

# Патологія



Том 16, № 1(45), січень – квітень 2019 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)  
чл.-кор. НАМН України, 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)  
чл.-кор. НАН України, проф. Г.Г. Скібо (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, РФ)  
проф. Я.Я. Боднар (Тернопіль)  
проф. Кристер Буш (Уппсала, Швеція)  
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. Джордж Контотеорос (Афіни, Греція)  
проф. Г.О. Леженко (Запоріжжя)  
проф. І.О. Михайлюк (Івано-Франківськ)  
проф. Барат Натвані (Лос-Анджелес, США)  
проф. М.К. Недзведь (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. Шоджи Фукушіма (Канагава, Японія)

## Pathologia

Volume 16 No. 1 January – April 2019

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

© Патологія, 2019

## Editorial Board

Editor-in-Chief – V.O. Tumanskyi  
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov  
Executive secretary – S.I. Tertyshnyi

T.M. Boichuk (Chernivtsi, Ukraine)  
O.V. Hancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)  
S.H. Hychka (Kyiv, Ukraine)  
Yu.M. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.D. Markovskiy (Kharkiv, Ukraine)  
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)  
O.H. Reznikov (Kyiv, Ukraine)  
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)  
V.O. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
H.A. Shyfrin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.S. Shponka (Dnipro, Ukraine)  
H.H. Skibo (Kyiv, Ukraine)  
T.D. Zadorozhna (Kyiv, Ukraine)  
S.M. Zavhorodnyi (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)  
I.S. Davydenko (Chernivtsi, Ukraine)  
O.O. Diadyk (Kyiv, Ukraine)  
Sh. Fukushima (Kanagawa, Japan)  
A.I. Hozhenko (Odessa, Ukraine)  
M. Jelen (Wroclaw, Poland)  
F. Joubert (Paris, France)  
L.V. Kakturskiy (Moscow, RF)  
O.M. Kamyshnyi (Zaporizhzhia, Ukraine)  
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)  
H.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.O. Mykhailiuk (Ivano-Frankivsk, Ukraine)  
B. Nathwani (Los Angeles, USA)  
M.K. Nedzved (Minsk, Belarus)  
M.A. Paltsev (Moscow, RF)  
Yu.O. Pospishil (Lviv, Ukraine)  
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)  
V.P. Silchenko (Kyiv, Ukraine)  
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)

Maiakovskiy 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



### Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ  
протокол № 9 від 16.04.2019 р.  
Підписано до друку  
17.04.2019 р.

### Редакція:

Начальник редакційно-  
видавничого відділу  
В.М. Миклашевський  
Літературний редактор  
О.С. Савеленко  
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 60x841/8.  
© Папір крейдяний,  
безкислотний,  
Умов. друк. арк. 6.  
Тираж 200 прим.  
Зам. № 4/19.

## Оригінальні дослідження

- Ганчева О. В., Данукало М. В., Мельнікова О. В.**  
Морфоденситометричні характеристики ядер нейронів блакитної плями стовбура мозку шурів при експериментальній артеріальній гіпертензії
- Скобська О. Є., Кваша О. М., Педаченко Ю. Є., Готін О. С., Малишева О. Ю.**  
Комплексне отоневрологічне оцінювання вестибулярної симптоматики при бойовій черепно-мозковій травмі легкого ступеня тяжкості внаслідок вибухової дії
- Сейд Аббас Гашемі, Сейд Мохаммад Валізاده, Саназ Гонооді, Ірадж Малекі**  
Ендоскопічні дані та наслідки кровотечі з верхніх відділів шлунково-кишкового тракту в пацієнтів у північній частині Ірану, яких направили у відділення невідкладної допомоги
- Бондаренко Н. П., Жежера В. М., Аксьонова А. В.**  
Фетальний міокардит – провісник небажаних наслідків внутрішньоутробного інфікування парвовірусом B19
- Калашник К. В., Рябоконт Ю. Ю., Рябоконт О. В.**  
Взаємозв'язки імунологічних порушень із поліморфізмом гена інтерлейкіну-6 та їхня роль у формуванні HCV-асоційованої змішаної криоглобулінемії
- Коваль Т. І., Сизова Л. М., Дубинська Г. М., Прийменко Н. О., Руденко С. С.**  
Прогностична модель швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С
- Мельниченко М. Г., Ситнікова В. О., Квашніна А. А.**  
Результати експериментального моделювання післяопераційних перитонеальних спайок
- Сыволап В. Д., Капшитарь Н. И.**  
Кардиальное ремоделирование в остром периоде Q-инфаркта миокарда, осложненного острой сердечной недостаточностью на фоне гипергликемии
- Михайловська Н. С., Стецюк І. О.**  
Взаємозв'язок показників кардіоваскулярного ремоделювання зі станом мінеральної щільності кісткової тканини в жінок з ішемічною хворобою серця
- Тіш М., Лисак А. В., Дядик О. О.**  
Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії
- Пославська О. В., Шпонька І. С., Гриценко П. О., Петрова М. Ю.**  
Метастатичне ураження кісток у чоловіків у поєднанні з підвищенням сироваткового PSA з погляду діагностики карцином невідомої первинної локалізації
- Шишкин М. А.**  
MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: характеристика иммуногистохимической экспрессии в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника
- Гребняк М. П., Федорченко Р. А.**  
Вплив індустріальних атмосферних забруднень на розвиток патології органів дихання

## Original research

- 4 Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V.**  
Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension
- 9 Skobska O. Ye., Kvasha O. M., Pedachenko Yu. Ye., Hotin O. S., Malysheva O. Yu.**  
Complex otoneurological evaluation of vestibular disorders in mild blast traumatic brain injury
- 16 Seyyed Abbas Hashemi, Seyed Mohammad Valizadeh, Sanaz Gonoodi, Iradj Maleki**  
Endoscopic findings and outcomes of upper gastrointestinal bleeding patients in northern Iran population referred to the emergency department
- 21 Bondarenko N. P., Zhezhera V. M., Aksonova A. V.**  
Fetal myocarditis – a precursor of undesirable consequences of intrauterine infection with parvovirus B19
- 27 Kalashnyk K. V., Riabokon Yu. Yu., Riabokon O. V.**  
Interaction of polymorphism of the interleukin-6 gene with immunological damages and their role in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C
- 33 Koval T. I., Syzova L. M., Dubynska H. M., Pryimenko N. O., Rudenko S. S.**  
Prognostic model of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C
- 39 Melnychenko M. H., Sytnikova V. O., Kvashnina A. A.**  
Results of experimental modeling of postoperative peritoneal adhesions
- 45 Syvolap V. D., Kapshytar N. I.**  
Cardiac remodeling in the acute period of Q-myocardial infarction, complicated by acute heart failure and hyperglycemia
- 53 Mykhailovska N. S., Stetsiuk I. O.**  
The interrelationship between the cardiovascular remodeling indicators and the state of bone mineral density in women with coronary artery disease
- 60 Tisch M., Lysak A. V., Diadyk O. O.**  
Relations of the level of morphological differentiation and metabolic activity of squamous carcinomas of oropharyngeal areas according to positron emission tomography
- 67 Poslavska O. V., Shponka I. S., Hrytsenko P. O., Petrova M. Yu.**  
Metastatic bone lesions of men in combination with an increase in serum PSA from the point of view of diagnosing carcinomas of unknown primary localization
- 73 Shyshkin M. A.**  
MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: immunohistochemical characteristics in polyps and adenocarcinoma of distal colon
- 81 Hrebniak M. P., Fedorchenko R. A.**  
Influence of industrial atmospheric pollution on the development of pathology of respiratory organs

## Оригінальні дослідження

**Абрамов А. В., Ганчев К. С., Каджарян Є. В.**

Особливості радіографічних морфоденситометричних характеристик мандибули шурів з експериментальним цукровим діабетом після екстракції зуба

**Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н.**

Сравнительная морфометрия пиальных сосудов при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях

**Шевченко Н. С., Богмат Л. Ф., Головка Т. А., Демьяненко М. В.**

Адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы у детей с ревматическими заболеваниями и коморбидными состояниями

**Гармаш О. В., Губіна-Вакулік Г. І., Давід Вондрашек**

Особливості морфофункціонального стану привушних слинних залоз шестимісячних шурів при експериментально модельованій внутрішньоутробній макросомії

**Ільченко С. І., Недельська С. М., Можейко Т. В.**

Особливості використання та інтерпретації результатів водневого дихального тесту з навантаженням лактозою в дітей раннього віку та їхніх матерів

## Огляди

**Янчук А. О., Запорожченко А. О., Катеринчук І. П., Кузнiченко С. О., Крижановська О. В.**

Правові наслідки, засоби превенції та редукування лікарських помилок

**Туманский В. А., Коваленко И. С.**

Раковые стволовые и мезенхимальные стволовые клетки в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы

**Довгаль Г. В., Довгаль М. А., Романенко О. А.**

Патоморфологія плодової та зрілої печінки при інтоксикації свинцем і в умовах корекції: огляд експериментальних даних

## Original research

**87 Abramov A. V., Hanchev K. S., Kadzharian Ye. V.**

Specific aspects of the radiographic morphometric and densitometric characteristics of mandible of the rats with experimental diabetes mellitus after tooth extraction

**94 Shavrin V. O., Avramenko Yu. M.**

Comparative morphometry of pial vessels in dyscirculatory-ischemic and diabetic encephalopathy

**99 Shevchenko N. S., Bohmat L. F., Holovko T. O., Demianenko M. V.**

Adaptive capacity of the cardiovascular system in children with rheumatic diseases and comorbid conditions

**106 Garmash O. V., Gubina-Vakulik H. I., David Vondrášek**

Features of the morphofunctional state of parotid salivary glands in six-month-old rats with experimentally induced fetal macrosomia

**116 Ilchenko S. I., Nedielska S. M., Mozheiko T. V.**

The peculiarities of using and reading of hydrogen breath test results with lactose load in young children and their mothers

## Review

**124 Yanchuk A. O., Zaporozhchenko A. O., Katerynychuk I. P., Kuznichenko S. O., Kryzhanovska O. V.**

Legal consequences, measures of prevention and reduction of medical malpractice cases (errors)

**131 Tumanskyi V. O., Kovalenko I. S.**

Cancer stem cells and mesenchymal stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma

**139 Dovhal H. V., Dovhal M. A., Romanenko O. A.**

Pathomorphology of fetal and mature liver under the lead intoxication and after the correction: the review of experimental data

## 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/patolohiia/oclc/260006269&referer=brief\\_results](http://www.worldcat.org/title/patolohiia/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-patology-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&journallID=29710&pageb=1&userQueryID=&sort=&local\\_page=1&sortType=&sortCol=1](http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journallID=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>

# Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension

O. V. Hancheva\*<sup>F</sup>, M. V. Danukalo<sup>A-D</sup>, O. V. Melnikova<sup>E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

## Key words:

densitometry, carionometry, brainstem, locus coeruleus, arterial hypertension, rats.

## Pathologia

2019; 16 (1), 4–8

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166145

## \*E-mail:

gancheva@zsmu.pp.ua

**The aim** of our study was to establish the morphodensitometric features of locus coeruleus (LC) neurons nuclei in the brain stem of rats with arterial hypertension of various origin (essential – SHR and endocrine-salt hypertension (ESH)).

**Materials and methods.** The study was carried out on 30 mature male rats: 10 control Wistar rats, 10 Wistar rats with modeled endocrine-salt AH (ESH) and 10 spontaneously hypertensive rats (SHR) with genetically determined hypertension. The histochemical method of staining with galocyanine-chrome alum by Einarsen was used for the evaluation of morphodensitometric characteristics of the neurons nuclei: the nucleus area, the content and concentration of nucleic acids (NA) in the nucleus.

**Results.** It was found that the highest indices were observed in rats of the SHR line while in rats with ESH the content, RNA concentration and nucleus area decreased. In SHR rats with essential hypertension high synthetic activity was observed in the LC neurons with an increase of the content and concentration of NA.

**Conclusions.** Morphometric and densitometric characteristics of the of the brain stem LC in AH depend on the etiological factor and pathogenesis of hypertension. In essential AH of SHR there is a high synthetic activity in the brainstem LC neurons nuclei along with an increase in the content and concentration of NA. In symptomatic AH in rats with ESH, on the contrary, the structure activity is decreased and characterized by the reduction in nucleus size and NA content in it.

## Ключові слова:

денситометрія, каріометрія, мозковий стовбур, locus coeruleus, артеріальна гіпертензія, щури.

## Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 4–8

## Морфоденситометричні характеристики ядер нейронів блакитної плями стовбура мозку щурів при експериментальній артеріальній гіпертензії

О. В. Ганчева, М. В. Данукало, О. В. Мельнікова

**Мета роботи** – встановити особливості морфоденситометричних параметрів ядер нейронів блакитної плями стовбура мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу (есенціальній – щури лінії SHR, ендокринно-сольовій).

**Матеріали та методи.** Дослідження виконали на статевозрілих 30 щурах-самцях, серед них 20 тварин лінії Wistar, яких поділили на дві групи: 10 – контроль, 10 – змодельована ендокринно-сольова АГ (ЕСГ); 10 щурів лінії SHR із генетично детермінованою АГ. Для дослідження морфоденситометричних характеристик ядер нейронів блакитної плями (БП) використовували гістохімічний метод забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном. Оцінювали такі показники ядер нейронів: площа ядра, вміст і концентрація нуклеїнових кислот (НК) в ядрі.

**Результати.** Встановили, що найвищі показники спостерігали в щурів лінії SHR, а в щурів з ЕСГ показники вмісту, концентрації НК і площі зменшилися.

**Висновки.** Морфоденситометричні характеристики нейронів БП стовбура мозку при артеріальній гіпертензії залежать від її етіологічного чинника та патогенезу. При есенціальній АГ у щурів лінії SHR спостерігали високу синтетичну активність в ядрах нейронів БП стовбура мозку зі збільшенням вмісту та концентрації НК. При симптоматичній АГ у щурів з ЕСГ активність структури знижується та характеризується зменшенням вмісту НК і площі ядра нейрона.

## Ключевые слова:

денситометрия, каріометрия, ствол мозга, locus coeruleus, артериальная гипертензия, крысы.

## Патология. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 4–8

## Морфоденситометрические характеристики ядер нейронов голубого пятна ствола мозга крыс при экспериментальной артериальной гипертензии

О. В. Ганчева, М. В. Данукало, О. В. Мельникова

**Цель работы** – установить особенности морфоденситометрических параметров ядер нейронов голубого пятна ствола мозга крыс при артериальной гипертензии различного генеза (эссенциальной – крысы линии SHR, эндокринно-солевой).

**Материалы и методы.** Исследование проведено на половозрелых 30 крысах-самцах, среди которых 20 животных линии Wistar, разделенных на две группы: 10 – контроль, 10 – со смоделированной эндокринно-солевой АГ (ЭСГ); и 10 крыс линии SHR с генетически детерминированной АГ. Для исследования морфоденситометрических характеристик ядер нейронов голубого пятна (ГП) использовали гистохимические методы окраски галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Оценивали следующие показатели ядер нейронов: площадь ядра, содержание и концентрация нуклеиновых кислот (НК) в ядре.



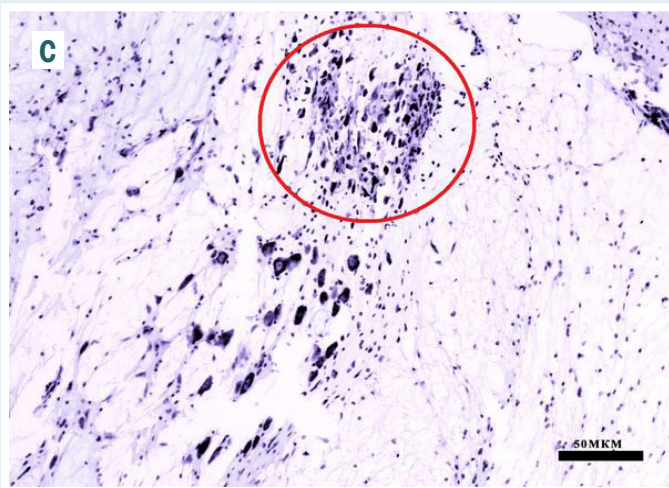
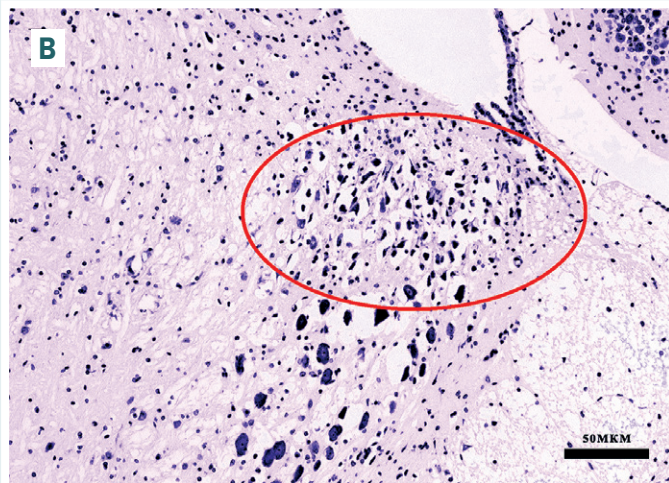
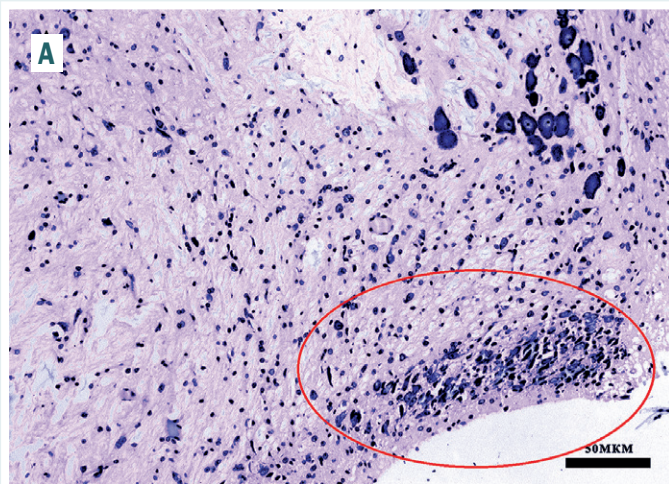


Fig. 2. Neurons of LC in rats of the experimental groups (stained with galloyanine-chrome alum by Einarson):

A: in the control group rats; B: in the SHR; C: in the rats with induced ESH.

part of the study was carried out exactly in accordance with the National "General Ethical Principles of Animal Experimentation" (Ukraine, 2001), in agreement with the Directive 2010/63EU of the European Parliament and

of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

The topographical identification of the brainstem LC neurons was performed using the stereotactic atlas of the rat brain (Fig. 1) [15]. To determine the NA content in the nuclei of neurons (mainly the heterogenous RNA), the 5 μm sections were stained in galloyanine-chrome alum by Einarson [16] and mounted with Eukitt (O. Kindler GmbH & Co, Freiburg, Germany) (Fig. 2).

The study of sections stained for NA was performed in visible spectrum on the Axiolmager-M2 microscope (Carl Zeiss, Germany). The images taken with the COHU 4922 (COHU Inc., USA) sensitive camera were recorded as a computer file. The interactive mode was used to identify nucleus-containing neurons and the zone of "interest" whereas automatic calculations helped to find the morphometric and densitometric parameters of the nucleus – its area (μm<sup>2</sup>) and optical density of NA (Uif), which characterizes the NA content in the cell nucleus section, concentration of NA in the nucleus (Uif/μm<sup>2</sup>), which indirectly reflects the neuron functional activity, were calculated automatically. All these characteristics were determined for each neuron. At least 100 cells from each series were subjected to analysis. Microphotographs of the neurons were processed using the Image J software.

**Statistical analysis.** All experimental data obtained were calculated using EXCEL 7.0 (Microsoft Corp., USA) and AtteStat free software package [17]. The arithmetic mean value (M), its variance and the standard error of the mean (m) were calculated for all indicators. Parametric statistical methods (Student t-test for the sample with normal distribution) and non-parametric (Mann–Whitney test for the sample with non-normal distribution) were used to determine the reliability of differences in study results between the experimental and control groups of rats. The differences were considered to be statistically reliable at a value of P < 0.05 [18].

## Results

The study of morphometric and densitometric characteristics of the LC neurons nuclei has found some peculiarities in the indices of the experimental groups in relation to the control group as well as the differences between the experimental groups of rats with AH (Table 1, Fig. 2).

Thus, the content of NA in the LC neuron nuclei of SHR was reliably higher by 21.68 % in comparison with the control index. At the same time, the opposite dynamics was revealed in rats with ESH in relation to control animals, namely a reliable 14.23 % decrease in the nuclear NA content. The difference in NA content between the experimental groups was 29.51 % less in the rats with ESH than in the SHR group (Table 1).

As for the area of LC neurons nuclei, there were no reliable changes in SHR compared to the control group, while in the rats with ESH a reliable 12.65 % decrease in the nucleus area was observed. There was no reliable difference between the experimental groups (Table 1).

