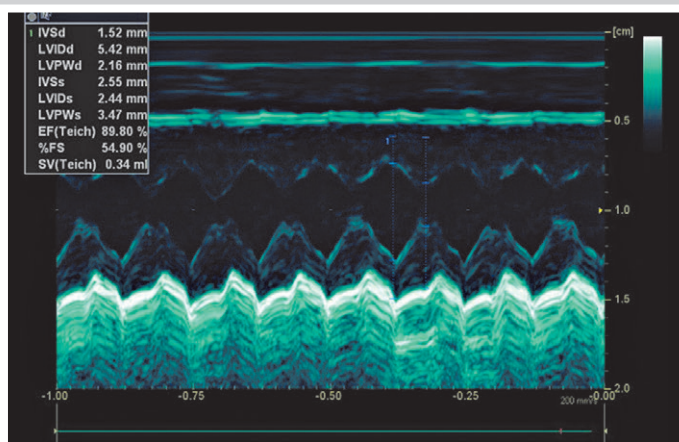


Рис. 8. Эхограмма 12-месячной крысы линии Вистар, масса – 380 г. Собственные данные. М-режим сканирования. Парастернальная позиция. Короткая ось левого желудочка на уровне папиллярных мышц.

IVSd: межжелудочковая перегородка в диастолу; LVIDd: конечно-диастолический размер левого желудочка; LVPWd: задняя стенка левого желудочка в диастолу; IVSs: межжелудочковая перегородка в систолу; LVIDs: конечно-систолический размер левого желудочка; LVPWs: задняя стенка левого желудочка в систолу; EF (Teich): фракция выброса по Teichholz; % FS: процент фракции укорочения; SV (Teich): ударный объем по Teichholz.

В ходе проведения исследования на дисплей прибора или в систему компьютерного анализа выводятся следующие показатели: пройденная дистанция животного, суммарное время, в течение которого животное получало электрический разряд, и их количество, текущая скорость движения дорожки и длительность эксперимента.

### Особенности проведения эхокардиографии у мелких лабораторных животных.

Стремительное развитие ультразвуковых технологий в последние годы сделало возможным проведение неинвазивной оценки структурно-функционального состояния сердца у мелких лабораторных животных, в том числе грызунов. Основными техническими ограничениями для проведения исследования у экспериментальных мышей и крыс традиционно считаются малые размеры сердца и высокая частота сердечных сокращений. Появление ультразвуковых датчиков с высокой частотой сканирования, а также программных специализированных пакетов позволило преодолеть указанные трудности.

**Подготовка животного к исследованию и анестезия.** Перед проведением эхокардиографического исследования грудную клетку животного выбривают. Наиболее используемыми препаратами для анестезии являются кетамин (50–100 мг/кг массы тела) в комбинации с ксилазином (5–6 мг/кг) либо фенобарбитал (30–40 мг/кг), которые вводятся интраперитонеально. Диапазон указанных доз достоверно влияет на частоту сердечных сокращений, параметры кардиогемодинамики и длительность анестезии, что необходимо учитывать при планировании эксперимента [13,14]. Исследование производят в положении животного на спине с фиксированными конечностями. На грудную клетку наносят ультразвуковой гель, который создает акустическую подушку, необходимо избегать давления датчика на тело животного.

**Оборудование.** Эхокардиография у грызунов проводится на ультразвуковых сканерах, оборудованных линейным датчиком с высокой частотой сканирования (не менее 10 МГц) либо секторным фазированным датчиком, также поддерживающим высокие частоты (не менее 8 МГц) [15]. Необходимо подчеркнуть, что фазированные датчики для клинической эхокардиографии работают в диапазоне 2–4 МГц, поэтому не пригодны для исследования грызунов. В исследовательской лаборатории Запорожского государственного медицинского университета используется высокочастотный матричный линейный датчик ML6-15-D с максимально возможной частотой сканирования в 15 МГц. В программное обеспечение сканера входит специализированный пакет «Rodent», позволяющий выполнять расчет основных параметров кардиогемодинамики у грызунов, адаптированный под малые размеры исследуемых объектов и высокую частоту сердечных сокращений.

**Проведение исследования.** Структура и строение сердца мышей и крыс практически идентичны таковым у человека, поэтому принципы проведения исследования во многом схожи. Основой является традиционный серошкальный В-режим, в котором проводится локация сердца и его структур. Как и



у человека, используются парастернальная (по левому краю грудины) и апикальная позиции. На рисунке 6 представлено серошкальное изображение сердца крысы-самца линии Вистар массой 380 г в парастернальной позиции по длинной оси левого желудочка.

При повороте датчика на 90° в парастернальной позиции получается ультразвуковой срез по короткой оси левого желудочка на уровне папиллярных мышц (рис. 7).

Большое значение имеет М-режим, исторически первый в развитии эхокардиографического метода. Его высокое временное разрешение является бесспорным преимуществом при наличии высокой ЧСС (рис. 8).

В М-режиме по короткой оси левого желудочка на уровне папиллярных мышц проводится стандартное измерение толщины межжелудочковой перегородки и задней стенки, оцениваются размеры полостей левого желудочка, рассчитывается фракция выброса, фракция укорочения, процент изменения площади левого желудочка в систолу. Необходимо подчеркнуть, что точность измерения составляет 0,01 мм. Данный режим имеет большое значение для оценки систолической функции левого желудочка при моделировании инфаркта миокарда, сердечной недостаточности [16–18]. Измерение толщины стенок сердца и расчет массы миокарда являются обязательными измерениями в экспериментальных моделях артериальной гипертензии [19]. Корректное позиционирование ультразвукового луча перпендикулярно оцениваемым структурам проводится с использованием «анатомического» М-режима. В этой же позиции может быть активирован режим тканевого доплеровского картирования. Он позволяет оценивать амплитуду движения миокарда в систолу и диастолу и косвенно оценивать структурное состояние изучаемых участков сердца. Из апикальной позиции оценивается трансмитральный кровоток в режиме импульсно-волнового доплера, позволяющий судить о состоянии диастолической функции.

Возвращаясь к вопросу о современных подходах и новых методических возможностях проведения биомедицинских исследований, следует еще раз отметить: последнее десятилетие изменило направление научной мысли в Украине, это позволило увидеть новые возможности и перспективы планируемых экспериментальных исследований. Мы считаем, что главными условиями их реализации и эффективности являются:

– соблюдение «Этического кодекса», опубликованного в начале 1985 г. Советом международных медицинских научных организаций (СММНО), принципов Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.) и Директивы 2010/63/ЕС, принятой 22 сентября 2010 года;

– использование высокотехнологического и современного диагностического оборудования, позволяющего проводить низкоинвазивные, но высокоинформативные исследования на мелких лабораторных животных;

– проведение комплексных, многоуровневых исследований на оптимальном количестве животных

в лабораториях, соответствующих международным стандартам.

#### Список литературы

- [1] Zutphen van L.F. Principles of Laboratory Animal Science / L.F. van Zutphen, V. Baumans, A.C. Beynen. – Amsterdam : Elsevier, 2001. – 416 p.
- [2] Anon. The 2014 Lush Prize: A Global View of Animal Experiments 2014, 42 pp. Available at: [http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global\\_View\\_of-Animal\\_Experiments\\_2014.pdf](http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global_View_of-Animal_Experiments_2014.pdf) (Accessed 05.11.15).
- [3] Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider / P.V. Turner, Th. Brab, C. Pekow et al. // Journal of the American Association for Laboratory Animal Science. – 2011. – Vol. 50. – №5. – P. 600–613.
- [4] Konopelski P. Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human / P. Konopelski, M. Ufnal // Physiological Research. – 2016. – Vol. 65. – P. 717–725.
- [5] Кузьменко Н.В. Инвазивные и неинвазивные методы регистрации параметров гемодинамики у крыс линии Wistar в модели реноваскулярной гипертензии (2 почки, 1 зажим) / Н.В. Кузьменко, М.Г. Плисс, В.А. Цырлин // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3. – №2. – С. 61–69.
- [6] A Noninvasive Computerized Tail-Cuff System for Measuring Blood Pressure in Mice / J.H. Krege, J.B. Hodgin, J.R. Hagaman et al. // Hypertension. – 1995. – Vol. 25. – P. 1111–1115.
- [7] Диетология / под ред. А.Ю. Барановского. – 4-е изд. – СПб.: Питер, 2012. – 1024 с.
- [8] Биоимпедансный анализ состава тела человека / Д.В. Николаев, А.В. Смирнов, И.Г. Бобринская, С.Г. Руднев. – М.: Наука, 2009. – 392 с.
- [9] Диагностические возможности неинвазивной биоимпедансометрии / Ю.В. Торнуев, Д.П. Непомнящих, Д.Б. Никитюк и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – №10-4. – С. 82–788.
- [10] Precision and accuracy of bioimpedance spectroscopy for determination of in vivo body composition in rats / D.Jr. Smith, M. Johnson, T. Nagy // International Journal of Body Composition Research. – 2009. – Vol. 7. – №1. P. 21–26.
- [11] Use of bioimpedance spectroscopy to estimate body water distribution in rats fed high dietary sulfur amino acids / K. Yokoi, H.C. Lukaski, E.O. Uthus et al. // Journal of Nutrition. – 2001. – Vol. 131. – №4. – P. 1302–1308.
- [12] Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
- [13] Preferable anesthetic conditions for echocardiographic determination of murine cardiac function / Y. Kawahara, K. Tanonaka, T. Daicho et al. // Journal of Pharmacological Sciences. – 2005. – Vol. 99. – P. 95–104.
- [14] Optimizing dosage of ketamine and xylazine in murine echocardiography / Q. Xu, Z. Ming, A.M. Dart et al. // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2007. – Vol. 34. – №5-6. – P. 499–507.
- [15] Echocardiography in mice / Sh. Gao, D. Ho, D.E. Vatner et al. // Current Protocols in Mouse Biology. – 2011. – Vol. 1. – P. 71–83.
- [16] Echocardiographic evaluation of cardiac function in ischemic rats: value of M-mode echocardiography / A.D. Darbandi Azar, F. Tavakoli, H. Moladoust et al. // Research in Cardiovascular Medicine. – 2014. – Vol. 3. – №4. – e22941.
- [17] New echocardiographic protocol for the assessment of experimental myocardial infarction in rats / R. Dragoi Galrinho, A.O. Ciobanu, R.C. Rimbasi et al. // MAEDICA – a Journal of Clinical Medicine. – 2015. – Vol. 10. – №2. – P. 85–90.
- [18] Динамика формирования систолической дисфункции сердца при доксорубициновой кардиомиопатии / В.Л. Лакомкин, А.А. Абрамов, В.В. Грамович и др. // Кардиология. – 2017. – №57. – С. 59–64.
- [19] Echocardiographic effects of eplerenone and aldosterone in hypertensive rats / L.E. Watson, C. Jewell, J. Song et al. // Frontiers in Bioscience. – 2013. – Vol. 1. – №5. – P. 922–927.

#### References

- [1] Zutphen van, L. F., Baumans, V., & Beynen, A. C. (2001) *Principles of Laboratory Animal Science*. Amsterdam: Elsevier.
- [2] Anon. (2014). The 2014 Lush Prize: A Global View of Animal Experiments 2014, 42pp. Retrieve from: [http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global\\_View\\_of-Animal\\_Experiments\\_2014.pdf](http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global_View_of-Animal_Experiments_2014.pdf) (Accessed 05.11.15).
- [3] Turner, P. V., Brab, Th., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011) Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.
- [4] Konopelski, P., & Ufnal, M. (2016) Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human. *Physiological Research*, 65, 717–725.

- [5] Kuzmenko, N. V., Pliss, M. G., & Tsyrlin, V. A. (2016) Invazivnye i neinvazivnye metody registratsii parametrov gemodinamiki u krysi linii Wistar v modeli renovaskulyarnoy gipertenzii (2 pochki, 1 zazhim) [Invasive and non-invasive methods of hemodynamic parameters registration in Wistar rats in renovascular hypertension model (2 kidney, 1 clip)]. *Translyacionnaya medicina*, 3(2), 61–69. [in Russian].
- [6] Krege, J. H., Hodgins, J. B., Hagaman, J. R., & Smithies, O. (1995) A Noninvasive Computerized Tail-Cuff System for Measuring Blood Pressure in Mice. *Hypertension*, 25, 1111–1115.
- [7] Baranovskij, A. Yu. (2012) *Dietologiya [Dietetics]*. Saint Petersburg: Piter [in Russian].
- [8] Nikolaev, D. V., Smirnov, A. V., Bobrinskaya, I. G., & Rudnev, S. G. (2009) *Bioimpedansnyj analiz sostava tela cheloveka [Bioimpedance analysis of the composition of the human body]*. Moscow: Nauka [in Russian].
- [9] Tornuev, Yu. V., Nepomnyashchikh, D. L., Nikityuk, D. B., Lapij, G. A., Molodykh, O. P., Nepomnyashchikh, R. D., et al. (2014) Diagnosticheskiye vozmozhnosti neinvazivnoj bioimpedansometrii [Diagnostic capabilities of noninvasive bioimpedanceometry]. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 10–4, 782–788. [in Russian].
- [10] Smith, D. Jr., Johnson, M., & Nagy, T. (2009) Precision and accuracy of bioimpedance spectroscopy for determination of in vivo body composition in rats. *International Journal of Body Composition Research*, 7(1), 21–26.
- [11] Yokoi, K., Lukaski, H. C., Uthus, E. O., & Nielsen, F. H. (2001) Use of bioimpedance spectroscopy to estimate body water distribution in rats fed high dietary sulfur amino acids. *Journal of Nutrition*, 131(4), 1302–1308.
- [12] Stefanov, O. V. (2001) *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv (metodychni rekomendatsii) [Preclinical research of medicinal products (methodical recommendations)]*. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian].
- [13] Kawahara, Y., Tanonaka, K., Daicho, T., Nawa, M., Oikawa, R., Nasa, Y., & Takeo, S. (2005) Preferable anesthetic conditions for echocardiographic determination of murine cardiac function. *Journal of Pharmacological Sciences*, 99, 95–104.
- [14] Xu, Q., Ming, Z., Dart, A. M., & Du, X. J. (2007) Optimizing dosage of ketamine and xylazine in murine echocardiography. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(5-6), 499–507. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04601.x.
- [15] Gao, Sh., Ho, D., Vatner, E., & Vatner, S. F. (2011) Echocardiography in mice. *Current Protocols in Mouse Biology*, 1, 71–83. doi: 10.1002/9780470942390.mo100130.
- [16] Darbandi Azar, A., Tavakoli, F., Moladoust, H., Zare, A., & Sadeghpour, A. (2014) Echocardiographic evaluation of cardiac function in ischemic rats: value of M-mode echocardiography. *Research in Cardiovascular Medicine*, 3(4), e22941. doi: 10.5812/cardiovasmed.2294.
- [17] Dragoi Galrinho, R., Ciobanu, A. O., Rimbac, R. C., Manole, C. G., Leena, B. M., & Vinereanu, D. (2015) New echocardiographic protocol for the assessment of experimental myocardial infarction in rats. *MAE-DICA – a Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 85–90.
- [18] Lakomkin, V. L., Abramov, A. A., Gramovich, V. V., Vyborov, O. N., Lukoshkova, E. V., Ermishkin, V. V., & Kapelko, V. I. (2017) Dinamika formirovaniya sistolicheskoj disfunkcii serdca pri doksorubicinovoju kardiomiopatii [The Time Course of Formation Of Systolic Dysfunction of the Heart in Doxorubicin Cardiomyopathy]. *Kardiologiya*, 57, 59–64. [in Russian].
- [19] Watson, L. E., Jewell, C., Song, J., & Dostal, D. E. (2013) Echocardiographic effects of eplerenone and aldosterone in hypertensive rats. *Frontiers in Bioscience*, 1(5), 922–927.

**Сведения об авторах:**

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, ректор Запорожского государственного медицинского университета, Украина.  
 Ганчева О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Абрамов А. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Колесник М. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. семейной медицины, терапии и кардиологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Иваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Тищенко С. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
 Данукало М. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федотова М. И., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Відомості про авторів:**

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, ректор Запорізького державного медичного університету, Україна.  
 Ганчева О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Колесник М. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. сімейної медицини, терапії та кардіології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Тищенко С. В., ассистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Данукало М. В., ассистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
 Федотова М. И., ассистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Information about authors:**

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Pathological Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical University, Professor, Ukraine.  
 Hancheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Kolesnyk M. Yu., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Family Medicine and Therapy of Post-Graduate Education Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Tishchenko S. V., MD, Assistant Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Danukalo M. V., MD, Assistant Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
 Fedotova M. I., MD, Assistant Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 27.10.2017  
 Після доопрацювання / Revised: 06.11.2017  
 Прийнято до друку / Accepted: 09.11.2017

# Modern view on hepatic encephalopathy: basic terms and concepts of pathogenesis

T. V. Shulyatnikova, V. A. Shavrin

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

**Background.** The problem of acute and chronic forms of hepatic encephalopathy (HE) is not clearly identified among modern problems of hepatology and neuroscience in Ukraine. Despite the significant contribution to the development of lethal complications in patients with liver pathology and long history of the study of this issue, there is still no unified opinion on the links of HE pathogenesis.

**The aim** of this review is to conduct a comprehensive analysis of current data on the spreading and mechanisms of development of HE.

HE is a complex of potentially reversible neurocognitive disorders in patients with chronic or acute hepatic failure (ALF). HE is more often a complication of liver cirrhosis and is the second most frequent cause of hospitalization of such patients after ascites. When decompensating liver failure in acute or chronic hepatic pathology in patients severe forms of HE develop, accompanied by a progressive increase in intracranial pressure and the development of coma, which often ends lethal due to poor corrigibility of intracranial hypertension while maintaining hepatogenic neurointoxication. HE is considered as the end result of the accumulation of a number of neurotoxic substances in the brain, among which are ammonia, mercaptans, short chain fatty acids, false neurotransmitters, gamma-aminobutyric acid, manganese. The most popular among the reasons for the development of HE is the neurotoxic theory of ammonia. Ammonia is subjected to detoxification in the liver, turning into urea, a smaller fraction with the participation of glutamine synthetase is used in the synthesis of glutamine in muscles, liver and astrocytes of brain. In case of hepatic dysfunction and/or portosystemic shunting, the concentration of ammonia in blood increases up to 10 times and the main load for its detoxification is shifted to myocytes and astroglia. In ALF glutamine overload of astrocytes occurs with a change in intracellular osmolarity and subsequent edema of astroglia, which is accompanied by the development of cytotoxic edema of the brain. In this case, in astrocytes damaging of mitochondrial respiratory chain occurs and mitochondrial insufficiency develops, as well as processes of nitrosative-oxidative stress and oxidation of astrocytic and neuronal RNA, disruption of gene expression, synthesis of neuro- and gliotransmitters and synaptic plasticity. The increased influx of aromatic amino acids into brain leads to the synthesis of false neurotransmitters, which worsens serotonergic, GABA-ergic, dopaminergic and glutamatergic neurotransmission. Damage to the components of the blood-brain barrier leads to aggravation of the water imbalance, penetration of hematogenous cytokines, endotoxins and other products of systemic inflammatory reaction into the cerebral parenchyma and development of neuroinflammation, which makes an important contribution to the further progression of cerebral edema.

**Conclusions:** despite a comprehensive study of the problem, many open questions remain in the pathogenesis of HE. Special attention should be paid to more detailed study of the mechanisms of formation and elimination of edematous changes in brain tissue on the background of hepatogenic intoxication and the development of a systemic inflammatory reaction, the role of astroglia and its water channels in these processes, as well as the mechanisms of damage to the blood-brain barrier.

**Key words:**

hepatic encephalopathy, ammonia.

**Pathologia**

2017; 14 (3), 371–380

**DOI:**

10.14739/2310-1237.  
2017.3.118773

**E-mail:**

rosnitsa@gmail.com

## Сучасний погляд на печінкову енцефалопатію: основні поняття та концепції патогенезу

T. V. Шулятнікова, В. О. Шаврін

Проблема гострої та хронічних форм печінкової енцефалопатії (ПЕ) недостатньо чітко позначена серед сучасних проблем гепатології та нейронауки в Україні. Незважаючи на чималий внесок у розвиток летальних ускладнень у хворих із печінковою патологією та тривалу історію вивчення цього питання, і досі не сформовано єдине уявлення щодо механізмів розвитку ПЕ.