The NA concentration in the nuclei of LC neurons was also reliably 33.38 % higher only in the SHR compared to the control index while in the rats with ESH there was no significant difference with the control animals. There

**Table 1.** Morphometric and densitometric indices of the brainstem LC neurons nuclei in rats of the experimental groups (M ± m)

Group of rats / Characteristic under study	Control (n = 10)	SHR (n = 10)	ESH (n = 10)
NA content (Uif)	21.36 ± 0.59	25.99 ± 1.16*	18.32 ± 0.79#
NA concentration (Uif / μm <sup>2</sup> )	0.33 ± 0.03	0.44 ± 0.04*	0.35 ± 0.11#
Nuclear area (μm <sup>2</sup> )	70.14 ± 1.87	65.92 ± 2.62	61.27 ± 2.46*

\*: indicates a significant difference in the parameters (P < 0.05) of the experimental group rats relative to the control; #: indicates a reliable difference in the parameters (P < 0.05) between rats of the experimental groups with AH.

was a reliable difference between indices of the AH groups. In the SHR the NA concentration in the nuclei of LC neurons was 19.3 % higher compared to the rats with ESH (Table 1).

## Discussion

The results of these studies suggest that such differences in the morphometric and densitometric indices of the LC neurons nuclei of the experimental rats have resulted from different pathogenetic peculiarities of the AH development and course in SHR (known as a model of essential hypertension) and in the endocrine-salt model of symptomatic AH. The results obtained are supported by other studies. I. Kourtesis et al. have showed the significantly increased number of noradrenergic granules and their size in the LC neurons of SHR as compared to rats with normal BP, which proves this structure neurons activation in essential AH [19]. Concerning the indices of rats with induced symptomatic ESH, which significantly differed from the previous model, it should be noted that the induction was performed by repeated injections of prednisolone, which has a cortisol-like effect and causes a clinical manifestation of hypercorticism. It has already been demonstrated that chronic hypercorticism leads to a decrease in the content of biogenic amines, including norepinephrine (NE), in the brain [20]. The researchers explained that mainly by the increased monoamine oxidase-A (MAO-A) activity which accelerates the NE degradation. The fact of feedback between NE and cortisol has turned out to be interesting: a decrease in the content of NE increases the level of cortisol [21]. In other words, in this situation we observe the classic pathophysiological *circulus vitiosus*.

Taking into account other links of the ESH pathogenesis – hypernatremia and hypervolemia, it is worth pointing out that Svensson et al. have found by electrophysiological methods that the activity of LC neurons decreases with an increase in circulating blood volume. The researchers have explained that by the increasing activity of vagal afferents and atrial receptors, they also have shown that rat LC single neurons can correspondingly respond to even minor blood volume fluctuations, also suggesting that this structure is involved in circulating blood volume regulation [22].

To sum up, the possible decrease in the LC activity, as the primary source of NE in the brain, could be due to a high level of cortisol and a simultaneous increase in the inhibitory structures activity. Turning to our study, we see that the decrease in the NA content and the nuclear area of LC neurons in rats with ESH are in logical agreement with the results obtained by other researchers.

## Conclusions

Based on the results of our study, the following conclusions can be made:

1. Morphometric and densitometric characteristics of the of the brain stem LC in AH depend on the etiological factor and pathogenesis of hypertension.
2. In essential AH of SHR there is a high synthetic activity in the brainstem LC neurons nuclei along with an increase in the content and concentration of NA.
3. In symptomatic AH in rats with ESH, on the contrary, the structure activity is decreased and characterized by the reduction in nucleus size and NA content in it.

## Funding

The study is funded as a part of scientific research work at Zaporizhzhia State Medical University “The role of peptidergic structures of hypothalamus and brain stem in the pathogenesis of arterial hypertension”, number of state registration 0117U002579 (2017–2019).

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

Надійшла до редакції / Received: 07.11.2018  
Після доопрацювання / Revised: 26.11.2018  
Прийнято до друку / Accepted: 06.12.2018

## Information about authors:

Hancheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Pathological Physiology Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Danukalo M. V., MD, Assistant of the Pathological Physiology Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Melnikova O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Pathological Physiology Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Ганчева О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Данукало М. В., асистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Мельнікова О. В. канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Ганчева О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Данукало М. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Мельникова О. В. канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Swischenko, E., Bahrii, A. E., Yena, L. M., Kovalenko, V. M., Koval, S. M., Mellina, I. M., et al. (2012). Arterialna hipertenzia. Onovlena ta adaptovana klinichna nastanova, zasnovana na dokazakh [Arterial hypertension. An updated and adapted clinical guideline based on evidence]. *Novosti medicyny i farmacii*, 12(422), 24–31. [in Ukrainian].
- [2] Perez, H., Ruiz, S., Nunez, H., White, A., Gotteland, M., & Hernandez, A. (2006). Paraventricular–coerulear interactions: role in hypertension induced by prenatal undernutrition in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 24(4), 1209–1219. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04997.x
- [3] Chertok, V. M., & Kotsyuba, A. E. (2015). Norepinephrine and nitroxidergic neurons of vasomotor nuclei in hypertensive rats. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 158(5), 695–699. doi: 10.1007/s10517-015-2838-4
- [4] Kotsyuba, A. E., Chertok, V. M., & Babich, E. V. (2010). Nitroksidergicheskie nejrony bul'barного vazomotornogo centra pri arterial'noj gipertenzii [Nitric oxideergic neurons of the human bulbar vasomotor center in arterial hypertension]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. C.C. Korsakova*, 110(2), 61–65. [in Russian].
- [5] Feinstein, D. L., Kalinin, S., & Braun, D. (2016). Causes, consequences, and cures for neuroinflammation mediated via the locus coeruleus: noradrenergic signaling system. *Journal of neurochemistry*, 139(2), 154–178. doi: 10.1111/jnc.13447
- [6] Aston-Jones, G., & Waterhouse, B. (2016). Locus coeruleus: from global projection system to adaptive regulation of behavior. *Brain research*, 1645, 75–8. doi: 10.1016/j.brainres.2016.03.001
- [7] Samuels, E. R., & Szabadi, E. (2008). Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: principles of functional organisation. *Current neuropharmacology*, 6(3), 235–53. doi: 10.2174/157015908785777229
- [8] O'Donnell, J., Zeppenfeld, D., McConnell, E., Pena, S., & Nedergaard, M. (2012). Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance. *Neurochemical research*, 37(11), 2496–512. doi: 10.1007/s11064-012-0818-x
- [9] Wood, C. S., Valentino, R. J., & Wood, S. K. (2017). Individual differences in the locus coeruleus-norepinephrine system: Relevance to stress-induced cardiovascular vulnerability. *Physiology & behavior*, 172, 40–48. doi: 10.1016/j.physbeh.2016.07.008
- [10] Wang, X., Piñol, R. A., Byrne, P., & Mendelowitz, D. (2014). Optogenetic stimulation of locus coeruleus neurons augments inhibitory transmission to parasympathetic cardiac vagal neurons via activation of brainstem  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  receptors. *Journal of Neuroscience*, 34(18), 6182–9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5093-13.2014
- [11] Tverskoy, A. V., Dolzhikov, A. A., Bobintsev, I. I., Kryukov, A. A., & Belykh, A. E. (2014). Morfologicheskiye izmeneniya neyronov oblastey CA1 i CA3 gippokampa krys pri hronicheskom immobilizatsionnom stresse (morfometricheskoye issledovanie) [Morphological changes of CA1 and CA3 hippocampal regions in rats under chronic immobilization stress (morphometric study)]. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*, 3, 37–41. [in Russian].
- [12] Kadzharyan, E. V. (2013). Osobennosti funkcional'nogo sostoyaniya beta-e'ndorfin synteziruyuschikh neyronov paraventricularnogo yadra hipotalamusa krys v norme i pri e'ksperimental'nom sakharnom diabete [The peculiarities of the functional state of beta-endorphin synthesizing neurons of the paraventricular nucleus of rats' hypothalamus in normal conditions and with experimental diabetes mellitus]. *Perspektivy medytyny ta biolohii*, 5(1), 78–82. [in Russian].
- [13] Camacho, P., Fan, H., Liu, Z., & He, J. Q. (2016). Small mammalian animal models of heart disease. *American journal of cardiovascular disease*, 6(3), 70–80.
- [14] Kolesnyk, Yu. M., Hancheva, O. V., Abramov, A. V., Ivanenko, T. V., Tischenko, S. V., Kuzo, N. (patentee) (2015). Patent 102234 Ukraina, MPK G09V 23/28. Sposib modeliuвання symptomatichnoi arterialnoi hipertenzii u dribnykh hryzuviv [Patent 102234 Ukraine, IPC G09V 23/28. Method of simulation of symptomatic arterial hypertension in small rodents]. *Bulleten*, 20. [in Ukrainian].
- [15] Paxinos, G., & Watson, C. H. (1986). Atlas of the rat brain in stereotaxic coordinates. Academic, New York.
- [16] Pearse, A. G. E. (1962). *Gistokhimiya. Teoreticheskaya i prikladnaya [Histochemistry. Theoretical and Applied]*. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoy literatyi. [in Russian].
- [17] Gajdyshev, I. P. (2015). *Modelirovanie stokhasticheskikh i determinirovannykh sistem: rukovodstvo pol'zovatelya programmy AtteStat [Modeling Stochastic and Deterministic Systems: AtteStat Software User Guide]*. Kurgan. [in Russian].
- [18] Zajcev, V. M., Lifyandskij, V. G., & Marinkin, V. I. (2006). *Prikladnaya medicinskaya statistika [Applied medical statistics]*. Saint Petersburg: Foliant. [in Russian].
- [19] Kourtesis, I., Kasparov, S., Verkade, P., & Teschemacher, A. G. (2015). Ultrastructural correlates of enhanced norepinephrine and neuropeptide Y cotransmission in the spontaneously hypertensive rat brain. *ASN Neuro*, 7(5), pii: 1759091415610115. doi: 10.1177/1759091415610115
- [20] Bliss, E. L., & Zwaniger, J. (1966). Brain amines and emotional stress. *Journal of psychiatric research*, 4(3), 189–198.
- [21] Uzbekov, M. G. (2005). Neirokhimicheskie aspekty vzaimosvyazi monoaminergicheskikh i gormonal'nykh sistem v patogeneze trevozhnoj depressii [Neurochemical aspects of the relationship between monoaminergic and hormonal systems in the pathogenesis of anxious depression]. *Social'naya i klinicheskaya psikiatriya*, 15(2), 108–110. [in Russian].
- [22] Svensson, T. H., & Thoren, P. (1979). Brain noradrenergic neurons in the locus coeruleus: inhibition by blood volume load through vagal afferents. *Brain Research*, 172(1), 174–178. https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)90908-9



## Комплексне отоневрологічне оцінювання вестибулярної симптоматики при бойовій черепно-мозковій травмі легкого ступеня тяжкості внаслідок вибухової дії

О. Є. Скобська\*<sup>1,A,C,F</sup>, О. М. Кваша<sup>1,B,C,D</sup>, Ю. Є. Педаченко<sup>2,C,E,F</sup>, О. С. Готін<sup>1,B,C</sup>,  
О. Ю. Малишева<sup>1,B,C</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ, <sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П. А. Шупика МОЗ України, м. Київ

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

З огляду на неспецифічність симптомокомплексу та певні складності клінічного оцінювання, актуальною є розробка діагностичних критеріїв щодо вестибулярної симптоматики в пацієнтів із бойовою черепно-мозковою травмою легкого ступеня тяжкості (ЧМТлст) унаслідок вибухової дії для збереження високої якості життя та повноцінної соціальної адаптації.

**Мета роботи** – проаналізувати вестибулярну симптоматику в постраждалих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії.

**Матеріали та методи.** Проаналізували результати клініко-інструментальних досліджень 39 пацієнтів, які перебували на обстеженні та лікуванні у відділенні нейротравми ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», з документально підтвердженою міні-вибуховою ЧМТ, що отримана під час збройного конфлікту на сході України у 2014–2017 рр.

**Результати.** Найчастіше в постраждалих є певний стійкий клінічний симптомокомплекс. Визначили статистично значущі критерії стабілографічних показників кількісного оцінювання стану системи рівноваги в пацієнтів із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії. Розроблення та впровадження стандартизованого оцінювання та аналізу вестибулярних порушень при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії матиме важливе клініко-експертне значення в діагностиці вестибулярної дисфункції під час медико-соціальної та судово-медичної експертизи, для своєчасної адекватної реабілітації, соціальної адаптації учасників бойових дій.

**Висновки.** За даними суб'єктивної аудіометрії, серед обстежених із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії переважно спостерігали (у 29 – 74,4 %) сенсоневральну приглухуватість різного ступеня тяжкості, в тому числі глухоту. Тональні аудіометричні криві у хворих здебільшого мали низхідний, часто обривчастий тип. Визначили комплекс діагностичних критеріїв, що заснований на аналізі базових стабілографічних показників: загального центру тяжіння, частотно-амплітудного спектра стабілограми, інтегрального показника якості функції рівноваги для об'єктивізації стану системи рівноваги у хворих при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії, який допомагає визначити рівень ураження вестибулярного аналізатора, ступінь збереження функції та компенсації центральних регуляторних механізмів статокінетичної системи. Порушення вестибулярної функції при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії є важливою військово-цивільною проблемою.

**Ключові слова:** бойова черепно-мозкова травма легкого ступеня тяжкості, контузія, вибухова дія, комп'ютерна стабілографія, вестибулярні порушення.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 9–15

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2019.1.166171

**\*E-mail:**  
skobska@i.ua

## Комплексная отоневрологическая оценка вестибулярной симптоматики при боевой черепно-мозговой травме легкой степени тяжести в результате взрывного действия

О. Е. Скобская, Е. М. Кваша, Ю. Е. Педаченко, А. С. Готин, А. Ю. Малышева

Учитывая неспецифичность симптомокомплекса и определенные сложности при клинической оценке, актуальна разработка диагностических критериев вестибулярной симптоматики у пациентов с боевой черепно-мозговой травмой легкой степени тяжести (ЧМТлст) вследствие взрывного действия для сохранения высокого качества жизни и полноценной социальной адаптации.

**Цель работы** – проанализировать вестибулярную симптоматику у пострадавших с боевой ЧМТлст вследствие взрывного действия.

**Материалы и методы.** Проанализированы результаты клинико-инструментальных исследований 39 пациентов, находившихся на обследовании и лечении в отделении нейротравмы ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», с документально подтвержденной минно-взрывной ЧМТ, полученной в вооруженном конфликте на востоке Украины за период 2014–2017 гг.

**Результаты.** Чаще всего у потерпевших есть определенный устойчивый клинический симптомокомплекс. Установили статистически значимые критерии стабілографічних показателів кількісної оцінки стану системи рівноваги у пацієнтів з бойовою ЧМТлст внаслідок вибухової дії. Розроблення та впровадження стандартизованої оцінки та аналізу вестибулярних порушень при бойовій ЧМТлст внаслідок вибухової дії матиме важливе клініко-експертне значення в діагностиці вестибулярної дисфункції при проведенні медико-соціальної

**Ключевые слова:** боевая черепно-мозговая травма легкой степени тяжести, контузия, взрывное действие, компьютерная стабілографія, вестибулярные нарушения.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 9–15

и судебно-медицинской экспертиз, в своевременной адекватной реабилитации и социальной адаптации участников боевых действий.

**Выводы.** По данным субъективной аудиометрии, среди обследованных с боевой ЧМТлст вследствие взрывного действия наблюдали преимущественно (у 29 – 74,4 %) сенсоневральную тугоухость различной степени тяжести, в том числе глухоту. Тональные аудиометрические кривые у больных в основном были нисходящего, часто обрывистого типа. Определен комплекс диагностических критериев, основанный на анализе базовых стабิโลграфических показателей: общего центра тяжести, частотно-амплитудного спектра стабิโลграммы, интегрального показателя качества функции равновесия для объективизации состояния системы равновесия у больных при боевой ЧМТлст вследствие взрывного действия, который помогает определить уровень поражения вестибулярного анализатора, степень сохранности функции и компенсации центральных регуляторных механизмов статокINETической системы. Нарушение вестибулярной функции при боевой ЧМТлст вследствие взрывного действия – важная военно-гражданская проблема.

**Key words:**  
mild traumatic  
brain injury, blast  
injuries, blast  
effect, computer  
stabilography,  
vestibular disorders.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 9–15

## Complex otoneurological evaluation of vestibular disorders in mild blast traumatic brain injury

O. Ye. Skobska, O. M. Kvasha, Yu. Ye. Pedachenko, O. S. Hotin, O. Yu. Malysheva

Due to the non-specific character of the symptoms complex and certain difficulties in clinical evaluation, it is important to develop diagnostic criteria for the vestibular symptoms in patients with blast traumatic brain injury due to the explosive effect for maintaining high quality of life and full social adaptation.

**Objective.** To analyze the vestibular symptoms in those injured during a military traumatic injury due to an explosive effect.

**Materials and methods.** The results of clinical and instrumental studies of 39 patients who were examined and treated in the neurotrauma department of the State Institution "Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", with documented mine-explosive head injury obtained in the armed conflict in Eastern Ukraine during the period of 2014–2017 were analyzed.

**Results.** Most often and most clearly there is a certain stable clinical symptom complex; the statistically significant criteria of stabilographic indicators of quantitative assessment of the state of the vestibular system in patients with combat TBI caused by explosion were determined; the development and implementation of standardized evaluation and analysis of vestibular violations in combat TBI caused by explosions have an important clinical and expert value in the evaluation of vestibular dysfunction for medical-social and forensic medical examinations, timely adequate rehabilitation and social adaptation of participants of armed conflicts.

**Conclusions.** According to the data of subjective audiometry, among examined patients with combat TBI caused by explosions, sensorineural hearing loss of various degrees of severity, including deafness was diagnosed in 29 (74.4 %) patients. Tonic audiometric curves of patients had mostly descending, or often a broken type. The complex of diagnostic criteria was based on the analysis of stabilographic indicators, specifically, the general center of gravity, the frequency-amplitude spectrum of the stabilogram, the integral index of the quality of the vestibular function for the definition of the vestibular system state of patients with combat TBI caused by explosions, that helps to determine the level of damage for the vestibular analyzer, the level of preservation of function and compensation of central regulatory mechanisms of the static-kinetic system. Violation of the vestibular function in combat TBI caused by explosions is an important military-civilian problem.

За останні десятиріччя суттєво збільшилося використання міно-вибухової зброї, що у 83,4 % випадків призводить до травм черепа та головного мозку. У понад 70 % випадків спостерігають пошкодження слухової та вестибулярної систем. Але ці порушення в половині випадків не діагностують або виявляють із великим запізненням. Щодо вестибулярного анализатора, який тісно пов'язаний зі слуховим, то його стан вивчають недостатньо чи взагалі не досліджують.

Останні відомості, що стосуються бойової черепно-мозкової травми легкого ступеня тяжкості після міно-вибухової дії, видані в 1990-х і на початку 2000-х років [1–3] і стосуються періоду військових дій США в Іраку та Афганістані, а також Російської Федерації – в Чечні. У цих публікаціях автори відзначають, що діагностувати безпосередньо під час бойових дій вестибулярні порушення при бойовій черепно-мозковій травмі різного ступеня тяжкості (ЧМТ) складно, тому кількість уражених, імовірно, занижена.

Клінічні прояви при міно-вибуховій травмі (МВТ) дуже різноманітні, призводять до функціональних обмежень та інвалідності в постраждалих. Більш ніж

70 % людей, які отримали МВТ, мають вестибулярні порушення – другий найпоширеніший неврологічний розлад. Результати обстеження бригадного бойового підрозділу, який повернувся з Іраку після багаторічних бойових дій, показали: 22,8 % військових мали підтверджений клініцистом діагноз щонайменше однієї ЧМТ, 88 % із них були викликані мінними вибухами. Серед головних скарг військових головний біль був першою, друге та третє місце посідала проблема запаморочень (59,3 %) і статокординаторних порушень (25,9 %) після вибуху, що вказує на більшу поширеність цієї симптоматики, ніж повідомлялося раніше [4].

Відзначимо, що в останні роки у світовій фаховій літературі відсутні публікації, що присвячені комплексному отоневрологічному оцінюванню вестибулярної симптоматики при бойовій черепно-мозковій травмі легкого ступеня тяжкості внаслідок вибухової дії, оскільки досвід світових конфліктів докладно висвітлений раніше, а вітчизняний досвід ще накопичується та аналізується.

Зважаючи на складності діагностики та лікування пацієнтів з поєднаною травмою, важливо, що будь-які

вестибулярні скарги повинні об'єктивно оцінюватися для забезпечення оптимального повернення до повсякденного життя, якості життя та повернення до службових обов'язків.

Отже, при бойовій ЧМТ легкого ступеня тяжкості (ЧМТлст) унаслідок вибухової дії у проміжному та віддаленому періодах важливим клінічним завданням є чітка диференціація вестибулярних порушень з іншими перехресними симптомами та коморбідними станами, що дасть змогу розробити міждисциплінарні стратегії реабілітації для покращення результатів діагностики, лікування та якості життя цих пацієнтів.

В останні десятиріччя у клінічній практиці для об'єктивізації вестибулярних порушень використовують комп'ютерну стабілографію (КС). Ця методика показала високу інформативність під час аналізу механізмів порушення статокінетичної функції у хворих при ЧМТлст [5,6].

## Мета роботи

Проаналізувати вестибулярну симптоматику в постраждалих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії.

## Матеріали і методи дослідження

Проаналізували спостереження мінно-вибухової ЧМТ у зоні збройного конфлікту на сході України у 2014–2017 рр., пацієнти перебували на обстеженні та лікуванні у відділенні нейротравми ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України». У дослідження залучені тільки ті військові, які мали документально підтверджену мінно-вибухову ЧМТ (за наявності свідцтва про поранення). Критерії виключення з дослідження: випадки ЧМТ середнього та тяжкого ступеня тяжкості, повторні черепно-мозкові травми в анамнезі, лікування нейролептиками на момент прояву симптомів, контакт із токсичними речовинами, значні зорові або пропріоцептивні порушення.

Дослідження ґрунтується на аналізі результатів комплексу клініко-інструментальних досліджень і лікування 39 хворих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії. Давність захворювання на час звернення становила від 12 до 44 місяців. Вік хворих – від 25 до 54 років; середній вік –  $35,2 \pm 5,7$  року. Серед обстежених суттєво переважали чоловіки: 36 (92,3 %) чоловіків і 3 (7,7 %) жінки. Співвідношення чоловіків і жінок становило 12:1.

Загальноклінічні та клініко-неврологічні методи застосовані відповідно до чинних стандартів оцінювання тяжкості стану хворого та переважання певного симптомокомплексу. Усім постраждалим виконали комплексне обстеження за чинними протоколами, яке складалося з вивчення анамнезу, неврологічного та загальносоматичного обстеження, огляду нейроофтальмолога, розширеного отоневрологічного обстеження (тональна порогова аудіометрія, КС) і комплексу нейровізуалізаційних методів (МСКТ, МРТ).

Обсяг розширеного отоневрологічного обстеження хворих передбачав етапи: виявлення скарг пацієнта під час госпіталізації, вивчення анамнезу життя; стандартний оториноларингологічний огляд (передня та

задня риноскопія, отоскопія, фарингоскопія); якісне оцінювання іннервації черепних нервів (I, V, VII, X, IX, XII); встановлення функції слухового та вестибулярного аналізаторів.

Тональну порогову аудіометрію виконали у звукозаглушеній та звукоізольованій камері за допомогою серійного аудіометра МА-51 (PRACITRONIC, ФРН), дотримуючись встановлених стандартів.

Суб'єктивний вушний шум оцінювали, використовуючи шкалу Tinnitus Handicap Inventory (THI), що включає 25 питань та оцінюється як ніколи – 0 балів, інколи – 2 бали, завжди – 4 бали.

Дослідження стану вестибулярного аналізатора починали зі встановлення суб'єктивних вестибулярних розладів: запаморочення, порушення рівноваги, нудоти і блювання, що пов'язані з запамороченням, відповідно до Міжнародної класифікації функціональних порушень – International Classification of Functioning, Disability and Health – ICF (WHO, 2001). Використовували 5-бальну шкалу: 1 бал – немає порушень, 2 – легкі порушення, 3 – помірно виражені порушення, 4 – виражені порушення, 5 балів – абсолютні порушення.

Одним із найпоширеніших «стандартизованих опитувальників» є шкала оцінювання запаморочення і мстичних функцій (Dizziness Handicap Inventory – DHI) (G. P. Jacobson, C. W. Newman, 1990; L. Tesio, D. Alpini, A. Cesarani et al., 1999). Опитувальник DHI визначає вплив запаморочення та порушень рівноваги на функціональні, емоційні, фізичні аспекти повсякденної активності. Пацієнт самостійно заповнює опитувальник, який складається з 25 запитань із 3 варіантами відповідей на кожен («так», «ні», «іноді»). Відповідь «так» оцінюється в 4 бали, «іноді» – 2, «ні» – в 0 балів. Сумарний бал за DHI може становити від 0 (немає запаморочення) до 100 (дуже виражене запаморочення). При сумарному балі від 1 до 30 визначають легке запаморочення, від 31 до 60 – помірне, понад 60 – виражене запаморочення. Ця шкала дає змогу кількісно оцінити вплив вестибулярних порушень на фізичний та емоційний стан пацієнта, що особливо важливо під час динамічного контролю. Про суттєве зниження вираженості суб'єктивного сприйняття запаморочення робили висновок, коли різниця між сумами балів при вихідному та повторному тестуванні становила  $\geq 10$ . За даними Gottshall, A. Drake, N. Gray et al., використання цієї шкали найбільш інформативне в постраждалих із ЧМТлст.

Для функціонального оцінювання функції рівноваги при різних видах ходи використовували шкалу Functional Gait Assessment (FGA) [7]. Кількість тестових завдань – 10, час виконання – від 5 до 10 хвилин. Наявність значних порушень оцінювали як 0 балів, помірних – 1, легких – 2, відсутність – 3.

Дослідження вестибулосоматичних спонтанних реакцій включало визначення наявності та характеру спонтанного ністагму. Під час дослідження ністагму звертали увагу на позиційні зміни напрямку, амплітуди й характеру спонтанного ністагму при зміні положення тулуба та голови пацієнта. Позиційний ністагм реєстрували при нахилі голови до правого й лівого плеча, на правому та лівому боці в положенні лежачи

**Таблиця 1.** Частота виникнення скарг, клінічних проявів/ускладнень при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії на момент огляду у клінічній групі (n = 39)

Клінічні прояви/ускладнення ППСК	Кількість хворих	
	абс.	%
Головний біль	39	100
Слух збережений	6	15,4
Зниження слуху одностороннє	12	30,8
Зниження слуху двобічне	21	53,8
Суб'єктивний вушний шум	35	89,7
Больові відчуття у вухах	11	28,2
Запаморочення	39	100
Статокординаторні порушення	28	71,8
Когнітивні порушення	33	84,6
Порушення сну	19	48,7
Логоневроз	11	28,2
Емоціональна лабільність (підвищена дратівливість, невмотивована агресія)	32	82,1

на спині з опущеною головою з одночасним поворотом праворуч і ліворуч.

Для об'єктивного оцінювання функції рівноваги використовували комп'ютерний стабілізатор (КС) «Стабілізатор-01-03» («Ритм», РФ), застосовуючи тест Ромберга з відкритими і заплющеними очима та динамічну пробу «Мишень».

Група порівняння – 15 клінічно здорових осіб (8 чоловіків і 7 жінок, вік – 37 [26; 45] років) із зіставними антропометричними показниками (зріст, вага), що виявили згоду взяти участь у КС. Результати дослідження використовували в роботі як референтні.

Основні критерії відбору пацієнтів у дослідження: відсутність виражених розладів із боку вищих психічних функцій, порушень зору, здатність самостійно пересуватися в межах приміщення, самостійно (без опори) підтримувати позу, зберігати рівновагу протягом не менше ніж 2 хвилини, відсутність нейром'язових, або ортопедичних порушень.

МСКТ виконана на 64-зрізовому мультиспіральному комп'ютерному томографі «Brilliance CT 64 slices» (Philips, Нідерланди) у 3 проєкціях, товщина зрізів – 1,25 мм.

МРТ-дослідження виконали на томографі «Intera 1,5 Tl» (Philips, Нідерланди) з індукцією магнітного поля 1,5 Тл, а також «Magnetom Concerto» (Siemens, ФРН) – 0,2 Тл, у режимах T1WI та T2WI.

За показаннями виконували КЕЕГ, КВП, Р300, одnofотонну емісійну комп'ютерну томографію, дуплексне сканування магістральних артерій голови та шиї.

Попереднє статистичне опрацювання результатів виконали, використовуючи пакет прикладних програм Statistica 6.0» (StatSoft Inc., США ліцензія №АХХR505С705306FAN12). Для перевірки гіпотези про нормальність розподілу даних використовували D-критерій Колмогорова–Смирнова. Для оцінювання відмінностей між порівнюваними середніми значеннями двох незалежних сукупностей застосовували непараметричний U-критерій Манна–Уїтні (Mann-Whitney U Test), оскільки він може бути застосований у разі будь-якого розподілу даних і є стійким до їхньої високої варіабельності, зокрема в малих вибірках. Відмінності вважали статистично значущими, якщо значення вірогідності було більше або дорівнювало 95 % (p < 0,05). Кількісні

дані наведені в форматі середнє арифметичне ± похибка середнього (M ± m), а рангові – в форматі медіана з нижнім та верхнім квартилями (Me [Q1;Q3]).

Усі обстежені пацієнти дали інформовану згоду відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи проведення медичних досліджень за участю людини як суб'єкта» (1964 р.).

## Результати

Під час надходження оцінка стану хворих за ШКГ дорівнювала 14–15 балів.

Частоту виникнення скарг, клінічних проявів/ускладнень при бойовій ЧМТлст внаслідок вибухової дії на момент огляду у клінічній групі наведено в таблиці 1.

Усі хворі (100 %) скажилися на головний біль різної інтенсивності, зниження пам'яті та підвищену дратівливість.

Суб'єктивний вушний шум діагностували у 35 (89,7 %) осіб. За шкалою THI у 21 пацієнта відповідав II ступеню (16–36 балів), 10 – III (38–56), 3 – IV (58–76), 1 хворого – V (88 балів).

Серед обстежених із бойовою ЧМТлст внаслідок вибухової дії порушення слуху виявили у 33 (84,6 %) пацієнтів (у 12 (30,8 %) одностороннє, у 21 (53,8 %) двобічне), в 6 (15,4 %) постраждалих слух збережений. Кондуктивну приглухуватість не діагностували в жодному випадку. Сенсоневральну приглухуватість різного ступеня тяжкості, зокрема глухоту виявили у 29 (74,4 %) пацієнтів, односторонню – у 13 (33,3 %), двобічну – у 16 (41,0 %) хворих. Зміщену приглухуватість діагностували у 4 хворих (двобічна – 2, одностороння – 2).

Серед усіх опрацьованих аудіограм виявили низхідний, часто обривчастий тип аудіометричної кривої – 18 (46,2 %) випадків.

Комплексне оториноларингологічне обстеження дало змогу діагностувати в більшості постраждалих передморбідну патологію носа та приносних пауз: викривлення (деформація) перетинки носа – у 26 (66,7 %), гіпертрофію носових раковин (гіпертрофічний риніт) – у 15 (38,5 %), алергічну форму вазомоторного риніту – у 8 (20,5 %), хронічний верхньощелепний синусит – у 4 (10,2 %) осіб. За наявності захворювань порожнини носа, приносних пауз і носової частини глотки, що призводили до порушення носового дихання, призначали відповідне лікування.

Дефект (пошкодження) барабанної перетинки діагностували у 4 (10,3 %) хворих. Під час отоскопії виявляли перфорації невеликих розмірів. Визначили такі види перфорації барабанної перетинки: дефект у задньо-нижньому квадранті – у 2 (5,2 %), в задньо-верхньому – у 2 (5,2 %) пацієнтів.

Спонтанний горизонтальний ністагм дрібноамплітудний, клонічний, 1 ступеня (виникає тільки при погляді в бік швидкої фази ністагму) та позиційний ністагм діагностований у 23 (60,5%) пацієнтів.

Ураження лицьового, трійчастого та черепних нервів каудальної групи не встановили в жодному спостереженні. Якісне та кількісне порушення смаку в жодному спостереженні не діагностували.

**Таблиця 2.** Базові показники статокінезіграми та показник якості функції рівноваги у хворих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії та у групі порівняння в модифікованому функціональному тесті Ромберга з відкритими та заплющеними очима та тесті з біологічним зворотнім зв'язком «Мішень» ( $M \pm m$ )

Показники СКГ	МВ ЧМТ			Група порівняння		
	P-BO	P-30	TM	P-BO	P-30	TM
S (мм <sup>2</sup> )	63,7 ± 3,5	258,4 ± 9,1 **	78,9 ± 4,2	56,0 ± 3,3	117,0 ± 7,3	55,4 ± 4,8
LX (мм)	65,4 ± 5,1	85,80 ± 4,21	113,4 ± 8,1	53,5 ± 2,8	82,8 ± 2,8	107,38 ± 5,20
LY (мм)	91,1 ± 6,1	235,8 ± 12,6 *	183,0 ± 9,3	84,0 ± 4,6	150,7 ± 4,3	152,5 ± 4,4
V (мм/с)	7,1 ± 3,2	11,8 ± 1,1	12,5 ± 3,1	5,5 ± 1,5	9,4 ± 1,2	10,3 ± 1,5
ЯФР (%)	90,7 ± 4,1	69,3 ± 2,3	76,4 ± 2,5	93,3 ± 5,1	80,8 ± 4,6	77,3 ± 3,2

\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$  (Mann–Whitney U Test) – значущість відмінностей щодо групи порівняння.

За результатами нейровізуалізаційних досліджень головного мозку, у 33 (84,6 %) постраждалих не виявили травматичні ушкодження речовини мозку та кісток черепа. У 6 (15,4 %) пацієнтів визначили зміни шлуночкової системи та субарахноїдальних просторів як незначне їх розширення.

Дослідження стану вестибулярного аналізатора починали з оцінювання суб'єктивних вестибулярних розладів: запаморочення, порушення рівноваги, нудоти та блювання, що пов'язані з запамороченням. За ICF (WHO, 2001) оцінка суб'єктивних вестибулярних розладів становила 3 [1; 3], що відповідало легким і помірно вираженим порушенням.

За шкалою DHI під час анкетування хворих оцінка дорівнювала 18 [12; 24] балів, що відповідало легким порушенням.

За шкалою FGA оцінка постуральної стійкості при різних видах ходьби становила 21 [18; 24] бал, що відповідало легким і помірно вираженим порушенням та вказувало на нормальну центральну вестибулярну компенсацію у пацієнтів.

Hoffer M. E. et al. [8] запропонували використовувати класифікацію запаморочення, враховуючи комплекс вестибулярних симптомів, що викликані МВТ. За цією класифікацією спостереження розподілилися так: 10 (25,6 %) – позиційне запаморочення, 11 (28,2 %) – просторова дезорієнтація, 3 (7,7 %) – запаморочення при фізичному навантаженні, 15 (38,5 %) – мігрень, що асоційована із запамороченням.

За результатами КС у хворих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії встановили істотне зниження статичної рівноваги, що виявляється статистично значущим порівняно з нормою збільшення площі коливань загального центра тиску (понад 200 мм<sup>2</sup>) переважно шляхом збільшення амплітуди коливань у сагітальній площині у стабілографічних тестах із депривацією зору (табл. 2).

Встановили низку статистично значущих кількісних відхилень значень площі статокінезіграми ( $S = 258,4 \pm 9,1$  мм<sup>2</sup>,  $p < 0,01$ ) і середньої амплітуди девіації загального центру тиску в сагітальній площині ( $LY = 235,8 \pm 12,6$  мм,  $p < 0,05$ ) у стабілографічній пробі Ромберга з депривацією зору (P-30).

Значення показників швидкості зміщення центру тиску (V), середньої амплітуди девіації центру тиску та інтегрального показника якості функції рівноваги (ЯФР) у тесті P-30 не мали статистично значущих відмінностей із групою порівняння ( $p > 0,05$ ). Суттєві (статистично значущі) відхилення значень показників статокінезіграми в тестах Ромберга з відкритими

очима (P-BO) та «Мішень» (TM) у хворих із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії та групою порівняння не встановили.

## Обговорення

Нині відсутні «золотий стандарт» або принаймні єдина думка про комплекс діагностики вестибулярних порушень, що викликані бойовою МВТ, для встановлення зв'язку між дією вибуху, ЧМТ і вестибулярною патологією. Тривають пошуки для досягнення консенсусу щодо оптимальних методів діагностики і лікування. Для цієї групи пацієнтів характерне пізнє звернення у клініку із наведеними скаргами, пізня діагностика в значно віддаленому періоді після МВТ (понад 6 тижнів); це впливає на висновки щодо наявності причинно-наслідкового зв'язку. Для визначення тяжкості ушкодження вестибулярної системи необхідне наведення в документації фізичних характеристик вибухових пристроїв, напрямку вибухової хвилі та місцезнаходження постраждалого щодо епіцентру вибуху. Необхідне створення спеціальних медичних центрів для обстеження та лікування таких пацієнтів.

Питання ранньої діагностики вестибулярних порушень потребує продовження вивчення, розроблення та впровадження діагностичного комплексу, що дасть змогу виявляти та діагностувати вестибулярні порушення раніше.

Методи дослідження вестибулярного аналізатора різні, оскільки доводиться вивчати реакції багатьох сенсорних систем.

Функціональний стан вестибулярного аналізатора у світовій практиці оцінюють, використовуючи різні кількісні шкали, тести й опитувальники, вибір яких визначається тяжкістю вихідного неврологічного дефіциту. Застосування шкал дає змогу нівелювати різноманітність варіантів клінічного перебігу, виявити загальні закономірності лікувального та реабілітаційного процесів, вирішувати організаційні завдання.

Тому комплексне стандартизоване оцінювання вестибулярних порушень внаслідок МВТ рекомендовано здійснювати, використовуючи шкали:

- оцінювання суб'єктивних вестибулярних розладів: запаморочення, порушення рівноваги, нудоти і блювання, що пов'язані з запамороченням, відповідно до Міжнародної класифікації функціональних порушень – International Classification of Functioning, Disability and Health – ICF (WHO, 2001);
- оцінювання запаморочення та мнестичних функцій (Dizziness Handicap Inventory – DHI);

– функціонального оцінювання функції рівноваги при різних видах ходи Functional Gait Assessment (FGA).

На нашу думку, в системі лікувально-евакуаційного забезпечення збройних сил України необхідно впровадити в лікувально-діагностичний процес опитувальник Walter Reed Army Medical Center (WRAMC) Blast Injury Questionnaire (BIQ) (M. Scherer et al., 2007). Його використання доцільне в пацієнтів, у яких в анамнезі є суб'єктивні скарги або вони припускають імовірні кохлеовестибулярні порушення. Він складається з 19 питань, що стосуються до і після кохлеарних і зорових порушень, головних болів, запаморочення, втрати слуху, відстані до вибуху і ступеня охоплення. Цей опитувальник може полегшити своєчасний і ефективний скринінг пацієнтів для раніше не діагностованих, пов'язаних із МВТ, патологічних станів і забезпечити додаткову перевірку протягом лікування пацієнта.

Отже, відсутність єдиного підходу до діагностики та лікування вестибулярних порушень при МВТ призводить до невідповідності в результатах лікування та потребує дальшої розробки.

## Висновки

1. Найчастішими та найбільш вираженими в обстежених пацієнтів були скарги на головний біль (100 %), суб'єктивний вушний шум (89,7 %), запаморочення (100,0 %), статокординаторні порушення (71,8 %), зниження слухової функції (84,6 %), емоціональна лабільність (підвищена дратівливість, невмотивована агресія) (82,1 % випадків), а тривалість їхня була чималою.

2. За даними суб'єктивної аудіометрії, серед обстежених із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії переважно спостерігали (у 29 – 74,4 %) сенсоневральну приглухуватість різного ступеня тяжкості, зокрема глухоту. Тональні аудіометричні криві у хворих здебільшого мали низхідний, часто обривчастий тип.

3. Визначили стабілографічний показник – збільшення площі коливань загального центра тиску (понад 200 мм<sup>2</sup>) шляхом збільшення амплітуди коливань у сагітальній площині у стабілографічному тесті Ромберга з депривацією зору для об'єктивізації стану системи рівноваги в пацієнтів із бойовою ЧМТлст унаслідок вибухової дії, який допомагає визначити ступінь збереження функції та компенсації центральних регуляторних механізмів статокінетичної системи.

**Перспективи подальших досліджень.** Порушення вестибулярної функції при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії є важливою військово-цивільною проблемою. Розроблення та впровадження стандартизованого оцінювання, аналізу вестибулярних порушень при бойовій ЧМТлст унаслідок вибухової дії відкриває нові можливості об'єктивного клініко-експертного визначення вестибулярної дисфункції протягом медико-соціальної та судово-медичної експертизи.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 29.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 18.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 04.03.2019

## Відомості про авторів:

Скобська О. Є., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, керівник отоневрологічної групи, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.  
ORCID ID: 0000-0002-0742-5090

Кваша О. М., лікар-оториноларинголог отоневрологічної групи, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0000-0003-2904-8748

Педаченко Ю. Є., д-р мед. наук, доцент, професор каф. нейрохірургії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0003-0609-424X

Готін О. С., канд. мед. наук, лікар-нейрохірург відділення нейротравми, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-9797-7322

Малишева О. Ю., лікар-оториноларинголог отоневрологічної групи, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.

## Сведения об авторах:

Скобская О. Е., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, руководитель отоневрологической группы, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.

Кваша Е. М., врач-оториноларинголог отоневрологической группы, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.

Педаченко Ю. Е., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. нейрохирургии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев.

Готин А. С., канд. мед. наук, врач-нейрохирург отделения нейротравмы, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.

Мальшева А. Ю., врач-оториноларинголог отоневрологической группы, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.