**Мета роботи** – всебічний аналіз сучасних даних щодо поширеності та механізмів розвитку печінкової енцефалопатії.

Печінкова енцефалопатія (ПЕ) – комплекс потенційно оборотних нейрокогнітивних розладів у пацієнтів із хронічною або гострою печінковою недостатністю (ГПечН). ПЕ частіше є ускладненням цирозу печінки та другою найчастішою після асцити причиною госпіталізації таких пацієнтів. При декомпенсації печінкової недостатності за наявності гострої або хронічної печінкової патології у хворих розвиваються важкі форми ПЕ, котрі супроводжуються прогресуючим підвищенням внутрішньочерепного тиску та розвитком коми, котра найчастіше закінчується летально через незначні можливості щодо корегування внутрішньочерепної гіпертензії при збереженні гепатогенної нейроінтоксикації. ПЕ розглядається як кінцевий результат накопичення низки нейротоксичних речовин у мозку, серед них розглядають аміак, меркаптани, коротколанцюгові жирні кислоти, псевдонейротрансмітери, гама-аміномасляну кислоту, марганець. Найбільшу популярність серед причин розвитку ПЕ отримала нейротоксична теорія аміаку. Аміак піддається детоксикації в печінці, перетворюючись на сечовину, менша частка за участю глутамінсинтетази використовується в синтезі глутаміну в м'язах, печінці та астроцитах мозку. У разі печінкової дисфункції та/або портосистемного шунтування концентрація аміаку в крові зростає до 10 разів, й основне навантаження з його детоксикації перекладається на міоцити та астроглію. В умовах ГПечН відбувається глутамінове перевантаження астроцитів зі зміною внутрішньоклітинної осмолярності та дальшим набряком астроглії, що супроводжується розвитком цитотоксичного набряку мозку загалом. При цьому в астроцитах відбувається пошкодження дихального ланцюга мітохондрій, розвиваються мітохондріальна недостатність, процеси нітрозативно-оксидативного

**Ключові слова:**

печінкова енцефалопатія, патогенез, аміак.

**Патологія. – 2017. –**

**Т. 14, № 3(41). – С. 371–380**



стресу й окислення астроцитарної та нейрональної РНК, порушення експресії генів, синтезу нейро- та гліотрансмітерів, синаптопластичності. Підвищене надходження в мозок ароматичних амінокислот призводить до синтезу псевдонейротрансмітерів, що погіршує серотонінергічну, ГАМК-ергічну, дофамінергічну та глутаматергічну нейротрансмісію. Пошкодження компонентів гематоенцефалічного бар'єра призводить до збільшення водного дисбалансу, проникнення в мозкову паренхіму гематогенних цитокінів, ендотоксинів та інших продуктів системної запальної реакції та розвитку в мозку процесів нейрозапалення, що робить свій важливий внесок у дальше прогресування набряку мозкової тканини.

**Висновки.** Незважаючи на всебічне вивчення проблеми, в патогенезі ПЕ залишається багато відкритих питань. На особливу увагу заслуговує детальніше вивчення механізмів формування та усунення набрякових змін мозкової тканини на тлі гепатогенної інтоксикації та розвитку системної запальної реакції, ролі астроглії та її водних каналів у цих процесах, а також механізмів пошкодження гематоенцефалічного бар'єра.

**Ключевые слова:**  
печеночная энцефалопатия, патогенез, аммиак.

## Современный взгляд на печеночную энцефалопатию: основные понятия и концепции патогенеза

Т. В. Шулятникова, В. А. Шаврин

**Патология.** – 2017. – Т. 14, № 3(41). – С. 371–380

Проблема острой и хронических форм печеночной энцефалопатии (ПЭ) недостаточно четко обозначена среди современных проблем гепатологии и нейронауки в Украине. Несмотря на значительный вклад в развитие летальных осложнений у больных с печеночной патологией и длительную историю изучения данного вопроса, до сих пор не сформировано единое мнение в отношении звеньев патогенеза ПЭ.

**Цель работы** – проведение всестороннего анализа современных данных касательно распространенности и механизмов развития печеночной энцефалопатии.

ПЭ – комплекс потенциально обратимых нейрокогнитивных расстройств у пациентов с хронической или острой печеночной недостаточностью (ОПечН). ПЭ чаще является осложнением цирроза печени и второй наиболее частой после асцита причиной госпитализации таких пациентов. При декомпенсации печеночной недостаточности при острой или хронической печеночной патологии у больных развиваются тяжелые формы ПЭ, сопровождающиеся прогрессирующим повышением внутричерепного давления и развитием комы, которая чаще всего заканчивается летально ввиду плохой корригируемости внутричерепной гипертензии при сохранении гепатогенной нейроинтоксикации. ПЭ рассматривается как конечный результат накопления ряда нейротоксических веществ в мозге, среди которых рассматривают аммиак, меркаптаны, короткоцепочечные жирные кислоты, ложные нейротрансмиттеры, гамма-аминомасляную кислоту, марганец. Наибольшей популярностью среди причин развития ПЭ пользуется нейротоксическая теория аммиака. Аммиак подвергается детоксикации в печени, превращаясь в мочевины, меньшая доля при участии глутаминсинтетазы используется в синтезе глутамина в мышцах, печени и астроцитах мозга. В случае печеночной дисфункции и/или портосистемного шунтирования концентрация аммиака в крови возрастает до 10 раз, и основная нагрузка по его детоксикации перекладывается на миоциты и астроглию. В условиях ОПечН происходит глутаминовая перегрузка астроцитов с изменением внутриклеточной осмолярности и последующим отеком астроглии, что сопровождается развитием цитотоксического отека мозга в целом. При этом в астроцитах происходит повреждение дыхательной цепи митохондрий, развиваются митохондриальная недостаточность, процессы нитрозативно-оксидативного стресса и окисления астроцитарной и нейрональной РНК, нарушения экспрессии генов, синтеза нейро- и гліотрансмітерів, синаптопластичності. Повышенное поступление в мозг ароматических аминокислот ведет к синтезу ложных нейротрансмиттеров, что ухудшает серотонінергічну, ГАМК-ергічну, дофамінергічну та глутаматергічну нейротрансмісію. Повреждение компонентов гематоэнцефалического барьера ведет к усугублению водного дисбаланса, проникновению в мозговую паренхимы гематогенных цитокінів, ендотоксинів и других продуктов системной воспалительной реакции и развитию в мозге процессов нейровоспаления, что вносит свой важный вклад в дальнейшее прогрессирование отека мозговой ткани.

**Выводы.** Несмотря на всестороннее изучение проблемы, в патогенезе ПЭ остается много открытых вопросов. Особого внимания заслуживает более детальное изучение механизмов формирования и нивелирования отечных изменений мозговой ткани на фоне гепатогенной интоксикации и развития системной воспалительной реакции, роли астроглии и ее водных каналов в этих процессах, а также механизмов повреждения гематоэнцефалического барьера.

## Background

The problem of acute and chronic forms of hepatic encephalopathy (HE) is not clearly identified among modern problems of hepatology and neuroscience in Ukraine. Despite the significant contribution to the development of lethal complications in patients with liver pathology and long history of the study of this problem, there is still no unified opinion on the links of the HE pathogenesis.

**The aim** of this review is to conduct a comprehensive analysis of current data on the spreading and mechanisms of development of HE.

Among the causes of endogenous neurointoxication, liver damage occupies one of the leading positions. Liver

diseases are accompanied by the development of brain pathology, which corresponds to the term “hepatic encephalopathy” (HE).

HE is a complex of potentially reversible neurocognitive disorders in patients with chronic or acute hepatic insufficiency, manifested by a varying severity neurological deficit, changing in personality and intelligence, and by consciousness disorders from the inversion of “sleep-wake” rhythm to hepatic coma in conditions of functional liver decompensation [1]. Ultimately, the syndrome includes two principal factors: the presence of liver pathology and/or portosystemic shunt, which are sufficient to create and maintain plasma critical concentration of putative neurotoxic substances, and the presence of encephalopathy per se

which developed as a consequence unless another cause of cerebral dysfunction is excluded [2].

HE in most cases is a complication of liver cirrhosis and is the second most frequent cause of hospitalization of patients after ascites [3]. In the US from 2005 to 2009 up to 110000 patients with HE were hospitalized per year [4]. 70–87 % of liver cirrhosis cases are accompanied by latent, or “minimal” HE, while 30–45 % of patients may show symptoms of moderate up to the severe form [5,6], which is accompanied by cerebral edema development, intracranial hypertension (ICH) decompensation and fatal outcome. Approximately 30 % of patients dying in the final stages of liver disease have a signs of severe HE turning into a coma. Thus, the degree of HE severity which is sufficient for patients hospitalization, is associated with a 42 % survival prognosis during 1 year and 23 % within 3 years of monitoring [7,8]. Development of the overt HE in patients, suffering from liver cirrhosis, is a sign of disease decompensation as well as ascites or varicose bleeding, and serves as a marker of unfavorable prognosis and low survival. Besides liver cirrhosis HE can be a complication of surgical portosystemic shunts in 24–53 % of cases [9], and also be one of congenital abnormal intra- and extra-hepatic shunting manifestations. To denote the persistent form of HE, the term “chronic hepatic encephalopathy” (CHE) or “portosystemic encephalopathy” can also be used, although these terms are not identical, because CHE can also act as a manifestation of not only a portosystemic dump, but also hereditary urea cycle metabolic disorders, Wilson-Konovalov’s disease, porphyria and others [10,11].

HE is the key diagnostic criterion for acute liver failure (ALF). Acute hepatic encephalopathy (AHE) usually occurs in severe form, accompanied by severe ICH, acute cerebral insufficiency and high mortality. The pathogenesis of ICH development on the background of liver failure is not fully understood and is considered as multifactorial. Unfortunately, despite certain successes in intensive care AHE which developed on the background of acute liver failure to date can most effectively be cured only by liver transplantation, which would neutralize the initiating factor of hepatogenic neurointoxication [12].

At the World Congress of Gastroenterology in 1998, 2002 the HE classification was elaborated, according to which it was classified according to 4 characteristics [13,15]:

1. Depending on the underlying disease, the following types are distinguished: type **A** (result of ALF, e. g., in acute hepatitis or decompensated cirrhosis – **ACUTE** Liver Failure); type **B** (predominantly occurs on the background of portosystemic shunting with liver cirrhosis but without hepatocellular insufficiency, or on the background of artificial portosystemic bypass – Portosystemic **BYPASS** or Shunting); a type C (caused by liver cirrhosis and may combine the portosystemic shunting and hepatocellular failure – **CIRROSIS**).

2. According to severity of manifestations degree in accordance with West-Haven criteria HE is divided into:

– Grade 0 – “minimal” or latent HE (previously known as subclinical); Cognitive and psychiatric disorders are diagnosed only when using special psychometric and neurophysiological tests;

– Grade I – the presence of mild neurological and psychiatric symptoms, inversion of the “sleep-wake” cycle;

– Grade II – significant neurocognitive dysfunction, obvious asterix (“fluttering tremor”), disorientation, significant behavioral abnormalities;

– Grade III – drowsiness, expressed neurocognitive dysfunction, amnesia, disorientation in place and time;

– Grade IV – coma with the presence or absence of response to painful stimuli (precoma-1, precoma-2, coma-1, coma-2 – corresponding to the stages of Glasgow Coma Scale).

HE-0 and the 1<sup>st</sup> grade referred to as “covert” form of HE, and from the 2<sup>nd</sup> to 4<sup>th</sup> grade is considered “overt”.

3. Depending on time course of HE: episodic, recurrent and persistent forms.

4. According to the existence of precipitating factors HE can be non-precipitated and precipitated. In the latter case, the following can serve as provoking factors for the emergence of overt HE: infections, excessive protein intake into the body, hyponatremia, hypokalemia, renal failure with azotemia, alkalosis, dehydration, diarrhea, hypotension/hypovolemia, shock, gastrointestinal bleeding, excessive doses of diuretics, constipation, receiving opiates, benzodiazepines, antipsychotics etc. [14].

Despite more than 200 years (since 1765, when Giovanni Battista Morgagni was the first to describe a case of liver cirrhosis with HE) studying of the problem and numerous attempts to formulate a common pathogenetic concept of HE, to date there is no holistic view on the factors of etiopathogenesis and accordingly there is no single approach to managing such patients [15]. Data on the morphogenesis of HE in the current literature are of limited character and are presented in form of single studies of predominantly experimental character. Models using experimental animals reproduce both AHE and CHE. Using nervous tissue cultures (in vitro) in the study of the multifaceted influence of hyperammonemia and other neurotoxic substances on them occupies one of the leading places and is widely reflected in the world literature. Despite such a high popularity, it should be noted that neither in animal models, nor, especially, in tissue cultures, it is possible to reproduce those specific, in many respects unique conditions, in which there is a complex, multilevel system of the brain and the human body as a whole. This fact greatly limits the possibility of studying the factors of neuroaggression, pathogenesis and morphogenesis in conditions close to real ones. On the other hand, modern pathomorphological studies of HE on human material are almost absent in foreign literature and extremely limited in native one. They are based on the study of sectional cases using immunohistochemistry (IHC) methods, as well as general pathohistological techniques. In sectional investigations the subject of research is CHE on the background of the final stages of liver cirrhosis, as AHE on the background of ALF to date is a more rare disease and is due to fulminant forms of viral hepatitis A, B, D, E (which have the highest incidence in Africa and Asia), acute poisoning by hepatotoxic poisons and suicide or accidental poisoning by drugs – mostly acetaminophen (paracetamol, N-acetyl-p-aminophenol [APAP]), – which are responsible for 50 % of all cases of AHE in the US and UK [16]. Reliable data on the incidence of HE in the European Union and Eurasia in the literature are not given in the absence of such studies [12]. In the US, approximately

5 million cases of chronic liver insufficiency are diagnosed each year [17]. These data indirectly reflect the worldwide trend in spreading of chronic liver pathology and indicate high relevance of CHE problem.

There are several theories of the development of HE, however, they all do not exclude, but complement each other. Quite poorly described pathomorphological changes in the brain tissue do not allow convincing clinic-morphological comparisons; however, it is fairly clear that in the pathogenesis of HE the main conditions are decrease in the detoxification function of the liver and/or portosystemic discharge of blood with the entry of intestinal and/or liver origin pathogenic factors in the brain tissue. In general, the HE is considered as the final result of the accumulation of a number of neurotoxic substances in the brain, the most actively considering ammonia, mercaptans, short chain fatty acids, false neurotransmitters (tyramine, betaphenylethanolamine, octopamine), gamma-aminobutyric acid (GABA), manganese [15].

The mechanisms of CHE and AHE have significant differences. The main manifestation of HE at ALF is cytotoxic brain edema, furthermore, factors that contribute to a higher risk for its development are identified: childhood, poisoning with paracetamol (acetaminophen), high hyperammonemia, related infectious pathology. Pathogenesis and morphogenesis of edema development of brain in HE is not fully understood, but most researchers come to the conclusion that the prevailing after all is the cytotoxic mechanism.

The most popular among the prospective causes of the development of HE is the neurotoxic theory of ammonia. Since 1890s ammonia is assumed as main factor of neurotoxicity in the development of HE. Over the past century, it was done a large number of experimental studies on animals and tissue cultures, a number of clinical studies during which it was shown the undoubted participation of this metabolite in neurotoxicity, as well as data on the dependence of the severity of HE on the level of hyperammonemia [18]. It is shown that hyperammonemia can be not only of hepatic origin, and the development of encephalopathy on its background has similar mechanisms of development with HE ones [19]. Despite this, in literature there is still no definitive opinion regarding the degree of hyperammonemia level influence on the severity of HE, since in the significant number of clinical studies, particularly in patients with cirrhosis, any such correlation was found [20].

Most of ammonia is synthesized in intestine by the bacterial cleavage of amino acids, amines, purines, urea, during the metabolism of glutamine in enterocytes, and also sources are the liver, muscles and kidneys. Basically, ammonia is detoxified in periportal liver hepatocytes, where it is converted to urea by participating in the ornithine cycle. A smaller portion with the participation of glutamine synthetase is used in glutamine production in muscles, perivenous hepatocytes and brain astrocytes. In case of hepatic dysfunction and/or port-systemic shunting systemic ammonia concentration increases up to 10 times, while the main load for its detoxification is shifted to myocytes and astroglia [21]. In patients with liver cirrhosis and metabolic acidosis renal elimination of ammonium ions reaches 70 % of the total formed volume, and renal failure enhances HE in patients with liver cirrhosis [22]. Ammonia is pre-

sent in two forms: a weak base – gaseous form ( $\text{NH}_3$ ), and a weak acid – ionized form ( $\text{NH}_4^+$ ), has electrolyte conductivity properties and is a substrate and the product of the diversity of enzymatic reactions of brain. Both forms are able to penetrate through the plasma membrane, thereby maintaining acid-base homeostasis in tissue. The gaseous ammonia and ionized form are in dynamic equilibrium, which is defined by the Henderson–Hasselbach equation, so normally, at pH 7.4, the predominant form (approximately 98 %) of ammonia in the body is  $\text{NH}_4^+$  [23]. Ionized form is capable of dissolving in lipids, thus easily penetrates by diffusion into the CNS. It is known that  $\text{NH}_4^+$  has very similar ionic properties with  $\text{K}^+$  ions, which allows them to compete with each other in membrane ion channels, e.g., a voltage-dependent  $\text{K}^+$  channels and replace  $\text{K}^+$  ions in  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  and  $\text{H}^+/\text{K}^+$  ATP transporters. It has also been shown that  $\text{NH}_4^+$  can be carried in cell by  $\text{NH}_4^+/\text{Cl}^-$  and  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$  cotransporters and S. M. Saparov et al. showed the possibility of transportation of ammonia through aquaporin channels type 8 [24]. The astrocyte pH depends on the prevalence of a form of ammonia (ionised or gaseous) entry into the cell, which in turn depends on their initial concentration in blood, the rate of entrance into the cell and the quantitative ratio of membrane ammonia transporters. Thus, under physiological conditions, when  $\text{NH}_3$  is less than 2 %, diffusing, it leads to rapid intracellular contents alkalization. Subsequently, through the membrane channels listed, a smoother intake of  $\text{NH}_4^+$  occurs and an acidification of the intracellular medium develops [23]. Previously it was believed that the electric charge of  $\text{NH}_4^+$  does not allow it to penetrate the BBB, but now it turned out that it can penetrate through the transcellular barrier through potassium channels and transporters. In conditions of ALF this form of transport may be enhanced, and also joins  $\text{NH}_3$  paracellular transport path, which increases the total ammonia concentration in the brain tissue [25].

The most common view is that development of AHE is the result of astroglia dysfunction. Evidence of this concept again actively began to appear in last decades' literature. In the 80's Norenberg M. D. proposed to consider the astrocyte dysfunction initiating factor in the launch of a number of pathobiochemical reactions that determine the development of encephalopathy in hyperammonemia and other toxic influences. He suggested calling such a state of astroglia in this application "primary gliopathy" [26]. It has long been known, that at HE on the background of ALF pronounced cytotoxic edema develops in astrocytes, what is believed to be the main cause of edema-swelling of the brain and uncontrolled ICH. In view of the fact that glutamine synthetase (GlnS) enzyme necessary for the metabolism of ammonia in brain is localized exclusively in astrocytes, in conditions of hyperammonemia and developing glutamine transporter SNAT5 dysfunction, there is a rapid saturation of the intracellular pool of glutamine, which leads to hyperosmolarity, osmotic stress in the cytoplasm and its subsequent rapid edema. In animals experiments with the administration of an inhibitor of astrocytic GlnS the severity of edema was significantly decreased [27]. It is also supposed the active participation of glutamine in the mechanisms of oxidative and nitrosative stress, which are of great importance in the pathobiochemical cascade



reactions in brain in conditions of hyperammonemia [15]. On the other hand, in studies carried out on rat model of portocaval anastomoses with additional administration of ammonium acetate, it is shown that when using methionine sulphoximine, an inhibitor of glutamine synthetase, the drug does not completely arrested cerebral edema, indicating that the osmotic properties of glutamine only partially explain the mechanisms of edema development in conditions of hyperammonemia [28].

In 2006, J. Albrecht et al. published a paper on the mechanisms of glutamine participation in ammonia neurotoxicity, calling such model of influence "Trojan horse" scheme. Glutamine, accumulating in astrocytes, enters the mitochondria through histidine-sensitive glutamine transporters, where it is hydrolyzed by phosphate-activated glutaminase on the inner mitochondrial membrane, releasing ammonia and glutamate again. Thus, glutamine as "Trojan horse" is a hidden ammonia carrier. Achieving high concentrations of mitochondrial ammonia leads to changes in mitochondrial membrane potential, damages respiratory chain and leads to the formation of reactive oxygen species and oxidative stress development [15,29]. It is still not known how the ammonia-induced free radicals lead to the development of astrocytic edema. They are expected to damage directly the protein and lipid components of the mitochondrial membrane and cells plasmolemma, leading to violation of membrane permeability through disrupting the ion transport mechanisms. Disturbance of energy production and decreased control of ion transport leads to dysregulation of the cell volume [25]. Described mitochondrial changes are determined by the concept of mitochondrial permeability transition (MPT) – opening large unselective pore (permeability transition pore (PTP)) on the inner mitochondrial membrane, which leads to higher permeability for protons, ions and other small molecules and mitochondrial dysfunction development [15], sharp swelling of the mitochondrial matrix with partial until the total cristolysis.