## Information about authors:

Skobska O. Ye., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of Otoneurological Group, the State Institution "Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Kvasha O. M., MD, Otorhinolaryngologist of Otoneurological Group, the State Institution "Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Pedachenko Yu. Ye., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Neurosurgery, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Hotin O. S., MD, PhD, Neurosurgeon, State Institution "Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Malysheva O. Yu., MD, Otorhinolaryngologists of the Otoneurological Group, State Institution "Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

## Список літератури

- [1] Глазников Л.А. Минно-взрывная травма слуховой системы (патогенез, клиника, диагностика и лечение) : автореферат диссертации на соискание ученой степени д.мед.н.: спец. 14.00.04 «Болезни уха, горла и носа» / Л.А. Глазников. – СПб., 1996. – 43 с.
- [2] Blast exposure: vestibular consequences and associated characteristics / M.E. Hoffer, C. Balaban, K. Gottshall, et al. // *Otol Neurotol.* – 2010. – Vol. 31. – Issue 2. – P. 232–236.
- [3] Warden D. Military TBI during the Iraq and Afghanistan wars / D. Warden // *J. Head Trauma Rehabil.* – 2006. – Vol. 21. – Issue 5. – P. 398–402.

- [4] French L.M. The Military Acute Concussion Evaluation (MACE) / L.M. French, M. Mccrea, M. Baggett // *J. Special Operations Medicine*. – 2008. – Vol. 8. – P. 68–74.
- [5] Андреев О.А. Порушення статокінетичної функції та її оцінка в об'єктивізації легкої черепно-мозкової травми / О.А. Андреев, О.Є. Скобська, Н.В. Каджая // *Клінічна хірургія*. – 2017. – №6. – С. 47–50.
- [6] Об'єктивізація вестибулярних розладів у потерпілих при струсі головного мозку у гострому періоді / О.Є. Скобська, Н.В. Каджая, О.А. Андреев, Е. В. Потапов // *Клінічна хірургія*. – 2015. – №4. – С. 49–51.
- [7] Krahm J. Functional Gait Assessment [Електронний ресурс] / J. Krahm. – Режим доступу: <http://www.youtube.com/watch?v=vxzB3ez3y14> [last accessed 10/10/14].
- [8] Hoffer M.E. Early Diagnosis and Treatment of Traumatic Vestibulopathy and Postconcussive Dizziness / M.E. Hoffer, M.C. Schubert, C.D. Balaban // *Neurol Clin*. – 2015. – Vol. 33. – №3. – P. 661–668.

## References

- [1] Glaznikov, L. A. (1996) *Minno-vzryvnaya travma slukhovoј sistemy (patogenez, klinika, diagnostika i lecheniye)* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Mine-explosive trauma of the auditory system (pathogenesis, clinic, diagnosis and treatment) Dr. med. sci. diss.] Saint Petersburg. [in Russian].
- [2] Hoffer, M. E., Balaban, C., Gottshall, K., Balough, B. J., Maddox, M. R., & Penta, J. R. (2010). Blast exposure: vestibular consequences and associated characteristics. *Otol Neurotol*, 31(2), 232–236. doi: 10.1097/MAO.0b013e3181c993c3
- [3] Warden, D. (2006). Military TBI during the Iraq and Afghanistan wars. *J. Head Trauma Rehabil*, 21(5), 398–402. doi: 10.1097/00001199-200609000-00004
- [4] French, L. M., Mccrea, M., & Baggett, M. (2008) The Military Acute Concussion Evaluation (MACE). *J. Special Operations Medicine*, 8, 68–74.
- [5] Andreyev, O. A., Skobska, O. E., & Kadzhaya, N. V. (2017). Porushennia statokinetychnoi funktsii ta yii otsinka v obiektivizatsii lehkoї cherepno-mozkovoї travmy [Disorders of statokinetic function and its estimation in objectivization of mild cranio-cerebral trauma]. *Klinichna khirurgiia*, 6, 47–50. [in Ukrainian].
- [6] Skobska, O. E., Kadzhaya, N. V., Andreyev, O. A., & Potapov, E. V. (2015). Obieektivizatsiia vestybuliarnykh rozladiv u poterplykh pry strusi holovnoho mozku u hostromu periodi [Objectivization of vestibular disorders in the injured persons with the brain commotion in acute period]. *Klinichna khirurgiia*, 4, 49–51. [in Ukrainian].
- [7] Krahm, J. Functional Gait Assessment. Retrieved from <http://www.youtube.com/watch?v=vxzB3ez3y14> [last accessed 10/10/14]
- [8] Hoffer, M. E., Schubert, M. C., & Balaban, C. D. (2015). Early Diagnosis and Treatment of Traumatic Vestibulopathy and Postconcussive Dizziness. *Neurol Clin*, 33(3), 661–668. doi: 10.1016/j.ncl.2015.04.004

# Endoscopic findings and outcomes of upper gastrointestinal bleeding patients in northern Iran population referred to the emergency department

Seyyed Abbas Hashemi, Seyyed Mohammad Valizadeh, Sanaz Gonoodi, Iradj Maleki\*

Gut and Liver Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

**Key words:**  
upper  
gastrointestinal  
hemorrhage,  
endoscopy, Iran,  
treatment outcome.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 16–20

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2019.1.166175

**\*E-mail:**  
abbas.hashemi30@  
gmail.com

Gastrointestinal bleeding is one of the reasons that patients referred to the emergency department. In the majority of these patients, the bleeding stops spontaneously but some of them are high risk patients who may experience complications and may need endoscopic and surgical treatment. Mismanagement of these cases leads to high mortality. Different studies evaluated the causes of Upper GI bleeding but there is not any information about the distribution of these reasons in north of Iran.

**Methods and material.** This prospective study included patients with history of upper gastrointestinal bleeding between January 2017 and December 2018. A total of 249 patients underwent endoscopy for UGIB and the data were studied. Follow up was done for occurrence of re-bleeding or mortality.

**Results.** Our study revealed that the most common cause of upper GI bleeding was duodenal ulcer and gastric ulcer. Antrum was the main anatomical site for gastric ulcer. After the 15 days follow up in 17 (6.8 %) patients mortality existed and rebleeding was found in 11 (4.4 %) patients and the need for surgery in 3 (1.2 %) patients.

**Conclusions.** Like many parts of the world the most common source of upper gastrointestinal bleeding in our study was peptic ulcer diseases. Our study revealed that despite all diagnostic and treatment procedures still there is mortality (6.8 % mortality existed) due to GI bleeding.

**Ключові слова:**  
верхні шлунково-  
кишкові кровотечі,  
ендоскопія, Іран,  
результат лікування.

**Патологія.** – 2019. –  
Т. 16, № 1(45). –  
С. 16–20

## Ендоскопічні дані та наслідки кровотечі з верхніх відділів шлунково-кишкового тракту в пацієнтів у північній частині Ірану, яких направили у відділення невідкладної допомоги

Сейєд Аббас Гашемі, Сейєд Мохаммад Валізадех, Саназ Гонооді, Ірадж Малекі

Шлунково-кишкові кровотечі є однією з причин, через яку пацієнти звертаються у відділення невідкладної допомоги. У більшості цих осіб кровотеча припиняється самостійно, але деякі з них є пацієнтами високого ризику, в них можуть виникнути ускладнення і, можливо, буде необхідне ендоскопічне та хірургічне лікування. Неправильне ведення в цих випадках призводить до високої смертності. Різні дослідження оцінювали причини кровотеч із верхньої частини шлунково-кишкового тракту, але немає інформації щодо поширення цих причин на півночі Ірану.

**Матеріали та методи.** Проспективне дослідження включало пацієнтів з анамнезом шлунково-кишкової кровотечі в період від січня 2017 до грудня 2018 р. Вивчили дані 249 пацієнтів, яким виконали ендоскопію з приводу шлунково-кишкової кровотечі. Надалі здійснили дослідження щодо виникнення повторної кровотечі або смертності.

**Результати.** З'ясували, що найбільш частою причиною кровотеч із верхньої частини шлунково-кишкового тракту були виразка дванадцятипалої кишки та виразка шлунка. Антрум – основна анатомічна ділянка при виразковій хворобі шлунка. Після 15 днів спостереження зафіксували 17 (6,8 %) летальних випадків, у 11 (3,4 %) пацієнтів виявили повторну кровотечу, у 3 (1,2 %) – необхідність хірургічного втручання.

**Висновки.** Як і в багатьох країнах світу, найбільш поширеним джерелом кровотеч із верхніх відділів шлунково-кишкового тракту у виконаному дослідженні були виразкові хвороби. З'ясували, що, незважаючи на всі діагностичні й лікувальні процедури, все ще є смертність (6,8 %) від кровотеч у шлунково-кишковому тракті.

**Ключевые слова:**  
верхнее желудочно-  
кишечное  
кровотечение,  
эндоскопия, Иран,  
исход лечения.

**Патология.** – 2019. –  
Т. 16, № 1(45). –  
С. 16–20

## Эндоскопические данные и последствия кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта у пациентов в северной части Ирана, направленных в отделение неотложной помощи

Сейед Аббас Хашеми, Сейед Мохаммад Вализадех, Саназ Гонооди, Ирадж Малекі

Желудочно-кишечные кровотечения – одна из причин, по которой пациенты обращаются в отделение неотложной помощи. У большинства кровотечение прекращается самостоятельно, но некоторые из них являются пациентами высокого риска, у которых могут возникнуть осложнения и, возможно, потребуются эндоскопическое и хирургическое лечение. Неправильное ведение в этих случаях приводит к высокой смертности. Различные исследования оценивали причины кровотечений из верхней части желудочно-кишечного тракта, но нет информации о распространении этих причин на севере Ирана.

**Материалы и методы.** Проспективное исследование включало пациентов с анамнезом желудочно-кишечного кровотечения в период с января 2017 по декабрь 2018 г. Изучили данные 249 пациентов, прошедших эндоскопию по поводу



желудочно-кишечного кровотечения. Последующее исследование касалось возникновения повторного кровотечения или смертности.

**Результаты.** Установили, что наиболее частой причиной кровотечений из верхней части желудочно-кишечного тракта были язва двенадцатиперстной кишки и язва желудка. Антрум – основной анатомический участок при язвенной болезни желудка. После 15 дней зафиксировали 17 (6,8 %) летальных исходов, у 11 (3,4 %) пациентов обнаружено повторное кровотечение, у 3 (1,2 %) – необходимость хирургического вмешательства.

**Выводы.** Как и во многих странах мира, наиболее распространенным источником кровотечений из верхних отделов желудочно-кишечного тракта в нашем исследовании были язвенные болезни. Исследование показало, что, несмотря на все диагностические и лечебные процедуры, все еще существует смертность (6,8 %) от кровотечений в желудочно-кишечном тракте.

Upper GI bleeding is a serious condition which affects many individuals worldwide. It is a common cause of hospitalization, and it has been estimated that it has a mortality rate of 5–10 % [1] Based on current studies annual incidence of 89.8 per 100,000 populations have been devoted to Upper GI bleeding. Men with age of 61 and 69 years are supposed to experience hemorrhage more and totally it has been reported that mortality of UGH is about 8.2 cases per 100.000 populations per year [1,2].

Upper GI bleeding is a potentially life-threatening event, has been indicated that many patients can be considered for outpatient treatment [3]. Convenient endoscopic diagnosis and treatment would improve the patients' outcomes and will increase the quality of life of the patients and also will reduce the rate of rebleeding. Therefore early diagnostic endoscopy is mandatory for Upper GI bleeding.

It has been known that non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and *H. pylori* infections are two common risk factors for upper gastrointestinal bleeding [4]. But other risk factors are still under studies. Many studies have investigated the cause and sources of Upper GI bleeding but there is not any information about the distribution of these reasons in north of Iran meaning Mazandaran province. There in this prospective research we studied the endoscopic findings of Upper GI bleeding in this area in order to establish basic library for future studies and our plans for emergency treatments.

## Materials and methods

This prospective study included all referral objects to endoscopy unit from both the hospital's own departments and surrounding hospitals in Mazandaran province with history of upper gastrointestinal bleeding between January 2017 and December 2018. Demographic data, vital signs, laboratory tests results, history of comorbid problems (e.g., renal, liver, cardiac, pulmonary disease, and cancer), and anticoagulant and/or antiplatelet drug users were noted on admission and during follow up. Endoscopy was performed by the investigators according to standard protocols. In this study endoscopy was performed with Pentax and Olympus endoscopes and APC treatment was performed with Erb Company. A total of 249 patients underwent endoscopy for UGIB and the data were studied. Follow up was done for occurrence of re-bleeding or mortality. A 103-cm esophago-gastroduodenoscope (EVIS Lucera GIF H260, Olympus Optical, Tokyo, Japan) was used.

**Inclusion criteria.** Patients were referred to Imam Khomeini hospital because of upper gastrointestinal bleeding;

those were included who were over the age of 18 years, patients with symptoms of hematemesis and melena or vomiting with simultaneous Coffee Ground discharge and satisfaction for an endoscopy of the esophagus and stomach.

**Exclusion criteria.** Cases that not confirmed upper gastrointestinal bleeding for any reason, Gastrointestinal bleeding due to esophageal varices or sharp objects or burning material, patients not consenting to the endoscopy of the esophagus and stomach and who were receiving antihelicobacter treatment or proton pump inhibitors for a month prior to the investigation were excluded.

**Table 1.** Demographic data of the cases

		Number	Percent
Gender	Male	159	63.9
	Female	90	36.1
Age	Less than 60 years	118	47.4
	79–60 years	98	39.4
	More than or equal to 80 years	33	13.3
History of smoking	Yes	55	22.1
	No	194	77.9
History of peptic ulcer	Yes	63	25.3
	No	186	74.7
History of aspirin use	Yes	90	36.1
	No	159	63.9
A history of NSAID	Yes	86	34.5
	No	163	65.5
History of Clopidogrel	Yes	16	6.4
	No	233	93.6
History of warfarin	Yes	11	4.4
	No	238	95.6
History of PPI	Yes	52	20.9
	No	197	79.1
History of H2 blocker	Yes	54	21.7
	No	195	78.3
History of previous GI bleeding	Yes	41	16.5
	No	208	83.5
History of cardiovascular disease	Yes	63	25.3
	No	180	72.3
	Unknown	6	2.4
A history of liver problems	Yes	10	4
	No	219	88
	Unknown	20	8
Chronic renal failure	Yes	13	5.2
	No	239	94.8
Cancer history	Yes	15	6
	No	234	94
History of chemotherapy	Yes	8	3.2
	No	241	96.8

**Table 2.** This table shows the findings of upper endoscopy in patients' referred to our center with upper GI bleeding

	Endoscopic findings	number	percent
Esophagus	GERD-A	9	3.6
	GERD-B	2	0.8
	GERD-C	0	0
	GERD-D	6	2.4
	Mallory Weiss	11	4.4
	Ulcer of esophagus	18	7.2
	Esophageal cancer	4	1.6
Stomach	Erosions	35	14.1
	Ulcer	81	32.5
	- Cardia	12	4.8
	- Wind	34	13.7
	- Fundus	3	1.2
	- Antrum	55	22.1
	Mass	13	5.2
	Polyps	2	0.8
Duodenum	erosion	15	6
	Ulcer	107	43
	Polyps	1	0.4

**Tables 3.** Causes of gastrointestinal bleeding

Endoscopic findings	number	Percent
Esophageal Cancer	2	0.8
Esophageal Ulcer	2	0.8
Mallory Weiss	28	11.2
GU	53	21.3
Gastric Erosion	29	11.6
Gastric Cancer	13	5.2
Gastric Polyp	2	0.8
Dieulafoy's lesion	3	1.2
DU	83	33.3
Duodenal Erosion	7	2.8
DU + GU	25	10.0
Duodenal Polyp	1	0.4
Fistula from Colon Cancer	1	0.4
<b>Total</b>	<b>249</b>	<b>100</b>

**Table 4.** Endoscopic treatment of patients

The need for endoscopic treatment	Number of patients (%)
No need to endoscopic treatment	169 (67.87 %)
Requires an endoscopic treatment (APC or epinephrine)	18 (7.23 %)
Need to double acting endoscopic treatment (APC and epinephrine)	62 (24.9 %)
Endoscopic treatment requires three steps (APC and epinephrine and clips)	2 (0.8 %)

**Ethical approval.** All patients provided informed consent to inclusion in the study. This study was approved by the Ethics Committee of the Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, IRAN.

**Statistical analysis.** Results were shown as number and percent. The procedures included were transcription, preliminary data inspection, content analysis and finally interpretation. Statistical analysis was performed with SPSS software (version 20, Chicago, IL, USA).

## Results

The study has been done on patients with upper gastrointestinal bleeding who were admitted to Imam Khomeini Hospital, Sari, Iran. The population consisted of 249 patients. Age of the patients studied were from 15 years to 98 years, with an average age of patients was  $42.57 \pm 18.9$ . *Table 1* showed the demographic data of the cases.

Endoscopic findings of the patients were based on three parts: esophagus, stomach and duodenum; they are summarized in *Table 2*.

The most common cause of bleeding in patients was peptic ulcers, duodenal ulcer was seen in 83 patients (32.9 %), followed by gastric ulcer in 53 patients (21.0 %) (*Table 3*).

Endoscopic views of peptic ulcer were as follows: 96 patients (38.6 %) had Clean Base and in 8 patients (3.2 %) adherent clot and 30 patients (12.0 %) Visible Vessel and 21 patients (8.4 %) Flat Pigment has been reported. 27 patients had (10.8 %) ulcer with Oozing and 1 patient (0.4 %) spurting bleeding and 7 patients (2.8 %) had active bleeding (Fresh bleeding), respectively.

Endoscopic treatment measures were as follows: In 72 cases (28.9 %) were injected with adrenaline and in 70 patients treated with (28.1 %) APC and in 2 cases (0.8 %) clips were prescribed.

In general, endoscopic treatment in patients was presented in *Table 4*.

Outcome in the patients after 15 days: in 17 patients (6.8 %) mortality existed. After the 15 days rebleeding was found in 11 patients (4.4 %) and the need for surgery in 3 patients (1.2 %) and the need for blood transfusions in 6 patients (2.4 %) were reported.

## Discussion

Our study revealed that the most common cause of upper GI bleeding was duodenal ulcer and gastric ulcer. Antrum was the main anatomical site for gastric ulcer.

The peptic ulcer disease which has been indicated to be the commonest source of UGIB mainly in the west [5–9] was the main cause in our study, too.

The mean age of the patients who had UGIB in this paper was 42 years and this is similar to other studies reported in Africa and Asia [10–12].

In a study by Elwakil et al. [13] evaluated the causes of upper GI bleeding in Egyptians population and reported that gastric lesions were the most common sources of non variceal bleeding. Recurrence of bleeding reported

in 6.1 % of non variceal group, while mortality was found in 1.5 % of non variceal group (5). In consistent with this study, our research showed that in 17 patients (6.8 %) mortality existed and rebleeding was reported in 11 patients (4.4 %).

In this regards, a paper published by Kim JJin et al. [12] revealed that Mean age of their patients was 52 years; 75 % were male. Like this study the majority of our cases were male 63.9 % with mean age of 42 years. The most common causes of bleeding in his study were ulcers in 34 %, varices 33 %, and erosive esophagitis in 8 % while in our research the most common cause of bleeding in patients was duodenal ulcer in 32.9 % and gastric ulcer in 21 %. Also we exclude the varices source of bleeding in our paper. In Kim JJin study during hospitalization, 129 (6.7 %) died (5.2 % for ulcers; 9.2 % for varices). similarly in our investigation 17 patients (6.8 %) died.

Another study which was performed by O. N. Alema and coworkers [14] evaluated 224 patients with upper gastrointestinal bleeding. The population of his study included 113 (50.4 %) males and 111 (49.6 %) females, and the mean age was 42.00 years  $\pm$  SD 15.88, likewise in our study the main section of the study population were male and the mean age was similar. The main sources of bleeding in their study were esophageal varices including 40.6 %, followed by esophagitis (14.7 %), gastritis (12.6 %) and peptic ulcer disease (duodenal and gastric ulcers) was 6.2 %. The malignant conditions (gastric and esophageal cancers) contributed to 2.6 %, hiatus hernia (1.8 %), duodenitis (0.9 %), others-gastric polyp (0.4 %) and normal endoscopic in 16.1 %. In our study cancer was found in 15 cases.

A study [15] which examined 460 patients with upper gastrointestinal bleeding in Kosova reported that means age was 56.85  $\pm$  16.18 years, while male / female ratio was 2.71/1.00. Peptic ulcer was the main cause of bleeding (82.2 %) like our work. The main part of study population was at age group of 60–69 years (27.1 %). In contrast with our study, we found that most of the cases were less than 60 years. In this report Rebleeding was noticed in 4.1 % of all patients while the overall mortality rate was 5.7 %. In 17 patients (6.8 %) of our cases mortality existed and rebleeding was founded in 11 patients (4.4 %).

## Conclusions

The most common cause of upper gastrointestinal bleeding in our study was peptic ulcer diseases. Our study revealed that despite all diagnostic and treatment procedures still there is mortality (6.8 % mortality existed) due to GI bleeding.

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

Надійшла до редакції / Received: 28.01.2019  
Після доопрацювання / Revised: 28.02.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 11.03.2019

## Information about authors:

Seyyed Abbas Hashemi, Resident of Internal Medicine, Gut and Liver Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Seyyed Mohammad Valizadeh, Assistant Professor of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Gut and Liver Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Sanaz Gonoodi, Fellow of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Gut and Liver Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Iradj Maleki, Associate Professor of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Gut and Liver Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

## Відомості про авторів:

Сейєд Аббас Гашемі, резидент зі спеціальності внутрішня медицина, Науково-дослідний центр кишечника та печінки, Мазандаранський університет медичних наук, м. Сарі, Іран.