In addition to disturbing the glutamate-glutamine conversion cycle, ammonia also participates in violation of neurotransmission, weakening of the blood brain barrier (BBB), the synthesis of pro-inflammatory cytokines, decreasing brain tissue energy metabolism, violation of cerebral blood circulation, anomalies of benzodiazepine and GABAergic tone.

An increased level of lactate in the brain tissue can serve the evidence of energy metabolism violation in brain in HE [15]. Between astrocyte swelling and oxidative stress there is a direct positive correlation, where one potentiates the other, forming a vicious circle. It is known that in edematous astrocytes oxidative-nitrosative stress occurs at the level of NADPH-oxidase, nitric synthase and mitochondria. Ammonia-induced oxidative-nitrosative stress leads to nitration of tyrosine protein endings and oxidation of astrocytic and neuronal RNA. Also nitrosative stress mobilizes zinc from intracellular stores, leading to inducing expression of metallothionein mRNA. In rat models of hyperammonemia RNA oxidation is observed predominantly in the perivascular astrocyte endings, as well as in the postsynaptic dendritic spines. This causes disturbance of gene expression, postsynaptic protein synthesis and synaptic plasticity, disturbs intracellular

signaling and glia-neuronal, neuro-neuronal interactions and determines neurotransmitter imbalance [30].

In vitro-experiments showed that ammonia, getting into the extracellular space, easily passes through astrocytic plasma membrane and alkalizes cell contents. This facilitates the exit of calcium from intracellular stores and explains the increase of exocytotic  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent glutamate release into the extracellular space [31]. Reduced ability of astrocytic glia to reuptake of glutamate from extracellular space under conditions of osmotic stress leads to its accumulation there and development of glutamate excitotoxicity of neurons, enhanced stimulation of astroglial glutamate receptors and aggravation of astroglial pathology [32]. Hyperammonemia is capable to increase the membrane potential of both neurons and astroglia. Activation of glutamate ionotropic receptor N-methyl-D-aspartate (NMDA) plays an important role in HE development. Opening of NMDA is controlled by extracellular magnesium ions through voltage-dependent block. It is considered that ammonia, increasing membrane potential, removes magnesium blocking, thereby improving the sensitivity of NMDA-receptors. For example, studies in HE animal models indicate increasing of glutamate neurotransmission by NMDA-receptors, at the same time violation of NMDA-dependent glutamate-NO-cGMP pathway can manifest themselves in behavioral abnormalities observed in HE patients [15]. Ammonia induce rapid decrease in astrocytic  $\text{K}^{+}$  buffering, what increases its extracellular concentration excessively and activates the  $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-2Cl}^{-}$  cotransport isoform-1 (NKCC1) in neurons. The subsequent depolarization of neuronal GABA reverse potential ( $E_{\text{GABA}}$ ) impairs cortical inhibitory system and can lead to local excitotoxicity that has clinical manifestations in HE [33]. On the other hand, hyperammonemia causes activation of the astrocytic peripheral-type benzodiazepine receptors [34], which is associated with increase in production of neurosteroids by mitochondria. In turn neurosteroids like benzodiazepines stimulate neuronal GABAergic receptors, which together with astrocytes reduced ability to capture extracellular GABA leads to enhancement of GABAergic tone in brain tissue. Thus, in the brain tissue of patients in hepatic coma pathologically high levels of allopregnanolone and pregnenolone were found [2]. All together it can drive to reduction of neurotransmission, and also provoke encephalopathy symptoms on the background of taking drugs tropic for GABA. Interestingly, in experiments on tissue cultures, allopregnanolone along with tetrahydrocorticosterone showed a significant reduction (up to 60 %) of the permeability of BBB after initial culture treatment with bacterial endotoxin, which initially increased its permeability by 87 % [35], which indicates a simultaneous protective effect of neurosteroids on the BBB during its toxic damage. Hyperammonemia causes changes in the BBB permeability to various molecules, including branched chain amino acids and aromatic amino acids. The content of the latter in the brain tissue is significantly increased, which is due to the synthesis of glutamine during the detoxification of ammonia. Increased intake of aromatic amino acids leads to violations of catecholamine production (serotonin and dopamine) and instead false neurotransmitters (octopamine and phenylethylamine) synthesis, which can deteriorate the serotonergic, GABA-ergic and glutamate-ergic

neurotransmission [36]. The total amount of most experimental investigations on animals HE models describe malfunctions of 4 neurotransmitter systems in the brain: GABA-benzodiazepin-ergic, dopaminergic, serotonergic and glutamate-ergic [1].

Physiologically astrocytes are involved in the regulation of synaptic transmission by  $Ca^{2+}$ -stimulated release of various "gliotransmitters", including glutamate, ATP and many others. Under normal conditions astrocytic ATP plays an important role in glial calcium fluxes and purinergic modulation of neuronal activity. Thus, increasing level of adenosine in the extracellular space of the brain tissue leads to sleepiness. Astrocytes play a key role in regulating adenosine levels in the extracellular space. Thus, by SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein receptor)-dependent mechanism they secrete ATP in the form of "dense-core" vesicles contents, and ATP further via ectonucleotidases is converted into adenosine [37]. Violations of this mechanism may underlie the early signs of HE in the form of "sleep-wakefulness" rhythm disturbances. At the same time in prolonged hyperammonemia in vitro studying and in animal HE models with portocaval shunting an inverse relationship was shown between the total level of ATP in the brain with the severity of astroglial changes and the severity of HE in animals.

Water exchange, along with cerebrospinal and neuropial (interstitial) liquid circulation mechanisms lies at the basis of aqueous homeostasis in the brain tissue. Aquaporins (Aqp) – transmembrane channels protein family responsible for water homeostasis in tissues. It is known that among 14 subtypes of aquaporins in the brain Aqp-1, Aqp-9 and Aqp-4 are most expressed, and all of them are involved in edema development. It is believed that from the above Aqp-4 has the greatest value in the mechanisms of edema development in acute and chronic liver failure. Its expression is highest in astrocytic domains responsible for water transport – perivascular astrocytic processes end-feet, submeningeal terminal end-feet – in the border regions between the cerebral parenchyma and the main liquid compartments represented by blood and cerebrospinal fluid. The water movement through astrocytic plasma membrane depends on the permeability of Aqp-4, the heterogeneity of its biochemical structure, the speed and directivity of intracellular transport of vesicles containing Aqp-4 components [37]. To provide the necessary distribution of Aqp-4 in the astrocytic plasma membrane, there are auxiliary intracellular and extracellular proteins. Thus, the intracellular protein  $\alpha$ -syntrophin binds Aqp-4 to the dystrophin-associated protein complex, which serves as a link between the transmembrane proteins and the cytoskeleton. Transmembrane protein pair  $\alpha$ - $\beta$ -dystroglycan binds Aqp-4 to the proteins of the vascular basement membrane arginine and laminin, which is necessary for perivascular concentration of water astrocytic channels [38]. During brain tissue damage the expression of these anchor proteins changes, which leads to the movement of Aqp-4 from the astrocytic vascular end-feet toward the rest of the plasmolemma and their wider spread in the soma cell region – a concept called "Aqp-4-dysregulation". Aqp-4-dysregulation phenomenon has been

shown in the first three days in animal models of stroke and traumatic injury and coincided in time with the most pronounced degree of cytotoxic edema [39]. On the other hand, this phenomenon can be regarded as an adaptive reaction of astrocytes, which when brain tissue is damaged move their water channels away from the vascular walls to prevent the entry of vasogenic water, as well as processes of astroglia reactivation, which include hypertrophy, migration, production of cytokines and other events [40]. The role of Aqp-4 channels has been shown in various models of cytotoxic and vasogenic edema. Thus, aquaporins are active participants in the development of cytotoxic edema and the processes of excess interstitial fluid elimination when vasogenic edema develops [41]. On the other hand, the role of Aqp-4 in cytotoxic edema in HE is still not clear and is subject to debate, as the data on the neurotoxic effects of ammonia in different experimental models are ambiguous. Rama Rao K. V. et al. when using the astrocytes culture observed pronounced increase in Aqp-4 expression in 10 hours after the treatment by 5 mMol  $NH_4Cl$  and further expression growth up to 48 h, which preceded the cytotoxic edema development [42]. G. Bodega et al. in the study of the effect of ammonia on the expression of Aqp-4 in astrocyte culture received conflicting data depending on the method of determining expression levels. However, using a set of techniques, most of the data indicated a decrease in astrocytic expression of Aqp-4, which was combined with the formation of insoluble protein aggregates in the plasma membrane, and apparently was a manifestation of the inactivation of aqueous channels under ammonia influence [43]. G. Wright et al. in experimental rat model of liver insufficiency noted an increase in Aqp-4 expression, however, no correlation was found between the expression levels of Aqp-4 and the level of hyperammonemia, the presence of sepsis, and the development of cerebral edema [44].

Interstitial fluid of the brain tissue is constantly renewed due to the inflow of water and dissolved substances from the bloodstream through the capillary endothelial ion channels and also due to water penetration from the cerebrospinal fluid from the Virchow-Robin periarterial spaces (VR- periarterial S), which are connected with the subarachnoid space. The anatomical and functional features of the VRS have not yet been clearly defined and continue to be the subject of active discussions in modern neuroscience. It is assumed that the exchange between cerebrospinal and interstitial fluid is mainly concentrated on their territory. So, from periarterial spaces under the influence of hydrostatic and osmotic pressure, water penetrates through Aqp-channels into the surrounding astrocytic syncytium and further into the parenchyma. In the brain parenchyma interstitial fluid moves transcellular and paracellular and reaching perivenous astrocytic processes, through water channels excreted in the VR-perivenous space. These mechanisms of the formation, exchange and purification of the interstitial fluid of the brain tissue are functional manifestations of the so-called brain "glymphatic system" [45]. This concept was proposed recently and is actively discussed in the current literature. New ideas about the processes of renewal and draining the liquid component of brain tissue, excretion of toxic metabolic

waste have already become a prerequisite for the creation of new theories of the pathogenesis of neurodegenerative diseases, ischemic, traumatic injury and other pathological states of the CNS. Water, as well as small and medium size molecules can penetrate from VR-periarterial spaces into perivascular astrocytic end-feet by paracellular and three transcellular pathways: water can penetrate by diffusion through the cell membrane, through the membrane cotransport through EAAT1 or NKCC1 and finally via Aqp-4 (bidirectional water transport). During glymphatic system functioning in the aqueous transcellular transport mechanisms exactly aquaporin pathway predominates [46].

Given the leading role of astrocytic glia in the functioning of the glymphatic system and the supposed concept of primary astroglipathy in the pathogenesis of HE, it is to be assumed that the violation of the processes of penetration and drainage of water, as well as the neurotoxic substances dissolved therein, may be of primary importance in the mechanisms of the development of hepatic encephalopathy, and many other toxic damage and may be metabolic disorders of the brain. Number of experimental studies, as well as the study of the autopsy material of patients with ALF demonstrated violation of the expression of several key astrocytic proteins: Aqp-4, GFAP (glial fibrillar acidic protein) [47], glutamine transporter SNAT5, glutamate transporters (GLT-1 (SLC1A2 – solute carrier family 1 member 2; EAAT2 – excitatory amino acid transporter-2)), glycine transporters (GLYT-1), glucose transporters (GLUT-1), peripheral type benzodiazepine receptors [48]. Thus, K. K. Thumburu et al. in the study of the cerebral cortex of 8 patients died in ALF showed an increase in the level of Aqp-4 mRNA and Aqp-4 IHC expression in the region of astrocyte microvascular perivascular end-feet, as well as marked decrease in mRNA level and intermediate filament protein GFAP expression on the background of the brain tissue cytotoxic edema pattern. A study of Aqp-4-knockout animals showed a marked deterioration in astroglia drainage function, which was manifested by a decrease in excretion of substances dissolved in the interstitial fluid [49]. These violations of the astrocytic water canals expression confirm the great importance of disturbances in the functioning of the glymphatic system in the development of HE.

It was previously believed that BBB is impenetrable for ammonia. This opinion was disproved by studies showing an increase extraction of ammonia from the blood by brain tissue in HE but to date this issue is still open [50]. The functions of the endothelium and the BBB tightness can be altered by a variety of substances, including ammonia, interleukins, NO, adenosine, purine nucleotides, steroid hormones, serotonin, bradykinin [36]. The high selectivity of the BBB permeability is due to the presence of tight junctions (TJ) between capillary endothelial cells, weakly expressed pinocytosis transport and thickened basement membrane. The structure of TJ is represented by transmembrane proteins, including junctional adhesion molecules, occludin, claudin, and intracellular protein domains that connect this complex with cytoskeleton elements and ensure the stability of TJ (zona occludin (ZO)-1, -2, and -3). It is known that damage to these protein complexes leads to a significant increase in the permeability of BBB and the development of cerebral edema [51]. The role of

metalloproteinases (MMPs) is noted among the proposed mechanisms of tight junctions' proteins damage. Being released to the intercellular space they regulate the state of the intercellular matrix, for example, in the process of cell growth, migration, cell and tissue remodeling, synaptic plasticity. It is known that in the adult brain MMPs can be synthesized by microglial cells, astroglia, neurons and in physiological conditions MMPs are either absent or present in undetectable amounts. The pathogenic effect of MMPs is manifested in increasing permeability of BBB, in the processes of demyelination, stimulation of fibrosis of blood vessels, development of gliosis, damage to neurons and other influences [52]. MMP-9 and MMP-2 have the highest value in the development of cerebral edema. In ALF-azoxymethane rat model it was showed that MMP-9 was not detected in the brain tissue during AHE, but in the liver tissue its mRNA level was increased more than 8 times, which could indicate that the effect of MMP-9 on the BBB was performed from the blood side, and the increased plasma level of MMP-9 was due to its release from the damaged liver tissue. In this case, animals in precoma had the highest blood level of MMP-9, and the degree of cerebral edema was the highest in the coma stage [53]. Data regarding the participation of MMPs in the development of edema in HE, especially its chronic forms, are still too insufficient to determine their role in the damage of the BBB and the issue requires further detailed study. Currently, there is an active discussion of whether changes in the permeability of the BBB are the result of the ALF itself, or they are secondary to such complications of ALF, as systemic inflammatory response and sepsis.

Much attention has been paid to the role of the endothelium in edema development in hyperammonemia. Forming the first level of the vascular barrier for incoming neurotoxins, they are the first to undergo their influence. Endothelial cells are able to activate a number of pro-inflammatory factors such as COX-2, iNOS, phospholipase-A2, transcriptional nuclear factor kappa-B (NF- $\kappa$ B), which in turn contribute to the processes of cell swelling through cytokines, reactive oxygen and nitrogen species (ROS/NOS), arachidonic acid, and other factors. Activation of endothelial receptors to IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  leads to stimulation and additional cytokines synthesis, exacerbating mechanisms of edema development in AHE [15]. In experiments using the cultures of endotheliocytes, astrocytes and on models of AHE in rats, the formation of oxygen radicals, nitric oxide, signs of oxidative-nitrosative stress, activation of NF- $\kappa$ B in endotheliocytes when addition of ammonia or a mixture of ammonia, endotoxin (lipopolysaccharide, LPS) and pro-inflammatory cytokines were shown. When adding such treated endothelial cells to astrocytic culture, the latter developed a pronounced cytotoxic edema. At the same time the use of ammonia with antioxidants or NF- $\kappa$ B inhibitor BAY 11-7082 the severity of astrocytes swelling decreased significantly. Thus it was shown the important role of endothelial dysfunction in astrocytes swelling and brain edema as a whole in AHE [54].

The results of many experimental studies have shown that HE is characterized by the breakdown of cerebral circulation autoregulation system. Hyperemia and increase rate of cerebral blood flow, which are typical for AHE/hyperammonemia, little depends on glutamine level



in the cerebrospinal fluid (CSF) and follows immediately after reaching the maximum of glutamine in astrocytes and water content in the brain parenchyma, while NOS inhibitors do not prevent cerebral blood flow (CBF) increasing and the occurrence of ICH [55]. This may indicate that the NO-dependent mechanism of hyperemia does not have a proper value in the case of hyperammonemia. A high level of CBF is complicated by the movement of water through the BBB into the osmotically compromised brain tissue and enhances the ICH.

In liver failure, in addition to astroglial changes were detected in the microglial cells, in which there are signs of reactivation and inclusion in neuroinflammatory response. Studies have shown that an increase in the general permeability of BBB in hyperammonemia was followed by reactive changes in microglia [56]. During IHC study of dead patients' brains in HE in 4/9 cases positive expression of PCNA and Ki-67 markers together with such expression of Iba-1 (ionized calcium binding adaptor molecule 1 – a specific marker of microglial cells) in hippocampal subventricular zone were found. Cases with so-called "proliferative HE" were characterized by higher levels of IL-6 in the brain tissue, and a slightly higher density of neurons. While "nonproliferative HE" were characterized by degenerative changes in microglia of the white matter. This suggested an early favorable effect of microglial activation and proliferation in the mechanisms of neuroprotection, which nevertheless proved ineffectiveness under conditions of ongoing hyperammonemia and systemic inflammation [57]. IL-1b, IL-6 and TNF- $\alpha$  play an important role in the development of ICH and HE progression. These proinflammatory cytokines can enter the brain tissue with blood from the damaged liver and can also be synthesized by reactive microglia. Thus, it is known that in extracellular vesicles of microglia IL-1b, IL-6, iNOS and cyclooxygenase-2 [58] are expressed and pro-IL-1b is included in the ectosome together with procaspase-1, the P2X<sub>7</sub> receptor and other inflammasomal components described in monocytes [59]. Development of systemic inflammation (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) is very typical for ALF. This inflammatory reaction may not be limited to "periphery", but involve the brain and unfold there as a complete neuroinflammatory response [60]. In this context, the synthesis of microglia cytokines and the development of neuroinflammation are expected as a result of the reactive response of microglia to ammonia intoxication [56] and make a significant contribution to the mechanism of nervous tissue damage along with the toxic effects of ammonia.

Over the past few years, the role of systemic inflammation in the development of edema and ICH in HE has actively been discussed, as opposed to the dominant role of hyperammonemia [61]. Infectious factor in HE development plays a significant role, which allows comparing the mechanisms of encephalopathy development in ALF and septic encephalopathy. However, the specific mechanisms for participation of infectious agents and their metabolites in the pathogenesis of HE are not yet fully understood. It is still not known whether the infection itself is the HE exacerbating factor or damaging is the inflammatory response of the body [1]. In the modeling of endotoxemia by administration of LPS in the AHE model,

a marked increase in cerebral edema was noted, indicating that systemic inflammation, presence of infection and the concomitant increase in the level of cytokines can significantly aggravate the cytotoxic edema of the brain [60]. Also in blood of patients with minimal HE there is increasing level of pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6. Also systemic inflammation causes an increase in systemic and intracerebral level of vascular endothelial growth factor (VEGF) and IL-1beta [48]. The pro-inflammatory effect of VEGF is caused by activation of endothelial cells and increase of their permeability. The development of SIRS signs may reflect the presence of subclinical infection, but also means the development of inflammatory response and activation of anti-inflammatory response which ultimately can lead to further activation of infection [62,63]. It was shown that vasogenic edema in AHE is likely caused by infectious complications of ALF in the form of spontaneous peritonitis caused by translocation of bacterial intestinal flora, SIRS or septicemia. Under these conditions, the level of bacterial endotoxins (LPS), that are considered a classic factor of BBB integrity damage [64], will increase in blood.

Recently, interesting results were also obtained in the study of the influence of intestinal microbiota state on the severity of HE. In patients with HE on the background of liver cirrhosis ratio of autochthonous (*Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* etc.) and other microflora (*Enterobacteriaceae*, *Burkholderiaceae*, *Streptococcaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Parabacteroides* etc.) was significantly changed in the intestinal mucosa towards the latter. Such dysbiosis leads to excessive growth of intestinal flora, increased intestinal ammonia level and intestinal barrier permeability, decreased intestinal motility, microflora translocation and its interaction with immune cells in the intestinal wall, increased endotoxemia and circulating pro-inflammatory cytokines, which in combination supports systemic inflammation and aggravates toxic encephalopathy [65].

## Conclusions

Despite a large number of experimental studies using animal models, tissue cultures and clinical studies of brain tissue in HE in the world literature to date there is no unified view on the mechanisms of HE development in acute and chronic course of the disease on the background of different etiological factors and concomitant pathology. Only discrete links of pathogenesis have been formulated, which still, in view of the postmortal and clinic-anatomical complex studies insufficiency, do not allow creating a single concept of brain damage in HE.