Сейєд Мохаммад Валізاده, асистент зі спеціальності гастроентерологія, каф. внутрішньої медицини, Науково-дослідний центр кишечника та печінки, Мазандаранський університет медичних наук, м. Сарі, Іран.

Саназ Гонооді, науковий співробітник зі спеціальності гастроентерологія, каф. внутрішньої медицини, Науково-дослідний центр кишечника та печінки, Мазандаранський університет медичних наук, м. Сарі, Іран.

Ірадж Малекі, доцент зі спеціальності гастроентерологія, каф. внутрішньої медицини, Науково-дослідний центр кишечника та печінки, Мазандаранський університет медичних наук, м. Сарі, Іран.

## Сведения об авторах:

Сейед Аббас Хашеми, резидент по специальности внутренняя медицина, Научно-исследовательский центр кишечника и печени, Мазандаранский университет медицинских наук, г. Сарі, Іран.

Сейед Мохаммад Вализаде, ассистент по специальности гастроэнтерология, каф. внутренней медицины, Научно-исследовательский центр кишечника и печени, Мазандаранский университет медицинских наук, г. Сарі, Іран.

Саназ Гонооди, научный сотрудник по специальности гастроэнтерология, каф. внутренней медицины, Научно-исследовательский центр кишечника и печени, Мазандаранский университет медицинских наук, г. Сарі, Іран.

Ирадж Малекі, доцент по специальности гастроэнтерология, каф. внутренней медицины, Научно-исследовательский центр кишечника и печени, Мазандаранский университет медицинских наук, г. Сарі, Іран.

## References

- [1] Nadler, M., & Eliakim, R. (2014) The role of capsule endoscopy in acute gastrointestinal bleeding. *Therap Adv Gastroenterol*, 7(2), 87–92. doi: 10.1177/1756283X13504727
- [2] Saleem, S., & Thomas, A. L. (2018) Management of Upper Gastrointestinal Bleeding by an Internist. *Cureus*, 10(6), e2878. doi: 10.7759/cureus.2878
- [3] Alzoubaidi, D., Lovat, L. B., & Haidry, R. (2019) Management of non-variceal upper gastrointestinal bleeding: where are we in 2018? *Frontline Gastroenterol.*, 10(1), 35–42. doi: 10.1136/flgastro-2017-100901
- [4] Lenti, M. V., Pasina, L., Cococcia, S., Cortesi, L., Miceli, E., Caccia Dominioni, C., et al. (2019) REPOSI Investigators. Mortality rate and risk factors for gastrointestinal bleeding in elderly patients. *Eur J Intern Med.*, 61, 54–61. doi: 10.1016/j.ejim.2018.11.003
- [5] Brunner, F., Berzigotti, A., & Bosch, J. (2017) Prevention and treatment of variceal haemorrhage in 2017. *Liver Int.*, 37(Suppl 1), 104–115. doi: 10.1111/liv.13277
- [6] Oakland, K., Chadwick, G., East, J. E., Guy, R., Humphries, A., Jairath, V., et al. (2019) Diagnosis and management of acute lower gastrointestinal bleeding: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut.*, 68(5), 776–789. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317807
- [7] Stanley, A. J., & Laine, L. (2019) Management of acute upper gastrointestinal bleeding. *BMJ.*, 25, 364, 1536. doi: 10.1136/bmj.1536.
- [8] Gerson, L. B., Fidler, J. L., Cave, D. R., & Leighton, J. A. (2015) ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Small Bowel Bleeding. *Am J Gastroenterol.*, 110(9), 1265–87. doi: 10.1038/ajg.2015.246

- [9] Nelms, D. W., & Pelaez, C. A. (2018) The Acute Upper Gastrointestinal Bleed. *Surg Clin North Am.*, 98(5), 1047–1057. doi: 10.1016/j.suc.2018.05.004
- [10] Van Leerdam, M. E. (2008) Epidemiology of acute upper gastrointestinal bleeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 22(2), 209–24. doi: 10.1016/j.bpg.2007.10.011
- [11] Suba, M., Ayana, S. M., Mtabho, C. M., & Kibiki, G. S. (2010) The etiology, management and clinical outcome of upper gastrointestinal bleeding among patients admitted at the Kilimanjaro Christian Medical Centre in Moshi, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research.*, 12(4), 304–308. doi: 10.4314/thrb.v12i4.51073
- [12] Kim, J. J., Sheibani, S., Park, S., Buxbaum, J., & Laine, L. (2014) Causes of bleeding and outcomes in patients hospitalized with upper gastrointestinal bleeding. *J Clin Gastroenterol.*, 48(2), 113–8. doi: 10.1097/MCG.0b013e318297fb40
- [13] Elwakil, R., Reda, M. A., Abdelhakam, S. M., Ghoraba, D. M., & Ibrahim, W. A. (2011) Causes and outcome of upper gastrointestinal bleeding in Emergency Endoscopy Unit of Ain Shams University Hospital. *J Egypt Soc Parasitol.*, 41(2), 455–67.
- [14] Alema, O. N., Martin, D. O., & Okello, T. R. (2012) Endoscopic findings in upper gastrointestinal bleeding patients at Lacor hospital, northern Uganda. *Afr Health Sci.*, 12(4), 518–521. doi: 10.4314/ahs.v12i4.19
- [15] Telaku, S., Kraja, B., Qirjako, G., Prifti, S., & Fejza, H. (2014) Clinical outcomes of nonvariceal upper gastrointestinal bleeding in Kosova. *Turk J Gastroenterol.*, 25(Suppl 1), 110–5. doi: 10.5152/tjg.2014.4351

## Фетальний міокардит – провісник небажаних наслідків внутрішньоутробного інфікування парвовірусом B19

Н. П. Бондаренко\*<sup>1,A-F</sup>, В. М. Жежера<sup>2,B,E</sup>, А. В. Аксьонова<sup>1,A,D-F</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, <sup>2</sup>Національна дитяча спеціалізована лікарня «ОХМАТДИТ», м. Київ, Україна

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

**Мета роботи** – ретроспективний аналіз результатів сонографічних, вірусологічних і морфологічних досліджень випадків неімунної водянки (НВ) плодів, які померли від тяжкої серцево-судинної недостатності (ССН) на тлі парвовірусної інфекції (ПВІ), для визначення ознак несприятливого перинатального прогнозу для плода.

**Матеріали та методи.** Інфікування вагітних виявляли за допомогою серологічної діагностики специфічних антитіл IgM та IgG до парвовірусу B19. Внутрішньоутробне інфікування плода підтверджували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ультрасонографічно діагностовано водянку плода; оцінювання внутрішньочерепної гемодинаміки, гемодинаміки міокарда плода та функції серця виконали за допомогою доплерометрії з розрахунком індексів периферичного судинного опору. Міокард плодів людини досліджували гістологічно з забарвленням гематоксиліном та еозином.

**Результати.** У 15/33 (45,5 %) інфікованих парвовірусом B19 плодів розвинулася НВ, що була діагностована у II–III триместрах вагітності. Розвиток ССН, що виникала вторинно, на тлі міокардиту з/без фетальної анемії (ФА) виявили в усіх випадках втрат плода з НВ 6/15 (40 %), в яких доведено наявність ДНК парвовірусу, в перикардіальному випоті після аутопсії за результатами ПЛР.

**Висновки.** Міокардит внаслідок ПВІ спричиняє виникнення ССН із розвитком гідроперикарда, має фатальний прогноз для плода, незважаючи на спроби внутрішньоматкової трансфузії крові у III триместрі. Фетальний міокардит на тлі НВ плода перешкоджають вчасній неінвазивній діагностиці тяжкої ФА та є причиною ССН, що призводить до вкрай несприятливих наслідків для плода.

**Ключові слова:** парвовірус B19, вагітність, неімунна водянка, фетальний міокардит.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 21–26

**DOI:** 10.14739/2310-1237.2019.1.166183

**\*E-mail:** nataliabondarenko@gmail.com

## Фетальный миокардит – предвестник нежелательных последствий внутриутробного инфицирования парвовирусом B19

Н. П. Бондаренко, В. Н. Жежера, А. В. Аксенова

**Цель работы** – ретроспективный анализ результатов сонографических, вирусологических и морфологических исследований случаев неиммунной водянки (НВ) плодов, умерших от тяжелой сердечно-сосудистой недостаточности (ССН) на фоне парвовирусной инфекции (ПВИ), для определения признаков неблагоприятного перинатального прогноза для плода.

**Материалы и методы.** Инфицирование беременных диагностировали с помощью серологической диагностики специфических антител IgM и IgG к парвовирусу B19. Внутриутробное инфицирование плода подтверждено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Ультрасонографически диагностирована водянка плода; оценку внутричерепной гемодинамики, гемодинамики миокарда плода и функции сердца проводили с помощью доплерометрии с расчетом индексов периферического сосудистого сопротивления. Миокард плодов человека исследовали гистологически с окраской гематоксилином и эозином.

**Результаты.** У 15/33 (45,5 %) инфицированных парвовирусом B19 диагностировали НВ плода во II–III триместрах беременности. Развитие вторичной ССН на фоне миокардита с/без фетальной анемии (ФА) установлено во всех случаях потерь плода – 6/15 (40 %) с НВ, у которых доказано наличие ДНК парвовируса в перикардальном выпоте после аутопсии по результатам ПЦР.

**Выводы.** Миокардит в результате ПВИ способствует возникновению ССН с развитием гидрперикарда, имеет фатальный прогноз для плода, несмотря на попытки внутриматочной трансфузии крови в III триместре. Фетальный миокардит на фоне НВ плода препятствуют своевременной неинвазивной диагностике тяжелой ФА, является причиной ССН, что приводит к крайне неблагоприятным последствиям для плода.

**Ключевые слова:** парвовирус B19, беременность, неиммунная водянка, фетальный миокардит.

**Патология.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 21–26

## Fetal myocarditis – a precursor of undesirable consequences of intrauterine infection with parvovirus B19

N. P. Bondarenko, V. M. Zhezhera, A. V. Aksonova

**Objective:** to conduct a retrospective analysis of the results of sonographic, virological and morphological studies of cases of non-immune hydrops fetalis followed by intrauterine fetal death because of severe cardiovascular insufficiency (SCI) against parvovirus infection (PVI) with the aim of identifying signs of an adverse perinatal prognosis for the fetus.

**Key words:** parvovirus B19 infection, pregnancy, non-immune hydrops fetalis, myocarditis.

**Pathologia** 2019; 16 (1), 21–26

**Object and methods.** Infection of pregnant women was detected by serological diagnostics of specific antibodies IgM and IgG to parvovirus B19. Intrauterine fetal infection was confirmed by polymerase chain reaction (PCR). An antenatal diagnosis of hydrops fetalis was made using ultrasound scanning; intracranial hemodynamics, fetal myocardial hemodynamics and heart function were monitored using Doppler ultrasound with calculation of peripheral vascular resistance indices. The myocardium of human fetus was studied histologically with hematoxylin and eosin staining.

**Results.** In 15/33 (45.5 %) cases of infection with parvovirus B19 non-immune fetal hydrops was diagnosed in the II–III trimesters of pregnancy. The development of CVI, which arose secondary, against the background of myocarditis with/without fetal anemia (FA) was found in all the cases of fetal loss – 6/15 (40 %), in which the presence of parvovirus DNA in the pericardial effusion was proven after autopsy by the results of a polymerase chain reaction.

**Conclusions.** Myocarditis as a result of PVI promotes the emergence of CVI with the development of hydropericardium, has a fatal prognosis for the fetus, despite attempts to intrauterine blood transfusion in the III trimester. Fetal myocarditis against the background of non-immune fetal hydrops hinders timely non-invasive diagnosis of severe FA, is the cause of CVI which leads to extremely unfavorable consequences for the fetus.

До 20 % випадків розвитку неімунної водянки (НВ) у плода пов'язані з парвовірусною інфекцією (ПВІ) [1]. Парвовірус В19 містить ланцюжок ДНК, у 1995 р. класифікований як еритровірус [2]. ПВІ становить небезпеку для людського еритропоезу, оскільки реплікація вірусу відбувається саме у клітинах-попередниках еритроцитів. Основою еритроїдного тропізму є чимала концентрація клітинного рецептора глобозиду – Р-антигена до парвовірусу В19 у клітинах червоного мозку [3]. Антиген-Р також виявляли на фетальних серцевих міоцитах; це відповідає даним фахової літератури, що у плода, котрий інфікований парвовірусом В19, може розвинути міокардит [4]. Фетальна ПВІ зазвичай асоціюється з фетальною анемією (ФА), анасаркою, асцитом, плевральним випотом і кардіомегалією [5]. У наукових роботах за допомогою методу гібридизації *in situ* автори виявили частки вірусної ДНК в ядрах інфікованого міокарда плода, що мав НВ без ФА. Імуногістохімічні дослідження плодів із ПВІ також підтверджують істотне вірусне навантаження міокардіальних клітин, припускаючи, що вірус наявний і в серцевій тканині – фетальний міокардит внаслідок інфікування парвовірусом В19 спричиняє розвиток НВ плода. Є дані щодо наявності ДНК вірусу в серцевому м'язі та перикардальному випоті у плодів із НВ, які померли від серцевої недостатності (СН) [6].

Частота розвитку ембріональної ПВІ – 33 %. Ризик загиніти плода коливається від 9 % до 26 %. Клінічні наслідки інфікування залежать від гестаційного віку плода з найбільшим ризиком розвитку ембріопатії і тяжкої ФА в перші 20 гестаційних тижнів після захворювання матері.

Серологічні тести використовують для діагностики материнської ПВІ. Інфекцію плода діагностують шляхом визначення ДНК вірусу в пуповинній крові або навколоплідних водах. Серійні ультразвукові дослідження рекомендовано виконувати для оцінювання ознак ФА чи НВ плода кожні 1–2 тижні протягом 8–12 тижнів після встановлення інфікування матері. Зв'язок прискорення швидкості кровотоку по середній мозковій артерії в анемічного плода, що пов'язане зі зменшенням в'язкості крові та зростанням серцевого викиду при гіпердинамічній циркуляції [7], спонукає до застосування доплерівського методу неінвазивної діагностики ФА для моніторингу перебігу вагітності у випадку ПВІ.

Описано випадки НВ плода з міокардіальною дисфункцією внаслідок внутрішньоутробного інфі-

кування парвовірусом В19, що мали несприятливі перинатальні наслідки в результаті швидкого розвитку серцево-судинної недостатності (ССН).

### Мета роботи

Виконати ретроспективний аналіз результатів сонографічних, вірусологічних і морфологічних досліджень випадків НВ плодів, які померли від тяжкої ССН на тлі ПВІ, для визначення ознак несприятливого перинатального прогнозу для плода.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали з січня 2012 до травня 2018 року на базі Перинатального центру м. Києва. За цей час обстежили 478 вагітних жінок на наявність ПВІ з різними перинатальними ускладненнями, що відносило їх до групи ризику можливого інфікування. Під час серологічних і вірусологічних обстежень встановили: 153/478 (32 %) пацієнток уже були імунізовані до парвовірусу В19, тобто мали в минулому ПВІ. У сироватці крові цих вагітних жінок визначали наявність тільки специфічних антитіл IgG до парвовірусу В19. 196/478 (41 %) вагітних жінок не контактували з парвовірусом В19, про що свідчили негативні результати лабораторної діагностики ПВІ. Основна група обстежених – 129/478 (26,9 %) вагітних жінок, що мали серологічні та вірусологічні позитивні результати інфікування парвовірусом В19. Основну групу поділили на 3 підгрупи залежно від терміну гестації. Критерії залучення в основну групу: позитивні результати діагностики ДНК парвовірусу В19 у крові вагітних жінок та/або серологічних результатів дослідження материнської крові з визначенням антитіл IgM і IgG до парвовірусу В19 за допомогою тест-систем реагентів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із гібридизаційною детекцією «AmpliSens» (РФ) та імуноферментного методу імуноблот, тест-системи EUROIMMUN (ФРН).

Інші скринінгові тести на токсоплазму, цитомегаловірус, вірус простого герпесу, коксакі вірус виключено. Віковий діапазон обстежених вагітних жінок – 19–39 років, середній вік – 26,6 року. Дослідження плодів від матерів із підтвердженою ПВІ базувалося на сонографічних, морфологічних і вірусологічних методах.

Для вірусологічного дослідження внутрішньоутробного інфікування плода застосовували набір реагентів для виявлення та кількісного оцінювання

Таблиця 1. Поділ основної групи вагітних жінок за симптоматичними проявами

Групи за клінічним проявом парвовірусної інфекції під час обстеження	I триместр вагітності (n = 45)		II триместр вагітності (n = 48)		III триместр вагітності (n = 36)		Загалом	
	Абс число	%	Абс число	%	Абс число	%	Абс число	%
Асимптоматична	6	13,3	19 p < 0,01	39,5	24 p < 0,01 p1 < 0,01	66,7	49	38
Симптоматика в матері	30	66,6	11 p < 0,01	23	6 p < 0,01 p1 < 0,01	16,7	47	36,4
Симптоматика у плода	9	20,1	18 p < 0,05	37,5	6 p1 < 0,05	16,7	33	25,6

n: кількість спостережень у певній групі; p: вірогідність значущості точного критерію Фішера порівняно з I триместром вагітності; p1: вірогідність значущості точного критерію Фішера порівняно з II триместром вагітності.

ДНК парвовірусу В19 у клінічному матеріалі (амніотична рідина, пуповинна кров, асцитична та перикардальна рідина, тканини серця плода) методом ПЛР із гібридизаційно-флуоресцентною детекцією «AmpliSensParvovirusB19-FL» (ПФ).

Ультрасонографічно діагностували розвиток неімунної водянки плода (НВ) внаслідок внутрішньоутробного інфікування на підставі наявності аномального накопичення рідини в понад одній потенційній порожнині тіла плода. Середню мозкову артерію ідентифікували за допомогою кольорового доплера. Дослідження виконали конвексним датчиком із частотою 3,5–5,0 МГц і радіусом кривини сканувальної поверхні 40 мм. Оцінювання максимальної швидкості кровотоку в середній церебральній артерії плода (МШК в СЦА) здійснили після розрахунку кратних чисел середнього значення відносно термінів гестації за формулою [8]:

$$MoM(Patient) = \frac{Result(Patient)}{Median(PatientPopulation)}$$

Ппульсаційний індекс МШК у СЦА плода (ПІ МШК в СЦА) >1,50 МоМ свідчив про розвиток тяжкої ФА.

Для оцінювання гемодинаміки міокарда плода, функції серця здійснили доплерометричні вимірювання кровотоку в венозній протоці плода (*ductus venosus*). Оцінювання швидкості кровотоку в *ductus venosus* виконали за допомогою діагностичних критеріїв патологічних кривих: нульові та реверсні значення кровотоку у фазу скорочення передсердь.

Для морфологічного дослідження тканини серця плодів, які померли у випадках інфікування ПВІ, фіксували в 10 % нейтральному формаліні з фосфатним буфером, обробляли на апараті вакуумного інфільтраційного процесора «Sakura Tissue-Tekvip 6 ai» (Нідерланди) та заливали парафіном. Готові парафінові зрізи завтовшки 4–5 мікрон вкладали на предметні скельця, що були вкриті адгезивом, фіксували та інкубували в термостаті протягом 12 годин при температурі 37 °С. Надалі зрізи депарафінували, зневоднювали й забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Дослідження виконали з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи здійснення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 616 від

03.08.2012 р. та згідно з методичними рекомендаціями та «Порядком вилучення біологічних об'єктів від померлих, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі й патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей» [9].

Статистичний аналіз отриманих даних здійснили методами непараметричної статистики з визначенням критерію Фішера.

## Результати

Молекулярні дослідження плаценти, пуповинної крові, амніотичної, асцитичної та перикардальної рідини продемонстрували наявність внутрішньоутробного інфікування парвовірусом В19 у 33 випадках внутрішньоутробної ПВІ у плода, що діагностована в I–III триместрах вагітності – 4,7 % від загальної кількості фетопатій протягом цього періоду. Середній гестаційний термін ехографічних проявів симптоматичних проявів внутрішньоутробного інфікування плода становив  $19,9 \pm 0,5$  тижня вагітності. Серологічні показники материнської крові аналізували на токсоплазму, цитомегаловірус, вірус простого герпесу, коксаки вірус, парвовірус В19. У результаті отримали сероконверсію до ПВІ. Інші скринінгові тести на інфекцію були негативні.

У 15/33 (45,5 %) інфікованих плодів розвинулась НВ, яку було діагностовано у II та III триместрах вагітності. Випадки ізольованого асцити у плода не розглядали як прояв НВ. З них у 6/15 (40 %) плодів, які мали НВ і померли, результати ПЛР довели наявність ДНК парвовірусу в перикардальному випоті після аутопсії.

Ультрасонографічна картина дослідження серця 6 померлих плодів із НВ, інфікованих парвовірусом В19, вказувала на кардіомегалію (відношення кардіоторакальної ділянки STAR 45 %), що призводило до регургітації кровотоку в усіх клапанах і порушення шлуночкової функції серця без структурних дефектів. Ендокард був потовщений, міокард гіперехогенний, мав слабкий серцевий викид з/без трикуспідальної недостатності, а також розвитку ендокардіального фіброеластозу. Це могло свідчити про наявність інфекційного міокардиту в результаті внутрішньоутробного ураження міокардіальних клітин плода парвовірусом В19.