**Prospects for further scientific research.** Given the growing interest in the role of astroglia in neuropathological processes, the latest research on water metabolism in the brain tissue and its drainage system, mechanisms of BBB damage and neuroinflammation processes, there are a number of prerequisites for a deeper and comprehensive study of these aspects in the searching for universal components of HE pathogenesis. These actions could be useful in developing of preventive measures and more targeted therapies aimed at the subtle links of the mechanisms of HE development.

## References

- [1] Ferenci, P. (2017). Hepatic encephalopathy. *Gastroenterology Report*, 5(2), 138–147. doi: <http://doi.org/10.1093/gastro/gox013>.
- [2] Butterworth, R. (2016). Neurosteroids in hepatic encephalopathy: Novel insights and new therapeutic opportunities. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160, 94–97. doi: [10.1016/j.jsbmb.2015.11.006](http://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.11.006).
- [3] Volk, M., Tocco, R., Bazick, J., Rakoski, M., & Lok, A. (2012). Hospital Readmissions Among Patients With Decompensated Cirrhosis. *The American Journal of Gastroenterology*, 107(2), 247–252. doi: [10.1038/ajg.2011.314](http://doi.org/10.1038/ajg.2011.314).
- [4] Stepanova, M., Mishra, A., Venkatesan, C., & Younossi, Z. M. (2012). In-hospital mortality and economic burden associated with hepatic encephalopathy in the United States from 2005 to 2009. *Clin Gastroenterol Hepatol.*, 10, 1034–1041. doi: [10.1016/j.cgh.2012.05.016](http://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.05.016).
- [5] Hassan, E., Abd El-Rehim, A., Seifeldin, G., & Shehata, G. (2014). Minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis: Magnetic resonance spectroscopic brain findings versus neuropsychological changes. *Arab Journal of Gastroenterology*, 15(3-4), 108–113. doi: [10.1016/j.ajg.2014.09.003](http://doi.org/10.1016/j.ajg.2014.09.003).
- [6] Elwir, S., & Rahimi, R. S. (2017). Hepatic Encephalopathy: An Update on the Pathophysiology and Therapeutic Options. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 5(2), 142–151. doi: [10.14218/JCTH.2016.00069](http://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00069).
- [7] Bustamante, J., Rimola, A., Ventura, P., Navasa, M., Cirera, I., Reggiardo, V., & Rodés, J. (1999). Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 30(5), 890–895.
- [8] Kaplan, P., & Rossetti, A. (2011). EEG Patterns and Imaging Correlations in Encephalopathy. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 28(3), 233–251. doi: [10.1097/WNP.0b013e31821c33a0](http://doi.org/10.1097/WNP.0b013e31821c33a0).
- [9] Ding, A., Lee, A., Callender, M., Loughrey, M., Quah, S., & Dinsmore, W. (2010). Hepatic encephalopathy as an unusual late complication of transjugular intrahepatic portosystemic shunt insertion for non-cirrhotic portal hypertension caused by nodular regenerative hyperplasia in an HIV-positive patient on highly active antiretroviral therapy. *International Journal of STD & AIDS*, 21(1), 71–72. doi: [10.1258/ijsa.2009.009038](http://doi.org/10.1258/ijsa.2009.009038).
- [10] Ferenci, P., Litwin, T., Seniow, J., & Czlonkowska, A. (2015). Encephalopathy in Wilson Disease: Copper Toxicity or Liver Failure? *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 5 (Suppl 1), S88-S95. doi: [10.1016/j.jceh.2014.09.002](http://doi.org/10.1016/j.jceh.2014.09.002).
- [11] Upadhyay, R., Bleck, T., & Busl, K. (2016). Hyperammonemia: What Urea-ly Need to Know: Case Report of Severe Noncirrhotic Hyperammonemic Encephalopathy and Review of the Literature. *Case Reports in Medicine*, 2016, 1–10. doi: <http://doi.org/10.1155/2016/8512721>.
- [12] Wendon, J., Cordoba, J., Dhawan, A., Larsen, F., Manns, M., Nevens, F., et al. (2017). EASL Clinical Practical Guidelines on the management of acute (fulminant) liver failure. *Journal of Hepatology*, 66(5), 1047–1081. doi: [10.1016/j.jhep.2016.12.003](http://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.003).
- [13] Vilstrup, H., Amodio, P., Bajaj, J., Cordoba, J., Ferenci, P., Mullen, K., et al. (2014). Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology*, 60(2), 715–735. doi: [10.1002/hep.27210](http://doi.org/10.1002/hep.27210).
- [14] Bajaj, J., Cordoba, J., Mullen, K., Amodio, P., Shawcross, D., Butterworth, R., & Morgan, M. (2011). Review article: the design of clinical trials in hepatic encephalopathy – an International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) consensus statement. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 33(7), 739–747. doi: [10.1111/j.1365-2036.2011.04590.x](http://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04590.x).
- [15] Perazzo, J., Tallis, S., Delfante, A., Souto, P. A., Lemberg, A., Eizayaga, F. X., & Romay, S. (2012). Hepatic encephalopathy: An approach to its multiple pathophysiological features. *World Journal of Hepatology*, 4(3), 50–65. doi: [10.4254/wjh.v4.i3.50](http://doi.org/10.4254/wjh.v4.i3.50).
- [16] Ramachandran, A., & Jaeschke, H. (2017). Mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity and their translation to the human pathophysiology. *Journal of Clinical and Translational Research*, 3 (Suppl 1), 157–169. doi: [10.18053/jctres.03.2017S1.002](http://doi.org/10.18053/jctres.03.2017S1.002).
- [17] Elwir, S., & Rahimi, R. S. (2017). Hepatic Encephalopathy: An Update on the Pathophysiology and Therapeutic Options. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 5(2), 142–151. doi: [10.14218/JCTH.2016.00069](http://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00069).
- [18] Khan, A., Ayub, M., & Khan, WM (2016). Hyperammonemia Is Associated with Increasing Severity of Both Liver Cirrhosis and Hepatic Encephalopathy. *International Journal of Hepatology*, 2016, 6741754. doi: [10.1155/2016/6741754](http://doi.org/10.1155/2016/6741754).
- [19] Acharya, G., Mehra, S., Patel, R., Frunza-Stefan, S., & Kaur, H. (2016). Fatal Nonhepatic Hyperammonemia in ICU Setting: A Rare but Serious Complication following Bariatric Surgery. *Case Reports in Critical Care*, 2016 (2016), doi: [10.1155/2016/8531591](http://doi.org/10.1155/2016/8531591).
- [20] Dam, G., Keiding, S., Munk, O. L., Ott, P., Vilstrup, H., Bak, L. K., et al. (2013). Hepatic encephalopathy is associated with decreased cerebral oxygen metabolism and blood flow, not increased ammonia uptake. *Hepatology*, 57(1), 258–265. doi: [10.1002/hep.25995](http://doi.org/10.1002/hep.25995).
- [21] Walker, V. (2014) Ammonia metabolism and hyperammonemic disorders. *Adv Clin Chem.*, 67, 73–150. doi: [10.1016/bs.acc.2014.09.002](http://doi.org/10.1016/bs.acc.2014.09.002).
- [22] Wright, G., Noiret, L., Olde Damink, S., & Jalan, R. (2011). Interorgan ammonia metabolism in liver failure: the basis of current and future therapies. *Liver International*, 31(2), 163–175. doi: [10.1111/j.1478-3231.2010.02302.x](http://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02302.x).
- [23] Bosoi, C. R., & Rose, C. (2009). Identifying the direct effects of ammonia on the brain. *Metabolic Brain Disease*, 24, 95–102. doi: [10.1007/s11011-008-9112-7](http://doi.org/10.1007/s11011-008-9112-7).
- [24] Saparov, S., Liu, K., Agre, P., & Pohl, P. (2007). Fast and Selective Ammonia Transport by Aquaporin-8. *Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5296–5301. doi: [10.1074/jbc.M609343200](http://doi.org/10.1074/jbc.M609343200).
- [25] Scott, T. R., Kronsten, V. T., Hughes, R. D., & Shawcross, D. L. (2013). Pathophysiology of cerebral oedema in acute liver failure. *Journal of Gastroenterology world: WJG*, 19(48), 9240–9255. doi: [10.3748/wjg.v19.i48.9240](http://doi.org/10.3748/wjg.v19.i48.9240).
- [26] Norenberg, M. D. (1998) Astroglial dysfunction in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis.*, 13(4), 319–335.
- [27] Desjardins, P., Du, T., Jiang, W., Peng, L., & Butterworth, R. F. (2012). Jiang Pathogenesis of hepatic encephalopathy and brain edema in acute liver failure: role of glutamine redefined. *Neurochem Int.*, 60, 690–696. doi: [10.1016/j.neuint.2012.02.001](http://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.02.001).
- [28] Blei, A. T., Olafsson, S., Therrien, G., & Butterworth, R. F. (1994). Ammonia-induced brain edema and intracranial hypertension in rats after portacaval anastomosis. *Hepatology*, 19(6), 1437–1444. doi: [10.1002/hep.1840190619](http://doi.org/10.1002/hep.1840190619).
- [29] Bustamante, J., Lores-Arnaiz, S., Tallis, S., Roselló, D. M., Lago, N., Lemberg, A., et al. (2011). Mitochondrial dysfunction as a mediator of hippocampal apoptosis in a model of hepatic encephalopathy. *Mol the Cell Biochem*, 354(1-2), 231–240. doi: [10.1007/s11010-011-0822-5](http://doi.org/10.1007/s11010-011-0822-5).
- [30] Görg, B., Schliess, F., & Häussinger, D. (2013). Osmotic and oxidative/nitrosative stress in ammonia toxicity and hepatic encephalopathy. *Arch Biochem Biophys*, 536(2), 158–63. doi: [10.1016/j.abb.2013.03.010](http://doi.org/10.1016/j.abb.2013.03.010).
- [31] Rose, C., Kresse, W., & Kettenmann, H. (2005). Acute insult of ammonia leads to calcium-dependent glutamate release from cultured astrocytes, an effect of pH. *J. Biol. Chem.*, 280(22), 20937–20944. doi: [10.1074/jbc.M412448200](http://doi.org/10.1074/jbc.M412448200).
- [32] Montana, V., Verkhratsky, A., & Parpura, V. (2014). Pathological Role for Exocytotic Glutamate Release from Astrocytes in Hepatic Encephalopathy. *Neuropharmacology Current*, 12(4), 324–333. doi: [10.2174/1570159X12666140903094700](http://doi.org/10.2174/1570159X12666140903094700).
- [33] Thrane, V. R., Thrane, A. S., Wang, F., Cotrina, M. L., Smith, N. A., Chen, M., et al. (2013). Ammonia triggers neuronal disinhibition and seizures by impairing astrocyte potassium buffering. *Nature Medicine*, 19, 1643–1648. doi: [10.1038/nm.3400](http://doi.org/10.1038/nm.3400).
- [34] Basile, A., Hughes, R., Harrison, P., Murata, Y., Pannell, L., Jones, E., et al. (1991). Elevated Brain Concentrations of 1,4-Benzodiazepines in Fulminant Hepatic Failure. *New England Journal of Medicine*, 325(7), 473–478. doi: [10.1056/NEJM199108153250705](http://doi.org/10.1056/NEJM199108153250705).
- [35] Jayakumar, A. R., Ruiz-Cordero, R., Tong, X. Y., & Norenberg, M. D. (2013). Brain Edema in Acute Liver Failure: Role of Neurosteroids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 536(2), 171–175. doi: [10.1016/j.abb.2013.03.007](http://doi.org/10.1016/j.abb.2013.03.007).
- [36] Skowrońska, M., & Albrecht, J. (2012). Alterations of blood brain barrier function in hyperammonemia: an overview. *Neurotoxicity Research*, 21(2), 236–244. doi: [10.1007/s12640-011-9269-4](http://doi.org/10.1007/s12640-011-9269-4).
- [37] Verkhratsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J., & Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *The EMBO Journal*, 35(3), 239–257. doi: [10.15252/embj.201592705](http://doi.org/10.15252/embj.201592705).
- [38] Noell, S., Wolburg-Buchholz, K., Mack, A. F., Beedle, A. M., Satz, J. S., Campbell, K. P., & Fallier-Becker, P. (2011). Evidence for a role of dystroglycan regulating the membrane architecture of astroglial endfeet. *The European Journal of Neuroscience*, 33(12), 2179–2186. doi: [10.1111/j.1460-9568.2011.07688.x](http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07688.x).
- [39] Ren, Z., Iliff, J., Yang, L., Yang, J., Chen, X., Chen, M., et al. (2013). 'Hit & Run' Model of Closed-Skull Traumatic Brain Injury (TBI) Reveals Complex Patterns of Post-Traumatic AQP4 Dysregulation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 33(6), 834–845. doi: [10.1038/jcbfm.2013.30](http://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.30).
- [40] Li, L., Zhang, H., Varrin-Doyer, M., Zamvil, S. S., & Verkman, A. S. (2011). Proinflammatory role of aquaporin-4 in autoimmune neuroinflammation. *The FASEB Journal*, 25(5), 1556–1566. doi: [10.1096/fj.10-177279](http://doi.org/10.1096/fj.10-177279).
- [41] Filippidis, A. S., Carozza, R. B., & Rekate, H. L. (2016). Aquaporins in Brain Edema and Neuropathological Conditions. *Journal of Molecular International Sciences*, 18(1), 55. doi: [10.3390/jims18010055](http://doi.org/10.3390/jims18010055).
- [42] Rama Rao, K. V., Chen, M., Simard, J. M., & Norenberg, M. D. (2003). Increased aquaporin-4 expression in ammonia-treated cultured astrocytes. *Neuroreport*, 19, 14(18), 2379–82. doi: [10.1097/01.wnr.0000099610.19426.a6](http://doi.org/10.1097/01.wnr.0000099610.19426.a6).