Ехографічно на ранніх етапах неінвазивної діагностики НВ у таких плодів визначали зазвичай аномальний систолічний кровотік у лівому шлуночку або бівентрикулярно, а також ознаки регургітації в



Рис. 1. Характеристика та частота ехографічних проявів симптоматики парвовірусної інфекції у плода.

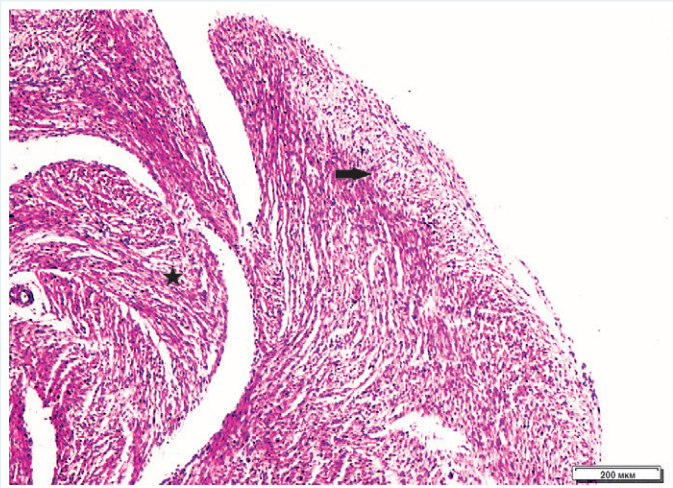


Рис. 2. Гістологічна картина осередків запального інфільтрату в міокардіальних тканинах плода (позначено стрілками) з неімунною водянюкою, інфікованого парвовірусом В19. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія,  $\times 50$ .

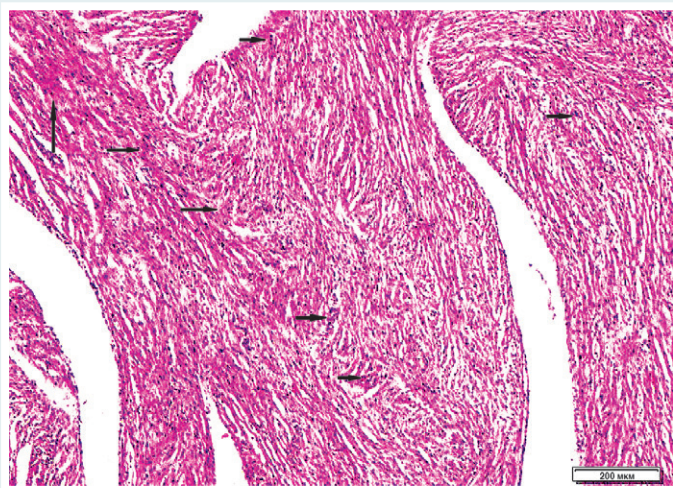


Рис. 3. Гістологічна картина осередків запального інфільтрату в міокардіальних тканинах плода (позначено стрілками) з неімунною водянюкою, інфікованого парвовірусом В19. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія,  $\times 50$ .

обох атріовентрикулярних клапанах. З посиленням розвитку гідроперикарда під час скорочень передсердь відзначали уповільнений і зворотний кровотік у венозній протоці, що пояснювалося розвитком СН у плода та регургітацією крові внаслідок недостатності клапанів серця. В усіх випадках перинатальних втрат плоди з НВ мали ССН, що виникала вторинно, на тлі міокардиту з/без ФА.

Аутопсія померлих плодів із НВ показала ФА, набряк шкіри, асцит, плевральні та кардіальні випоти. При морфологічному дослідженні серця плодів, які померли від СН, виявлено гіпертрофію та дилатацію правого й лівого шлуночків серця. У стінці розширених шлуночків серця встановлено виявлено вогнищеві осередки фіброзу ендокарда. Гістологічно підтверджено наявність вогнищового ендокардіального ніжноволокнистого фіброзу ендокарда та міокардиту (рис. 2).

Гістопатологія показала масивний інтерстиціальний і периваскулярний лімфоцитарний запальний клітинний інфільтрат, який супроводжувався дистрофічними змінами та вогнищами некробіозу м'язових волокон міокарда та набряком. Особливістю морфологічного дослідження – виявлення специфічних зон, осередків запального інфільтрату [10] на тлі набряку міокардіальних тканин, що характерно для інфікованого парвовірусом В19 (рис. 3).

Визначили, що у плодів із міокардитом кількість накопиченої рідини в перикарді переважала над кількістю рідини в черевній порожнині, на відміну від плодів із НВ, що викликана ФА. Очевидно, що тяжка ФА внаслідок ПВІ призводить до надмірного печінкового еритропоезу, який викликає портальну гіпертензію поряд із гіпопротеїнемією та спричиняє виникнення асциту в інфікованого плода. Імовірно, міокардит, викликаний ПВІ, може зумовлювати розвиток СН і гідроперикарда, а це є провідником небажаних наслідків для плода. Цей факт може пояснювати несприятливий прогноз для плода з НВ і гідроперикардом, незважаючи на спроби внутрішньоматкової трансфузії крові в III триместрі (табл. 2).

Наводимо приклад випадку НВ у плода з ПВІ, коли неінвазивна діагностика мала помилковий характер за оцінюванням внутрішньоутробного стану плода, що мало вплив на тактику ведення вагітності та несвоечасність розродження.

Вагітна О. мала контакт із хворою на інфекційну еритему дитину дошкільного віку у 22 тижні вагітності. На черговому УЗД у 29 тижнів у зв'язку зі стрімким підвищенням гравідограми, що могло свідчити про гостре багатоводдя, діагностована НВ у плода. Ультразвукове дослідження виконали у 29 та 33 тижні вагітності. Ехографічно у плода візуалізувалася кардіомегалія з дилатаційним розширенням правих відділів серця, регургітацією у трикуспідальному клапані серця в поєднанні з гепато-спленомегалією, асцитом, потовщенням плаценти та багатоводдям. Ознаки перенавантаження правих відділів серця не спостерігали, на клапанах серця візуалізувався фетальний тип кровотоку. Швидкість кровотоку у венозній протоці мала тенденцію до стабільного прискорення від 70 см/с до 120 см/с. Доплерометричні показники в артерії пуповини свідчили про уповільнений кровотік. Показники кровотоку



**Таблиця 2.** Сонографічні ознаки та доплерометричні показники швидкості кровотоку в середній мозковій артерії (Vs) і венозній протоці в 14 плодів із неумною водянюкою внаслідок парвовірусу В19 порівняно з показниками гемоглобіну та перинатальними наслідками

УЗД аномалії	Термін гестації	МШК в СЦА (см/с)	Венозна протока	НЬ (г/л)	Результат вагітності
Асцит, анасарка, гідроперикард, ексудативний плеврит, полігідрамніон, плацентомегалія	25	59,6	Реверсний	96	В/у загибель
Асцит, анасарка, полігідрамніон	28	76,8	Норма	62	Самовільна редукція в 32 тижні
Асцит, анасарка, полігідрамніон	23	69,0	Норма	36	В/у гемотрансфузія. Редукція
Гідроперикард, анасарка, гепатоспленомегалія, плацентомегалія, полігідрамніон	34	75,0	Реверсний	46	Помер на 1 добу життя після кесарського розтину в 34 тижні
Асцит, анасарка, полігідрамніон	28	61,0	Норма	72	Самовільна редукція в 32 тижні
Асцит, анасарка ексудативний плеврит, плацентомегалія, полігідрамніон	25	67,3	Норма	70	Самовільна редукція в 28 тижнів
Асцит, анасарка, гепатоспленомегалія	21	64,0	Норма	70	Самовільна редукція в 26 тижнів
Асцит, анасарка, ексудативний плеврит	23	78,0	Норма	34	В/у гемотрансфузія. Редукція
Асцит, анасарка, гідроторакс, гідро перикард, полігідрамніон	24	53	Реверсний	64	В/у загибель
Асцит, анасарка	28	64	Норма	72	Самовільна редукція в 31 тиждень
Анасарка гідро перикард, гепатоспленомегалія, плацентомегалія, полігідрамніон	22	68	Реверсний	43	В/у загибель
Асцит, анасарка	22	76,8	Норма	40	В/у гемотрансфузія. Редукція
Асцит, анасарка, гідроперикард, гепатоспленомегалія, плацентомегалія, полігідрамніон	25	76,9	Реверсний	36	В/у гемотрансфузія. Помер через 2 доби
Гідроперикард, двобічний гідроторакс, асцит, анасарка, плацентомегалія, полігідрамніон	31	45,1	Реверсний	76	Помер через 3 години після народження
Асцит, анасарка, полігідрамніон	25	78	Норма	35	Редукція у 28 тижнів після двократної в/у гемотрансфузії

в СЦА у 29 тижнів вагітності були від (Vs) 72 см/с, індекс резистентності – 0,74, МШК у СЦА оцінювали в 1,26 МоМ. На 33 тижні вагітності швидкість кровотоку в СЦА становила від 75 см/с, індекс резистентності – 0,77, МШК в СЦА оцінювали як 1,34 МоМ, швидкість кровотоку у венозній протоці – до 125 см/с. У 34 тижні вагітності стан плода погіршився, визначено реверсний кровотік у венозній протоці, артерії пуповини та у маткових артеріях. Матері запропоноване термінове дострокове розродження шляхом кесарського розтину. Рівень гемоглобіну новонародженого свідчив про тяжку ФА (НЬ 46 г/л). Дитина померла від ССН на 2 добу життя.

## Обговорення

Аналізуючи результати дослідження, визначили вплив парвовірусу В19 на міокардіальні клітини серця плода; у 40 % випадків інфікування парвовірусом В19 призводить до загибелі плода. Швидкий розвиток НВ плоду на фоні фетального міокардиту та фетальної анемії, що зазвичай наявна у плода, інфікованого парвовірусом В19, прискорює розвиток серцево-судинної недостатності, що маніфестує реверсним кровотоком у венозній протоці та регургітацією у трикуспідальному клапані. Помилки неінвазивної діагностики тяжкої ФА на тлі фетального міокардиту можуть бути пов'язані з ураженням його серцевих тканин, а це впливає на серцевий викид у бік його зменшення, перешкоджаючи реакційному прискоренню серцевого викиду та вчасній неінвазивній діагностиці фетальної анемії. Крім того, підвищений серцевий викид у інфікованого парвовірусом В19 плода може бути також зумовлений тяжким міокардитом, а згодом і серцевою дилатацією, що призводить до розвитку кардіомегалії [6]. Отже, особливо актуально надалі вдосконалювати непряму

неінвазивну діагностику стану плода, який інфікований парвовірусом В19.

Слід наголосити на ключових параметрах, які необхідно контролювати під час ультразвукового дослідження плода, інфікованого парвовірусом В19: перикардіальний випіт і доплерометрію кровотоку у СЦА, а також розвиток кардіомегалії та зміни кровотоку у венозній протоці, оскільки серцева декомпенсація є визначальним фактором, який впливає на перинатальні наслідки при внутрішньоутробному інфікуванні плода парвовірусом В19.

## Висновки

1. У 45,5 % випадків під час вагітності внаслідок внутрішньоматкового інфікування парвовірусом В19 розвивається НВ плода.
2. У 40 % випадків загиблих плодів з НВ діагностують інфікування міокарда парвовірусом В19.
3. Асоційовану тяжку фетальну анемію на тлі міокардиту у плода, інфікованого парвовірусом В19, доволі складно встановити на ранньому етапі за допомогою неінвазивної діагностики.
4. Зменшення серцевого викиду у плодів з фетальною анемією, що інфіковані парвовірусом В19, може бути пов'язаний з тяжким міокардитом і дилатацією порожнин серця.
5. Фетальний міокардит може бути причиною ССН в інфікованого парвовірусом В19 плода, ультрасонографічно маніфестує масивним перикардіальним випотом і кардіомегалією.
6. Кардіальна декомпенсація, що ультрасонографічно характеризується розвитком кардіомегалії та змінами кровотоку у венозній протоці, може бути основним визначальним фактором, який вказує на термінальний стан плода, інфікованого парвовірусом В19.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у пошуку сучасних методів ранньої неінвазивної діагностики внутрішньоутробного стану плода, що інфікований парвовірусом B19, для визначення тактики ведення вагітності та прогнозування несприятливих наслідків для плода.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції/ Received: 17.07.2018

Після доопрацювання/ Revised: 01.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 05.04.2019

#### Відомості про авторів:

Бондаренко Н. П., канд. мед. наук, асистент каф. акушерства і гінекології № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Жежера В. М., канд. мед. наук, зав. дитячого патологоанатомічного відділення, Національна дитяча спеціалізована налікарня «ОХМАТДИТ», м. Київ, Україна.

Аксьонова А. В., канд. мед. наук, асистент каф. акушерства і гінекології № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

#### Сведения об авторах:

Бондаренко Н. П., канд. мед. наук, асистент каф. акушерства і гінекології № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Жежера В. Н., канд. мед. наук, зав. детским патологоанатомическим отделением, Национальная детская специализированная больница «ОХМАТДЕТ», г. Киев, Украина.

Аксенова А. В., канд. мед. наук, асистент каф. акушерства і гінекології № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

#### Information about authors:

Bondarenko N. P., MD, PhD, Assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynaecology №1, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Zhezhera V. M., MD, PhD, Head of the Pediatric Autopsy Department, OKHMATDYT, Kyiv, Ukraine.

Aksonova A. V., MD, PhD, Assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynaecology №1, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

#### Список літератури

- [1] Non immune hydrops due to parvovirus B19 in pregnancy: a case report [Electronic resource] / J. Quigley, B. Doyle, E. Burke, et al. // Conference: International Society of Blood Transfusion 23rd Regional Congress of the ISBTA. – Amsterdam. – 2013. – Vol. 105. Retrieved from: <https://www.giveblood.ie/Clinical-Services/Red-Cell-Immunohaematology-Diagnostics/RCI-Publications/non-immune-hydrops.pdf>.
- [2] Rice P. Erythrovirus B19 (formerly known as parvovirus B19) / P. Rice // *Medicine*. – 2014. – Vol. 42. – Issue 1. – P. 39–41.
- [3] Parvovirus B19 infection presenting with severe erythroid aplastic crisis during pregnancy in a woman with autoimmune hemolytic anemia and alpha-thalassemia trait: a case report / C.C. Chen, C.S. Chen, W.Y. Wang, et al. // *J. Med. Case Rep.* – 2015. – Vol. 9. – P. 58.
- [4] Myocarditis fetal por parvovirus B19 / P.A. Moreno, D.A. Bustos, J. F. Polo, et al. // *Repert. Med. Cir.* – 2016. – Vol. 25. – Issue 2. – P. 106–108.
- [5] Karabulut A. Non-immune hydrops fetalis without anemia due to parvovirus B19 / A. Karabulut, S. Gok, A. Kocyigit // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2014. – Vol. 124. – Issue 1. – P. 82.
- [6] Hichijo A. A case of fetal parvovirus b19 myocarditis that caused terminal heart failure / A. Hichijo, M. Morine // *Case Rep. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 463571.
- [7] Crane J. Parvovirus B19 infection in pregnancy / J. Crane, W. Mundle, I. Boucoiran // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2014. – Vol. 36. – Issue 12. – P. 1107–1116.
- [8] Mari G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story / G. Mari // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 25. – Issue 4. – P. 323–330.

- [9] Порядок вилучення біологічних об'єктів від померлих осіб, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі, для наукових досліджень : методичні рекомендації / уклад.: В.Д. Мішалов, В.В. Войченко, В.Т. Юрченко. – К., 2016. – 14 с.
- [10] Неиммунный отек плода при внутриутробной инфекции / А.В. Колобов, В.Е. Карев, И.Н. Воробцова, В.И. Орел // *Журнал инфектологии*. – 2013. – №2. – С. 109–112.

#### References

- [1] Quigley, J., Doyle, B., Burke, E., Culliton, M., Diaz, M., & McParland, P. (2013) Non immune hydrops due to parvovirus B19 in pregnancy: a case report. *Conference: International Society of Blood Transfusion 23rd Regional Congress of the ISBTA*, 150. Retrieved from <https://www.giveblood.ie/Clinical-Services/Red-Cell-Immunohaematology-Diagnostics/RCI-Publications/non-immune-hydrops.pdf>
- [2] Rice, P. (2014). Erythrovirus B19 (formerly known as parvovirus B19). *Medicine*, 42(1), 39–41. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.10.011>
- [3] Chen, C. C., Chen, C. S., Wang, W. Y., Ma, J. S., Shu, H. F., & Fan, F. S. (2015). Parvovirus B19 infection presenting with severe erythroid aplastic crisis during pregnancy in a woman with autoimmune hemolytic anemia and alpha-thalassemia trait: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 9, 58. doi: 10.1186/s13256-015-0542-7
- [4] Moreno, P., Bustos, D., Polo, J., Bonilla, J., & Parra-Medina, R. (2016). Myocarditis fetal por parvovirus B19. *Repertorio De Medicina Y Cirugia*, 25(2), 106–108. doi: 10.1016/j.reper.2016.03.001
- [5] Karabulut, A., Gök, S., & Kocyigit, A. (2013). Non-immune hydrops fetalis without anemia due to parvovirus B19. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 124(1), 82. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.07.021
- [6] Hichijo, A., & Morine, M. (2014). A Case of Fetal Parvovirus B19 Myocarditis That Caused Terminal Heart Failure. *Case Reports In Obstetrics And Gynecology*, 2014, 463571. doi: 10.1155/2014/463571
- [7] Crane, J., Mundle, W., & Boucoiran, I. (2014). Parvovirus B19 Infection in Pregnancy. *Journal of Obstetrics And Gynaecology Canada*, 36(12), 1107–1116.
- [8] Mari, G. (2005). Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. *Ultrasound In Obstetrics And Gynecology*, 25(4), 323–330. doi: 10.1002/uog.1882
- [9] Mishalov, V. D., Voichenko, V. V., & Yurchenko, V. T. (Comp.). (2016). *Porjadok vyluchennia biolohichnykh ob'ektiv vid pomerykhn osob, tila yakykh pidliahaiut sudovo-medychnij ekspertyzi, dla naukovykh doslidzhen [The procedure for the removal of biological objects from dead persons, whose bodies are subject to forensic examination, for scientific research: (methodical recommendations)]*. Kyiv. [in Ukrainian].
- [10] Kolobov, A. V., Karev, V. E., Vorobtsova, I. N., & Orel, V. I. (2013). Neimunnnyj otek ploda pri vnutritrubnoj infekcii [Intrauterine infections with nonimmune hydrops fetalis]. *Zhurnal infekologii*, 5(2), 109–112. [in Russian].

# Interaction of polymorphism of the interleukin-6 gene with immunological damages and their role in the development of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C

K. V. Kalashnyk<sup>\*B,C,D</sup>, Yu. Yu. Riabokon<sup>A,C,F</sup>, O. V. Riabokon<sup>B,E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

**Aim.** To determine the role of the relationship of immunological disorders with interleukin-6 gene polymorphism in the formation of HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

**Materials and methods.** The study included 149 patients with chronic hepatitis C. The polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) was determined by the method of polymerase chain reaction, the quantitative content of IL-6, RF IgM and IgG by enzyme immunoassay, cryoglobulins by spectrophotometric method. The patients were divided into groups depending on the polymorphism of the IL-6 gene and the presence of mixed cryoglobulinemia.

**Results.** The frequency of formation of HCV-associated mixed cryoglobulinemia depended on the polymorphism of the IL-6 gene. In patients with chronic hepatitis C with mixed cryoglobulinemia, the frequency of registration of the CC genotype of the IL-6 gene was lower than in patients without mixed cryoglobulinemia, namely, in 9.7 % versus 28.6 % of patients. The presence of the G-allele, namely the CG/GG genotypes of the IL-6 gene polymorphism, was more often detected in patients with mixed cryoglobulinemia, namely, in 90.3 % of patients against 71.4 % of patients without signs of mixed cryoglobulinemia ( $\chi^2 = 8.94$ ,  $P = 0.003$ ).

In the presence of G-allele, the quantitative content of IL-6 in the serum of the general group of patients with CHC was higher than in healthy people ( $P < 0.01$ ), and in the presence of the genotype, the CC did not differ from the control group ( $P > 0.05$ ). The highest levels of IL-6 were recorded in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia who had the G-allele. The content of IL-6 in the blood serum of these patients exceeded the indicators of both healthy people ( $P < 0.001$ ) and the results of patients without mixed cryoglobulinemia ( $P < 0.01$ ). In patients with chronic hepatitis C with mixed cryoglobulinemia, even in the presence of the CC genotype, the content of IL-6 in serum was higher both in comparison with healthy ( $P < 0.01$ ) and in comparison with patients without signs of this extrahepatic manifestation ( $P < 0.01$ ).

In patients with chronic hepatitis C with mixed cryoglobulinemia, the presence of CG/GG genotypes was associated not only with the highest serum IL-6 content, but also with the presence of more pronounced autoimmune disorders due to a higher content of RF IgM ( $P = 0.04$ ) and mixed cryoglobulins ( $P = 0.03$ ) in serum, in comparison with patients who had the CC genotype. Moreover, the presence of more pronounced immune disorders in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia in the presence of CG/GG genotypes was accompanied by more frequent manifestation of severe general weakness ( $P = 0.003$ ), arthralgia ( $P = 0.02$ ) and the formation of Meltzer's triad.

**Conclusion.** The frequency of detection of the G-allele, namely the CG/GG genotypes of the IL-6 gene polymorphism, is the highest in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia (90.3 %). The presence of CG/GG genotypes in patients with chronic hepatitis C with mixed cryoglobulinemia contributes to more pronounced immunological disorders due to the highest content of IL-6, mixed cryoglobulins, and RF IgM in serum, which causes the manifestation of the clinical symptoms of this hepatic manifestation.

## Key words:

chronic hepatitis C, mixed cryoglobulinemia, interleukin-6, genetic polymorphism.

## Pathologia

2019; 16 (1), 27–32

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166189

## \*E-mail:

anopheles@ukr.net

## Взаємозв'язки імунологічних порушень із поліморфізмом гена інтерлейкіну-6 та їхня роль у формуванні HCV-асоційованої змішаної криоглобулінемії

К. В. Калашник, Ю. Ю. Рябоконт, О. В. Рябоконт

**Мета роботи** – визначити роль взаємозв'язків імунологічних порушень із поліморфізмом гена інтерлейкіну-6 у формуванні HCV-асоційованої змішаної криоглобулінемії.

**Матеріали та методи.** У дослідження залучили 149 пацієнтів із хронічним гепатитом С (ХГС). Визначили поліморфізм гена ІЛ-6 (rs1800795) методом полімеразної ланцюгової реакції, кількісний вміст ІЛ-6, RFIgM та IgG методом імуноферментного аналізу та змішаних криоглобулінів спектрофотометричним методом. Пацієнтів поділили на групи залежно від поліморфізму гена ІЛ-6 і наявності змішаної криоглобулінемії.

**Результати.** Встановили, що частота формування HCV-асоційованої змішаної криоглобулінемії залежала від поліморфізму гена ІЛ-6. У хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією частота реєстрації генотипу CC гена ІЛ-6 була меншою, ніж у пацієнтів без змішаної криоглобулінемії – у 9,7 % проти 28,6 % хворих. Наявність G-алеля, а саме генотипів CG/GG поліморфізму гена ІЛ-6, частіше визначали у хворих зі змішаною криоглобулінемією – у 90,3 % проти 71,4 % хворих без ознак змішаної криоглобулінемії ( $\chi^2 = 8,94$ ,  $p = 0,003$ ).

За наявності G-алеля кількісний вміст ІЛ-6 у сироватці крові загальної групи пацієнтів із ХГС був вищим, ніж у здорових осіб ( $p < 0,01$ ), а за наявності генотипу CC не відрізнявся від показника осіб контрольної групи ( $p > 0,05$ ). Найвищий

## Ключові слова:

хронічний гепатит С, змішана криоглобулінемія, інтерлейкін-6, поліморфізм генетичний.

## Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 27–32

рівень вмісту ІЛ-6 зафіксували в пацієнтів із HCV-асоційованою змішаною криоглобулінемією, які мали G-алель. Вміст ІЛ-6 у сироватці крові цих хворих перевищував показники як здорових осіб ( $p < 0,001$ ), так і пацієнтів без змішаної криоглобулінемії ( $p < 0,01$ ). У хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією навіть за наявності CC-генотипу вміст ІЛ-6 у сироватці крові був вищим порівняно зі здоровими ( $p < 0,01$ ) і хворими без ознак цього позапечінкового прояву ( $p < 0,01$ ).

У хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією наявність генотипів CG/GG асоціювалася не тільки з найвищим вмістом ІЛ-6 у сироватці крові, але і з вираженішими аутоімунними порушеннями внаслідок вищого вмісту RF IgM ( $p = 0,04$ ) та змішаних криоглобулінів ( $p = 0,03$ ) у сироватці крові порівняно з пацієнтами, які мали генотип CC. Більш виражені імунні порушення у хворих із HCV-асоційованою змішаною криоглобулінемією за наявності генотипів CG/GG супроводжувалися частішою маніфестацією вираженої загальної слабкості ( $p = 0,003$ ), артралгій ( $p = 0,02$ ) та формуванням триади Мельцера.

**Висновки.** Частота виявлення G-алеля – генотипів CG/GG поліморфізму гена ІЛ-6 – є найвищою у хворих із HCV-асоційованою змішаною криоглобулінемією (90,3 %). Наявність у хворих на ХГС зі змішаною криоглобулінемією генотипів CG/GG асоційована з вираженішими імунологічними порушеннями внаслідок найвищого вмісту ІЛ-6, змішаних криоглобулінів, RF IgM у сироватці крові, що зумовлює маніфестацію клінічної симптоматики цього позапечінкового прояву.

#### Ключевые слова:

хронический гепатит С, смешанная криоглобулинемия, интерлейкин-6, полиморфизм генетический.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 27–32

## Взаимосвязи полиморфизма гена интерлейкина-6 с иммунологическими нарушениями и их роль в развитии смешанной криоглобулинемии у больных хроническим гепатитом С

К. В. Калашник, Ю. Ю. Рябоконт, Е. В. Рябоконт

**Цель работы** – определить роль взаимосвязи иммунологических нарушений с полиморфизмом гена интерлейкина-6 в формировании HCV-ассоциированной смешанной криоглобулинемии.

**Материалы и методы.** В исследование включили 149 пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС). Определен полиморфизм гена ІЛ-6 (rs1800795) методом полимеразной цепной реакции, количественное содержание ІЛ-6, RF IgM и ІgG методом иммуноферментного анализа, а также криоглобулины спектрофотометрическим методом. Пациенты разделены на группы в зависимости от полиморфизма гена ІЛ-6 и наличия смешанной криоглобулинемии.

**Результаты.** Установлено, что частота формирования HCV-ассоциированной смешанной криоглобулинемии зависела от полиморфизма гена ІЛ-6. У больных ХГС со смешанной криоглобулинемией частота регистрации генотипа CC гена ІЛ-6 была ниже, чем у пациентов без смешанной криоглобулинемии – у 9,7 % против 28,6 % больных. Наличие G-аллели, а именно генотипов CG/GG полиморфизма гена ІЛ-6 чаще установлено у больных со смешанной криоглобулинемией – у 90,3 % против 71,4 % больных без признаков смешанной криоглобулинемии ( $\chi^2 = 8,94$ ,  $p = 0,003$ ).

При наличии G-аллели количественное содержание ІЛ-6 в сыворотке крови общей группы больных ХГС было выше, чем у здоровых людей ( $p < 0,01$ ), а при наличии генотипа CC не отличался от показателей лиц контрольной группы ( $p > 0,05$ ). Самый высокий уровень содержания ІЛ-6 зафиксирован у пациентов с HCV-ассоциированной смешанной криоглобулинемией, у которых была G-аллель. Содержание ІЛ-6 в сыворотке крови этих больных превышал показатели как здоровых людей ( $p < 0,001$ ), так и пациентов без смешанной криоглобулинемии ( $p < 0,01$ ). У больных ХГС со смешанной криоглобулинемией даже при наличии CC-генотипа содержание ІЛ-6 в сыворотке крови было выше в сравнении и со здоровыми ( $p < 0,01$ ), и больными без признаков этого внепеченочного проявления ( $p < 0,01$ ).

У больных ХГС со смешанной криоглобулинемией наличие генотипов CG/GG ассоциировалось не только с самым высоким содержанием ІЛ-6 в сыворотке крови, но и с наличием более выраженных аутоиммунных нарушений за счет более высокого содержания RF IgM ( $p = 0,04$ ) и смешанных криоглобулинов ( $p = 0,03$ ) в сыворотке крови в сравнении с пациентами, которые имели генотип CC. Наличие более выраженных иммунных нарушений у больных с HCV-ассоциированной смешанной криоглобулинемией при наличии генотипов CG/GG сопровождалось более частой манифестацией выраженной общей слабости ( $p = 0,003$ ), артралгій ( $p = 0,02$ ) и формированием триады Мельцера.

**Выводы.** Частота установления G-аллели, а именно генотипов CG/GG полиморфизма гена ІЛ-6, самая высокая у больных с HCV-ассоциированной смешанной криоглобулинемией (90,3 %). Наличие у больных ХГС со смешанной криоглобулинемией генотипов CG/GG способствует более выраженным иммунологическим нарушениям за счет самого высокого содержания ІЛ-6, смешанных криоглобулинов, RF IgM в сыворотке крови, что обуславливает манифестацию клинической симптоматики этого внепеченочного проявления.

A distinctive feature of chronic hepatitis C (CHC) is the high incidence of mixed cryoglobulinemia, which increases the risk of mortality [1,2]. The presence of mixed cryoglobulins in the blood is registered in almost 70 % of patients with CHC, but clinical manifestations develop only in every tenth patient [3]. It is known that the typical clinical triad of cryoglobulinemic syndrome is skin purpura, the general weakness of a significant degree of severity, joint pain (Meltzer's triad). Also, in some patients, due to this syndrome, there is damage of the kidneys, sometimes the lungs, which causes difficul-

ties not only in diagnosis but also in the treatment of these patients [4,5].

In the literature, in recent years, a significant number of studies have been conducted on the role of various cytokines in the course of CHC [6,7]. It is well known that the main importance in the development of HCV-associated mixed cryoglobulinemia is the tropism of the virus to B-lymphocytes, which leads to the formation of autoimmune disorders, namely, to the increase in production of autoantibodies and mixed cryoglobulins [8,9]. Taking into account the role of autoimmune disorders in the deve-

lopment of mixed cryoglobulinemia, attention is drawn to the role of interleukin-6 (IL-6) in the course of CHC. IL-6 is a multifunctional cytokine that contributes to the regulation of the immune system, hemopoiesis and oncogenesis [10], and also affects the differentiation of B-lymphocytes into plasma cells [11, 12]. Several studies have demonstrated the role of this cytokine in such pathological conditions as arterial hypertension [13], rheumatoid arthritis [14], hepatocellular carcinoma [15]. There are isolated studies to determine the role of IL-6 in the progression of liver fibrosis in patients with CHC [16].

When studying the immunopathogenesis of diseases, it is relevant to determine the quantitative content of some cytokines in conjunction with the polymorphism of the genes that they encode, because the polymorphism of the cytokines genes affects not only the natural course of the disease, but also the effectiveness of treatment [17]. Thus, the study [18] demonstrates the dependence of IL-6 products on the polymorphism of the encoding gene in patients with rheumatologic pathology. However, in literature available to us, no work was found on the role of the level of IL-6 in blood, depending on the polymorphism of the encoding gene in the development of HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

## Aim

To determine the role of the relationship of immunological disorders with interleukin-6 gene polymorphism in the formation of HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

## Materials and methods

The study was attended by 149 patients with CHC. The age of the patients was from 24 to 73 years. All the patients were examined in the communal institution "Zaporizhzhia Regional Clinical Infectious Disease Hospital" of the Zaporizhzhia Regional Council. Men were 98, women – 51. Duration of illness since the confirmation of etiology was 4.0 [1.0; 8.0] years. Most of the patients were infected with 1 genotype (101 – 67.8 %) or 3 genotype of HCV (45–30.2 %), 2 patients of them had infection with genotype 2, and one patient had simultaneous infection with 2 and 3 genotypes of the virus. Viral load was high (>400.000 IU/ml) in 95 patients and accordingly was low in 54 patients. The degree of liver fibrosis was determined by FibroTest (64 patients) and elastography (in 82 patients), liver biopsy was performed in 3 patients. In 87 (58.4 %) patients with CHC, the initial stages of liver fibrosis F 0-2 were diagnosed, and severe F 3-4 liver fibrosis was detected in 62 (41.6 %) patients. The normal level of ALT activity was observed in 24 (16.1 %), every third patient had minimal activity (55 – 36.9 %), one in five patients moderate (29 – 19.5 %), one in four patients high (41 – 27.5 %) activity of necroinflammatory process in the liver.

DNA isolation and determination of polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) was performed using real-time polymerase chain reaction on the CFX-96 Touch product detection system (BIO-RAD, USA) using NP-512-100 kits (RU). The spectrophotometric method determines the concentration of mixed cryoglobulins in serum.

The immune enzyme method in blood serum tested the concentration of IL-6 (Human IL-6 High Sensivity ELISA BMS213HS, Invitrogen, Austria), RF IgM and IgG (AESKULISARf-AGM No. 3116, AESKU, Germany) using the Sirio-S microplate reader (Seac, Italy). The control group consisted of 20 healthy individuals. When tested for viral hepatitis markers, they had negative results, the age of these individuals and the sex ratio was not statistically different from those included in the study patients. The research was conducted in the Training Medical Laboratory Center of the Zaporizhzhia State Medical University (headed by Professor A.V. Abramov).

For the analysis of data, 149 patients with CHC were divided into groups depending on the polymorphism of the IL-6 gene: the CC genotype (25 patients) and genotypes CG/GG (124 patients); depending on the presence of mixed cryoglobulinemia: patients with mixed cryoglobulinemia (93) and patients without this extrahepatic manifestation (56). In addition, 93 CHC patients with mixed cryoglobulinemia were divided into groups depending on the polymorphism of the IL-6 gene: the CC genotype (9 patients) and genotypes CG/GG (84 patients).

Statistical processing of the material was carried out using the software Excel (Microsoft, USA) and Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., JPZ804I382130ARCN10-J). In order to assess the validity of the differences between the quantitative features in the independent groups, the Mann–Whitney criterion was used, and the quality method  $\chi^2$  was used between qualitative features. Spearman correlation was used to detect relationships between quantitative features, while Kendall's correlation – between quantitative and ordinal values.

## Results

As a result of the studies, it was found that the incidence of HCV-associated mixed cryoglobulinemia depended on the polymorphism of the IL-6 gene. In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, the incidence of genotype CC registration of the IL-6 gene was lower than in patients without mixed cryoglobulinemia, namely 9.7 % (9 out of 93) versus 28.6 % (16 out of 56) patients. The presence of the G allele, namely the genotypes CG/GG polymorphism of the IL-6 gene, was more often identified in patients with mixed cryoglobulinemia, namely in 90.3 % (84 out of 93) patients versus 71.4 % (40 out of 56) patients without signs of mixed cryoglobulinemia ( $\chi^2 = 8.94$ ,  $P = 0.003$ ).

An analysis of the relationships between the quantitative content of IL-6 in serum and the polymorphism of the gene encoding it has shown that, in the presence of G-allele, the content of IL-6 in the blood serum of the general group of patients with CHC exceeded the same rate in healthy subjects ( $P < 0.01$ ). It should be noted that in patients with CHC with genotype CC, the quantitative content of IL-6 in serum did not have statistically significant differences from the index of healthy people ( $P > 0.05$ ) (Table 1).

The highest level of quantitative content of IL-6 was observed in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia who had G-alleles, in particular, patients with CG/GG genotypes. The level of IL-6 in the blood serum of these patients exceeded both

**Table 1.** The content of IL-6 in the blood of patients with CHC, depending on the polymorphism of the gene that it codes, and the presence of mixed cryoglobulinemia, Me ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ )

Indicator	Healthy people (n = 20)	Patients with CHC (n = 149)	Patients with CHC (n = 149)	
			with mixed cryoglobulinemia (n = 93)	without mixed cryoglobulinemia (n = 56)
Genotype CC	0.08 [0.08; 0.14]	0.22 [0.09; 0.28]	0.3 [0.26; 0.32]..	0.10 [0.08; 0.2]
Genotype CG		0.60 [0.22; 0.76]*	0.62 [0.20; 1.02]*	0.52 [0.24; 0.64]*
Genotype GG		0.31 [0.24; 0.67]*	0.64 [0.26; 0.94]..	0.24 [0.22; 0.30]*
Genotypes CG/GG		0.50 [0.24; 0.74]*	0.63 [0.23; 0.96]..	0.26 [0.24; 0.54]*

\*: the difference is significant compared with healthy people ( $P < 0.001$ ); \*\*: the difference is significant compared to patients without mixed cryoglobulinemia ( $P < 0.01$ ).

**Table 2.** Comparison of indicators of autoimmune disorders and the frequency of HCV-associated mixed cryoglobulinemia clinical manifestations, depending on the IL-6 gene polymorphism

Indicator, units of measure	Healthy people (n = 20)	Patients with CHC with mixed cryoglobulinemia (n = 93)	
		Genotype CC (n = 9)	Genotypes CG/GG (n = 84)
<b>Laboratory indices of autoimmune disorders</b>			
Mixed cryoglobulins, optical units	less than 2.2	2.42 [2.36; 2.54]	2.66 [2.39; 3.13]**
RF IgM, IU/ml	1.43 [0.54; 2.13]	5.10 [1.75; 10.00]*	10.47 [5.10; 17.49]***
RF IgG, IU/ml	1.23 [0.10; 2.31]	5.74 [4.26; 10.20]*	7.27 [4.90; 8.84] *
<b>Clinical manifestations of mixed cryoglobulinemia</b>			
The general weakness, %		22.2 % (2 is 9)	71.4 % (60 is 84)**
Arthralgia, %		22.2 % (2 is 9)	63.1 % (53 is 84)**
Hemorrhagic vasculitis, %		–	15.5 % (13 is 84)
Meltzer's triad, %			15.5 % (13 is 84)

\*: the difference is significant compared with healthy people ( $P < 0.01$ ); \*\*: the difference is significant compared with patients with CC genotype ( $P < 0.05$ ).

indicators of healthy subjects ( $P < 0.001$ ) and those of patients without mixed cryoglobulinemia ( $P < 0.01$ ). In patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, even in the presence of the CC genotype, there was an increase in the content of IL-6 in serum as compared to healthy people ( $P < 0.01$ ) and in comparison with patients without signs of this extrahepatic manifestation ( $P < 0.01$ ). In the absence of HCV-associated mixed cryoglobulinemia and the presence of the CC genotype, the content of IL-6 in serum is the same as in healthy people ( $P > 0.05$ ) (Table 1).

To find out the role of IL-6 gene polymorphism in the progression of HCV-associated mixed cryoglobulinemia, we have analyzed laboratory parameters that characterize autoimmune disorders and the frequency of development of clinical manifestations of this extrahepatic symptom in 93 patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia, depending on the detected genotype IL-6 gene polymorphism. The analysis made it possible to note that in patients with mixed cryoglobulinemia, the presence of CG/GG genotypes was associated not only with the highest quantitative content of IL-6 in serum but also with more pronounced autoimmune disorders due to higher RF IgM quantitative content ( $P = 0.04$ ) and a higher content of mixed cryoglobulins ( $P = 0.03$ ) in serum, compared to patients who had the genotype CC. In addition, the presence of more pronounced immune disorders in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia, in the presence of CG/GG genotypes, is associated with a more frequent manifestation of the clinical features of this extrahepatic signs than in patients with the genotype CC. The most commonly reported symptoms were weakness ( $\chi^2 = 8.86$ ,  $P = 0.003$ ), arthralgia ( $\chi^2 = 5.62$ ,  $P = 0.02$ ), and appearance of cryoglobulinemic vasculitis with the formation of Meltzer's triad was only observed in patients with genotypes CG/GG (Table 2).

The role of IL-6 gene polymorphism in the development of immune disorders and the formation of mixed cryoglobulinemia in patients with CHC also confirmed the association between the presence of certain IL-6 polymorphism with a quantitative content in the serum of RF IgM ( $r = 0.27$ ,  $P = 0.007$ ). IL-6 gene polymorphism, namely the CG/GG genotypes, promotes higher levels of IL-6 in serum. According to the results of the Spearman correlation, a correlation was found between the content of IL-6 and RF IgM ( $r = 0.33$ ,  $P = 0.03$ ), between the content of mixed cryoglobulins and RF IgM ( $r = 0.37$ ,  $P = 0.009$ ).

## Discussion

The data of modern literature on the cytokine genes polymorphism show a certain pathogenetic role of these parameters in the formation of CHC course variants. For example, the role of the T-like receptor 4 polymorphism in the chronicity of HCV infection and its subsequent progress is proved [19]. In our study, we found the relationship between the presence of the G-allele, namely the genotypes of the CG/GG IL-6 gene polymorphism. In this case, the genotype is observed by an increase in the quantitative content of mixed cryoglobulins in the serum of blood with the formation of HCV-associated mixed cryoglobulinemia and the appearance of relevant clinical signs. This allows us to consider the IL-6 gene polymorphism as a genetically determined risk factor for the development and progression of this extrahepatic manifestation in patients with CHC. In the available literature we did not find scientific research on the role of IL-6 gene polymorphism in the development of HCV-associated mixed cryoglobulinemia, but we found work that proves the role of IL-6 in the development and progression of rheumatologic diseases [20] and joint damage in CHC [21].