- [43] Bodega, G., Suárez, I., López-Fernández, L. A., García, M. I., Kööfber, M., Penedo, M., et al. (2012) Ammonia induces aquaporin-4 rearrangement in the plasma membrane of cultured astrocytes. *Neurochem. Int.* 61, 1314–1324. doi: 10.1016/j.neuint.2012.09.008.
- [44] Wright, G., Soper, R., Brooks, H. F., Stadlbauer, V., Vairappan, B., Davies, N. A., et al. (2010). Role of aquaporin-4 in the development of brain oedema in liver failure. *J Hepatol*, 53, 91–97. doi: 10.1016/j.jhep.2010.02.020.
- [45] Iliff, J. J., & Nedergaard, M. (2013). Is there a cerebral lymphatic system? *Stroke; a Journal of Cerebral Circulation*, 44(601), S93–S95. doi: 10.1161/STROKEAHA.112.678698.
- [46] Stokum, J. A., Kurland, D. B., Gerzanich, V., & Simard, J. M. (2015). Mechanisms of Astrocyte-Mediated Cerebral Edema. *Neurochemical Research*, 40(2), 317–328. doi: 10.1007/s11064-014-1374-3.
- [47] Thumburu, K. K., Dhiman, R. K., Vasishta, R. K., Chakraborti, A., Butterworth, R. F., Beauchesne, E., et al. (2014). Expression of astrocytic genes coding for proteins implicated in neural excitation and brain edema is altered after acute liver failure. *J Neurochem*, 128(5), 617–627. doi: 10.1111/jnc.12511.
- [48] Butterworth, R. F. (2015). Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy and Brain Edema in Acute Liver Failure. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 5(Suppl 1), S96–S103. doi: 10.1016/j.jceh.2014.02.004.
- [49] Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., et al. (2012). A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid  $\beta$ . *Science Translational Medicine*, 4(147), 147ra111. doi: 10.1126/scitranslmed.3003748.
- [50] Goldbecker, A., Buchert, R., Berding, G., Bokemeyer, M., Lichtinghagen, R., Wilke, F., et al. (2010). Blood–brain barrier permeability for ammonia in patients with different grades of liver fibrosis is not different from healthy controls. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 30(7), 1384–1393. doi: 10.1038/jcbfm.2010.22.
- [51] Castejón, O. J. (2012). Ultrastructural pathology of endothelial tight junctions in human brain oedema. *Folia Neuropathol*, 50(2), 118–129.
- [52] Brkic, M., Balusu, S., Libert, C., & Vandenbroucke, R. E. (2015). Friends or Foes: Matrix Metalloproteinases and Their Multifaceted Roles in Neurodegenerative Diseases. *Mediators of Inflammation*, 2015, 620581. doi: 10.1155/2015/620581.
- [53] Nguyen, J. H., Yamamoto, S., Steers, J., Sevlever, D., Lin, W., Shimojima, N., et al. (2006). Matrix metalloproteinase-9 contributes to brain extravasation and edema in fulminant hepatic failure mice. *Journal of Hepatology*, 44(6), 1105–1114. doi: 10.1016/j.jhep.2005.09.019.
- [54] Jayakumar, A. R., Tong, X. Y., Ospel, J., & Norenberg, M. D. (2012). Role of Cerebral Endothelial Cells in the Astrocyte Swelling and Brain Edema Associated with Acute Hepatic Encephalopathy. *Neuroscience*, 218, 305–316. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.05.006.
- [55] Larsen, F. S., Gottstein, J., & Blei, A. T. (2001). Cerebral hyperemia and nitric oxide synthase in rats with ammonia-induced brain edema. *Journal Of Hepatology*, 34(4), 548–554. doi: 10.1016/S0168-8278(00)00069-6.
- [56] Zemtsova, I., Gorg, B., Keitel, V., Bidmon, H. J., Schror, K., & Haussinger, D. (2011). Microglia activation in hepatic encephalopathy in rats and humans. *Hepatology*, 54(1), 204–215. doi: 10.1002/hep.24326.
- [57] Dennis, C. V., Sheahan, P. J., Graeber, M. B., Sheedy, D. L., Kril, J. J., & Sutherland, G. T. (2014). Microglial proliferation in the brain of chronic alcoholics with hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*, 29(4), 1027–1039. doi: 10.1007/s11011-013-9469-0.
- [58] Verderio, C., Cagnoli, C., Bergami, M., Francolini, M., Schenk, U., Colombo, A. et al. (2012). Tf's – the VAMP/VAMP7 is the SNARE of secretory lysosomes contributing to ATP secretion from astrocytes. *Biol Cell*, 104(4), 213–28. doi: 10.1111/boc.201100070.
- [59] Sarkar, A., Mitra, S., Mehta, S., Raices, R., & Wewers, M. D. (2009). Monocyte Derived Microvesicles Deliver a Cell Death Message via Encapsulated Caspase-1. *PLoS ONE*, 4(9), e7140. doi: 10.1371/journal.pone.0007140.
- [60] Butterworth, R. F. (2011). Hepatic encephalopathy: a central neuroinflammatory disorder? *Hepatology*, 53(4), 1372–1376. doi: 10.1002/hep.24228.
- [61] Shawcross, D. L., Sharifi, Y., Canavan, J. B., Yeoman, A. D., Abelles, R. D., Taylor, N. J., et al. (2011). Infection and systemic inflammation, not ammonia, are associated with Grade 3/4 hepatic encephalopathy, but not mortality in cirrhosis. *Journal of hepatology*, 54(4), 640–649. doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.045.
- [62] Wright, G., Davies, N. A., Shawcross, D. L., Hodges, S. J., Zwillingmann, C., Brooks, H. F., et al. (2007). Endotoxemia produces coma and brain swelling in bile duct ligated rats. *Hepatology*, 45(6), 1517–1526. doi: 10.1002/hep.21599.
- [63] Donnelly, M. C., Hayes, P. C., & Simpson, K. J. (2016). Role of inflammation and infection in the pathogenesis of human acute liver failure: Clinical implications for monitoring and therapy. *World Journal of Gastroenterology*, 22(26), 5958–5970. doi: 10.3748/wjg.v22.i26.5958.
- [64] Aldridge, D. R., Tranah, E. J., & Shawcross, D. L. (2015). Pathogenesis of Hepatic Encephalopathy: Role of Ammonia and Systemic Inflammation. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 5(Suppl 1), S7–S20. doi: 10.1016/j.jceh.2014.06.004.
- [65] Bajaj, J. S. (2014). The role of microbiota in hepatic encephalopathy. *Gut Microbes*, 5(3), 397–403. doi: 10.4161/gmic.28684.

#### Information about authors:

Shulyatnikova T. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Shavrin V. A., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

#### Відомості про авторів:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Шаврін В. О., д-р мед. наук, доцент, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна

#### Сведения об авторах:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Шаврин В. А., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшло до редакції / Received: 19.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 02.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 06.11.2017