In patients with non-rheumatic diseases in the blood, RF can be detected, but CHC also is characterized by rather high percentage of patients with positive RF [22]. This is due to the fact that surface antigens of HCV interact with B-lymphocyte receptors and reduce the threshold for their activation, which leads to suppression of apoptosis. This causes the formation of somatic hypermutation of B-lymphocytes and increased production of both mixed cryoglobulins and RF [8,9,22]. The frequency of RF detection, according to various studies [23,24] in patients with CHC ranges from 40 % to 76%. According to the results of our study in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia the presence of genotypes CG/GG leads to more severe immunological disorders due to the highest content of IL-6, mixed cryoglobulins, RF IgM in serum, which causes the manifestation of clinical signs of this extrahepatic manifestation. Literature data [25] suggest that the increased concentration of RF is more often found in patients with arthralgia and CHC than in patients only with the presence of hepatitis. At the same time, high blood levels of RF remain even after elimination of HCV [26].

In modern studies of immunopathogenesis of rheumatologic diseases considerable attention is paid to proinflammatory cytokines, including IL-6 [27]. IL-6 gene polymorphism in the position of 174 C/G (rs1800795) has been studied in patients with different rheumatologic pathologies. The study [28] has shown that patients with rheumatoid arthritis with the genotype CG have a higher degree of bone marrow deficiency, and the presence of the CC-genotype is associated with an early manifestation of the disease [29,30]. According to the results of our study in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia and the presence of CG/GG genotypes, the highest levels of IL-6 in serum were observed and they most often have clinical signs of manifestation of autoimmune lesions. Also, the literature suggests that high levels of IL-6 in the blood are associated with greater activity of rheumatologic pathology [31].

## Conclusion

1. IL-6 gene polymorphism influences the formation of mixed cryoglobulinemia in patients with CHC. The detection frequency of the G-allele, namely the CG/GG genotypes of IL-6 gene polymorphism, is the highest in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia (90.3 %).

2. In patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia, who have CG/GG genotypes, the highest quantitative content of IL-6 in serum is determined, which is higher than healthy people ( $P < 0.001$ ), and the rates of patients without mixed cryoglobulinemia ( $P < 0.01$ ).

3. The presence of CG/GG in patients with CHC with mixed cryoglobulinemia is associated with more pronounced immunological disorders due to the high content of IL-6, mixed cryoglobulins, RF IgM in serum, which causes the manifestation of clinical signs of HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

4. In patients with CHC it is expedient to determine the IL-6 gene polymorphism to solve the problem of the appointment of specific therapy in the first place.

**Prospects for further research.** Taking into account the data obtained, it is expedient to continue the research on the role of IL-6 gene polymorphism in relation to its quantitative content in predicting the effectiveness of various antiviral regimens in patients with HCV-associated mixed cryoglobulinemia.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.12.2018  
Після доопрацювання / Revised: 01.02.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 07.02.2019

## Information about authors:

Kalashnyk K. V., MD, Assistant Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Калашник К. В., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Рябоконт О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Калашник К. В., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Рябоконт Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Lee, M., Yang, H., Lu, S., Jen, C., You, S., Wang, L. et al. (2012). Chronic Hepatitis C Virus Infection Increases Mortality From Hepatic and Extrahepatic Diseases: A Community-Based Long-Term Prospective Study. *Journal of Infectious Diseases*, 206(4), 469–477. doi: 10.1093/infdis/jjs385
- [2] Russi, S., Sansonno, D., Mariggio, M., Vinella, A., Pavone, F., Lauletta, G., et al. (2014). Assessment of total hepatitis C virus (HCV) core protein in HCV-related mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Research & Therapy*, 16(2), R73. doi: 10.1186/ar4513
- [3] Roccatello, D., Sciascia, S., Rossi, D., Solfetti, L., Fenoglio, R., Menegatti, E., & Baldovino, S. (2017). The challenge of treating hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis in the era of anti-CD20 monoclonal antibodies and direct antiviral agents. *Oncotarget*, 8(25). doi: 10.18632/oncotarget.16986
- [4] Mazzaro, C., Monti, G., Saccardo, F., Zignego, A. L., Ferri C., De Vita, S., et al. (2011) Efficacy and safety of peginterferon alfa-2b plus ribavirin for HCV-positive mixed cryoglobulinemia: a multicentre open-label study. *Clin Exp Rheumatol.*, 29(6), 933–41.
- [5] Terrier, B., Semoun, O., Saadoun, D., Sène, D., Resche-Rigon, M., & Cacoub, P. (2011). Prognostic factors in patients with hepatitis C virus infection and systemic vasculitis. *Arthritis & Rheumatism*, 63(6), 1748–1757. doi: 10.1002/art.30319
- [6] Menegatti, E., Messina, M., Oddone, V., Rubini, E., Sciascia, S., Naretto, C., et al. (2016) Immunogenetics of complement in mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Rheumatol.*, 34(3 Suppl 97), 12–5.

- [7] Yamagiwa, S., Ishikawa, T., Waguri, N., Sugitani, S., Kamimura, K., Tsuchiya, A., et al. (2017). Increase of Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 in Patients with Chronic Hepatitis C. *International Journal of Medical Sciences*, 14(5), 403–411. doi: 10.7150/ijms.18784
- [8] Holz, L., Yoon, J., Raghuraman, S., Moir, S., Sneller, M., & Rehermann, B. (2012). B cell homeostasis in chronic hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia is maintained through naïve B cell apoptosis. *Hepatology*, 56(5), 1602–1610. doi: 10.1002/hep.25821
- [9] Charles, E., Orloff, M., Nishiuchi, E., Marukian, S., Rice, C., & Dustin, L. (2013). Somatic Hypermutations Confer Rheumatoid Factor Activity in Hepatitis C Virus-Associated Mixed Cryoglobulinemia. *Arthritis & Rheumatism*, 65(9), 2430–2440. doi: 10.1002/art.38041
- [10] Rose-John, S. (2015). The soluble interleukin-6 receptor and related proteins. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(5), 787–797. doi: 10.1016/j.beem.2015.07.001
- [11] Naka, T., Nishimoto, N., & Kishimoto, T. (2002). The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis research*, 4 Suppl 3(Suppl 3), S233–42. doi: 10.1186/ar565
- [12] Kishimoto, T. (2005). INTERLEUKIN-6: From Basic Science to Medicine—40 Years in Immunology. *Annual Review Of Immunology*, 23(1), 1–21. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115806
- [13] O'Reilly, S., Ciechomska, M., Cant, R., & van Laar, J. (2014). Interleukin-6 (IL-6) Trans Signaling Drives a STAT3-dependent Pathway That Leads to Hyperactive Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Signaling Promoting SMAD3 Activation and Fibrosis via Gremlin Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 289(14), 9952–9960. doi: 10.1074/jbc.m113.545822
- [14] Li, B., Xiao, Y., Xing, D., Ma, X., & Liu, J. (2016). Circulating interleukin-6 and rheumatoid arthritis. *Medicine*, 95(23), e3855. doi: 10.1097/md.0000000000003855
- [15] Othman, M., Aref, A., Mohamed, A., & Ibrahim, W. (2013). Serum Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10 as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients. *ISRN Hepatology*, 2013, 412317. doi: 10.1155/2013/412317
- [16] Salter, M., Lau, B., Mehta, S., Go, V., Leng, S., & Kirk, G. (2013). Correlates of Elevated Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Persons With or at High Risk for HCV and HIV Infections. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 64(5), 488–495. doi: 10.1097/qai.0b013e3182a7ee2e
- [17] Mechie, N. (2014). Predictability of IL-28B-polymorphism on protease-inhibitor-based triple-therapy in chronic HCV-genotype-1 patients: A meta-analysis. *World Journal of Hepatology*, 6(10), 759. doi: 10.4254/wjh.v6.i10.759
- [18] Shah, S., Ma, Y., Scherzer, R., Huhn, G., French, A., Plankey, M., et al. (2015). Association of HIV, hepatitis C virus and liver fibrosis severity with interleukin-6 and C-reactive protein levels. *AIDS*, 29(11), 1325–1333. doi: 10.1097/qad.0000000000000654
- [19] Sizova, L., Koval, T., Kaidashev, I., Ilchenko, V., & Dubinskaya, G. (2016). Rol' geneticheskogo polimorfizma Toll-like receptor 4 i 7 v razviti khrnicheskogo gepatita C i gendernye osobennosti ikh raspredeleniya [The role of genetic polymorphisms toll-like receptor 4 and 7 in the chronic hepatitis C and gender features of their distribution]. *Georgian medical news*, 1(250), 51–55. [in Russian].
- [20] Karimifar, M., Pourajam, S., Tahmasebi, A., & Mottaghi, P. (2013). Serum cryoglobulins and disease activity in systematic lupus erythematosus. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 18(3), 234–238.
- [21] Riccio, A., Postiglione, L., Sabatini, P., Linvelli, M., Soriente, I., Sangiolo, M., et al. (2012). Similar Serum Levels of IL-6 and its Soluble Receptors in Patients with HCV-Related Arthritis and Rheumatoid Arthritis: A Pilot Study. *International Journal of Immunopathology And Pharmacology*, 25(1), 281–285. doi: 10.1177/039463201202500132
- [22] Palazzi, C., Buskila, D., D'Angelo, S., D'Amico, E., & Olivieri, I. (2012). Autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: pitfalls for the diagnosis of rheumatic diseases. *Autoimmunity Reviews*, 11(9), 659–663. doi: 10.1016/j.autrev.2011.11.011
- [23] Öge, E., Çefle, A., Yazıcı, A., Gürel-Polat, N., & Hulagu, S. (2010). The positivity of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody in nonarthritic patients with chronic hepatitis c infection. *Rheumatology International*, 30(4), 485–488. doi: 10.1007/s00296-009-0997-1
- [24] Wu, Y., Hsu, T., Chen, T., Liu, T., Liu, G., Lee, Y., & TSAY, G. (2002). Proteinase 3 and dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) are major autoantigens in hepatitis C virus (HCV) infection. *Clinical & Experimental Immunology*, 128(2), 347–352. doi: 10.1046/j.1365-2249.2002.01827.x
- [25] Lormeau, C., Falgarone, G., Roulot, D., & Boissier, M. (2006). Rheumatologic manifestations of chronic hepatitis C infection. *Joint Bone Spine*, 73(6), 633–638. doi: 10.1016/j.jbspin.2006.05.005
- [26] Reyes-Avilés, E., Kostadinova, L., Rusterholtz, A., Cruz-Lebrón, A., Falck-Ytter, Y., & Anthony, D. (2015). Presence of Rheumatoid Factor during Chronic HCV Infection Is Associated with Expansion of Mature Activated Memory B-Cells that Are Hypo-Responsive to B-Cell Receptor Stimulation and Persist during the Early Stage of IFN Free Therapy. *PLOS ONE*, 10(12), e0144629. doi: 10.1371/journal.pone.0144629
- [27] Scott, D., Wolfe, F., & Huizinga, T. (2010). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 376(9746), 1094–1108. doi: 10.1016/s0140-6736(10)60826-4
- [28] Marinou, I., Healy, J., Mewar, D., Moore, D., Dickson, M., & Binks, M., et al. (2007). Association of interleukin-6 and interleukin-10 genotypes with radiographic damage in rheumatoid arthritis is dependent on autoantibody status. *Arthritis & Rheumatism*, 56(8), 2549–2556. doi: 10.1002/art.22814
- [29] Pascual, M., Nieto, A., Matarán, L., Balsa, A., Pascual-Salcedo, D., & Martín, J. (2000). IL-6 promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Genes & Immunity*, 1(5), 338–340. doi: 10.1038/sj.gene.6363677
- [30] Lee, Y., Bae, S., Choi, S., Ji, J., & Song, G. (2012). The association between interleukin-6 polymorphisms and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Inflammation Research*, 61(7), 665–671. doi: 10.1007/s00011-012-0459-1
- [31] Ripley, B., Goncalves, B., Isenberg, D. A., Latchman, D. S., & Rahman, A. (2005). Raised levels of interleukin 6 in systemic lupus erythematosus correlate with anaemia. *Annals of The Rheumatic Diseases*, 64(6), 849–853. doi: 10.1136/ard.2004.022681



## Prognostic model of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C

T. I. Koval<sup>A-E</sup>, L. M. Syzova<sup>A-E</sup>, H. M. Dubynska<sup>A,E,F</sup>, N. O. Pryimenko<sup>A,D,E</sup>, S. S. Rudenko<sup>A,D,E</sup>

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

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

**The aim of the research** was to determine clinical and genetic predictors and to create a prognostic model for the rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C.

**Materials and methods.** A cross-sectional study which included 111 male patients with chronic hepatitis C was conducted. The patient examination program included: assessment of complaints and anamnestic data, physical examination, complete blood count, biochemical test, the stages of hepatic fibrosis according to METAVIR and genetic studies (detecting carriers alleles 11Gln or 11Leu of TLR7 gene in the genome of the examined men).

**Results.** It was determined that informative predictors of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C are: ethanol use in a dose of more than 40 g/day (OR = 2.40, P = 0.042), presence of chronic cholecystitis in past history (OR = 2.94, P = 0.013), ALT level above 3 upper limit of normal (OR = 2.49, P = 0.031), the levels of AST, GGT exceeding upper limit of normal (OR = 6.94, P < 0.001 and OR = 4.02, P = 0.001 respectively), hyperbilirubinemia (OR = 3.13, P = 0.010) and carrier state of allele 11Gln of TLR7 gene in the genome (OR = 3.62, P = 0.036). In order to optimize the prognosis of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C a model that demonstrated statistical significance ( $\chi^2 = 44.73$ , P < 0.001) and high operational characteristics (sensitivity – 76.8 %, specificity – 74.5 %, the total number of correct predictions – 75.7 %, AUC of the ROC-curve – 0.828), which indicates the feasibility of its practical use, was proposed.

**Conclusions.** An effective clinical and genetic prognostic model has been created and allows us to predict the probability of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C with high accuracy and to form a group of patients who need high priority antiviral therapy.

### Key words:

chronic hepatitis C, hepatic fibrosis, men, prognosis, TLR7 gene.

### Pathologia

2019; 16 (1), 33–38

### DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166214

### \*E-mail:

infectionumsa@ukr.net

## Прогностична модель швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С

T. I. Коваль, Л. М. Сизова, Г. М. Дубинська, Н. О. Прийменко, С. С. Руденко

**Мета роботи** – визначити клініко-генетичні предиктори та на їхній основі створити прогностичну модель швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С.

**Матеріали та методи.** Здійснили крос-секційне дослідження, в яке залучили 111 пацієнтів чоловічої статі з хронічним гепатитом С. Програма обстеження передбачала оцінювання скарг та анамнестичних даних, фізикальний огляд, загальноклінічне дослідження периферичної крові, визначення біохімічних показників сироватки крові, що характеризують функціональний стан печінки, стадії фіброзу печінки за METAVIR і генетичні дослідження (виявлення носійства в геномі обстежених чоловіків алелів 11Gln або 11Leu гена TLR7).

**Результати.** Інформативними предикторами швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С є вживання етанолу в дозі понад 40 г/добу (OR = 2,40; p = 0,042), наявність хронічного холециститу в анамнезі (OR = 2,94; p = 0,013), показник АЛТ вищий за 3 верхні межі норми (OR = 2,49; p = 0,031), показники АСТ і ГГТП, що перевищують верхню межу норми (OR = 6,94; p < 0,001 та OR = 4,02; p = 0,001 відповідно), гіпербілірубінемія (OR = 3,13; p = 0,010) і носійство в геномі алеля 11Gln TLR7 (OR = 3,62; p = 0,036). Для оптимізації прогнозу швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С запропонована модель, котра продемонструвала статистичну значущість ( $\chi^2 = 44,73$ ; p < 0,001) і високі операційні характеристики (чутливість – 76,8 %, специфічність – 74,5 %, загальна кількість коректних прогнозів – 75,7 %, AUC ROC-кривої – 0,828), що вказує на доцільність її практичного застосування.

**Висновки.** Створили ефективну клініко-генетичну прогностичну модель, що дало змогу з високою точністю прогнозувати вірогідність швидкого прогресування фіброзу печінки в чоловіків із хронічним гепатитом С і сформувати групу пацієнтів, які потребують першочергового призначення протівірусної терапії.

### Ключові слова:

хронічний гепатит С, фіброз печінки, чоловіки, прогноз, ген TLR7.

### Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 33–38

## Прогностическая модель быстрого прогрессирования фиброза печени у мужчин с хроническим гепатитом С

Т. И. Коваль, Л. М. Сизова, Г. М. Дубинская, Н. О. Прийменко, С. С. Руденко

**Цель работы** – определить клинико-генетические предикторы и на их основе создать прогностическую модель быстрого прогрессирования фиброза печени у мужчин с хроническим гепатитом С.

### Ключевые слова:

хронический гепатит С, фиброз печени, мужчины, прогноз, ген TLR7.

### Патология. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 33–38

**Матеріали і методи.** Проведено кросс-секційне когортне дослідження, в яке вошли 111 пацієнтів чоловічого статі з хронічним гепатитом С. Програма обстеження включала оцінку скарги і анамністичних даних, фізикальний огляд, загальноклінічне дослідження периферическої крові, визначення біохімічних показувачів сироватки крові, характеризуючих функціональний стан печінки, стадії фіброзу печінки за METAVIR і генетичні дослідження (встановлення носійства в геномі обстежуваних чоловіків аллелів 11Gln або 11Leu гена TLR7).

**Результати.** Інформативні предиктори швидкого прогресування фіброзу печінки у чоловіків з хронічним гепатитом С: вживання етанолу в дозі більше 40 г/сут (OR = 2,40;  $p = 0,042$ ), наявність хронічного холециститу в анамнезі (OR = 2,94;  $p = 0,013$ ), показувач АЛТ вище 3 верхніх границь норми (OR = 2,49;  $p = 0,031$ ), показувачі АСТ і ГГТП, перевищуючі верхню границю норми (OR = 6,94,  $p < 0,001$  і OR = 4,02;  $p = 0,001$  відповідно), гіпербілірубінемія (OR = 3,13;  $p = 0,010$ ) і носійство в геномі аллелі 11Gln TLR7 (OR = 3,62;  $p = 0,036$ ). Для оптимізації прогнозу швидкого прогресування фіброзу печінки у чоловіків з хронічним гепатитом С запропонована модель, яка продемонструвала статистичну значимість ( $\chi^2 = 44,73$ ;  $p < 0,001$ ) і високі операційні характеристики (чутливість – 76,8 %, специфічність – 74,5 %, загальне число коректних прогнозів – 75,7 %, AUC ROC-кривої – 0,828), що вказує на цілесобразність її практичного застосування.

**Висновки.** Створено ефективну клініко-генетичну прогностичну модель, яка дозволяє з високою точністю прогнозувати ймовірність швидкого прогресування фіброзу печінки у чоловіків з хронічним гепатитом С і формувати групу пацієнтів, які потребують в першочерговому призначенні протівовірусної терапії.

It is widely known that the development of fibrotic changes in the liver is an integral part of the pathogenesis and natural course of chronic hepatitis C [1]. Currently, hepatic fibrosis is considered to be a process when a certain number of external factors interact with a unique combination of host factors, which causes significant differences in the course of chronic hepatitis C. There are virus factors (genotype and HCV quasi species, viral load level), host factors (duration of disease, age over 40 years at the time of infection, male gender, co-infection with hepatitis B virus and/or HIV, metabolic disorders – insulin resistance, hepatic steatosis, type II diabetes mellitus, iron metabolism disorders, etc.), as well as external (alcohol abuse, effect of toxins and, in particular, drugs, tobacco smoking and/or cannabinol derivatives) among the factors affecting the rate of hepatic fibrosis progression in chronic hepatitis C [1–4].

Recently, the attention of the researchers has been drawn to the search for genetic determinants that affect the rate of hepatic fibrosis progression in chronic hepatitis C, in particular, the TLR7 gene, which triggers the effector mechanisms of innate immunity and also it effectively regulates the production of IFN Type I which, for its turn, has an antifibrotic effect [5–9]. Conversely, the Gln11Leu polymorphism of the TLR7 gene encodes functionally inferior proteins and is able to reduce the production of IFN- $\alpha$ , thereby disrupting the adaptive immune response, which is realized through the TLR7-dependent signaling pathway [5, 7, 10, 11].

Considering the fact that chronic hepatitis C is detected more often in males, the rate of hepatic fibrosis progression is gender dependent, as well as the availability of data on the influence of the polymorphic 11Leu allele of the TLR7 gene on this process [12–16], scientific and practical interest represents the search for clinical genetic predictors and the creation of a prognostic model for the rapid hepatic fibrosis progression in men.

### The aim of the research

To determine clinical and genetic predictors and to create a prognostic model for the rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C.

### Materials and methods

To achieve this goal, a cross-sectional study was conducted, which included 111 male patients with chronic hepatitis C, aged 23 to 62 years, median ( $Me$ ) = 39.0 (34.0–46.0). All patients were treated in Poltava regional clinical hospital of infectious diseases in 2011–2018. A comprehensive clinical and laboratory examination, which was carried out according to the informed consent of the patients, was conducted on the basis of this medical institution and in commercial laboratories.

The criterion for inclusion into the study was the established diagnosis of chronic hepatitis C, which was guided by the international classification of diseases of the 10<sup>th</sup> revision and the international classification of liver diseases (Los Angeles, 1994). The diagnosis was verified by the detection of specific serological markers of HCV by the method of ELISA with the obligatory detection of HCV RNA in the blood serum by PCR method in real time with genotyping and viral load detection, high counted viremia higher than  $4.0 \cdot 10^5$  IU/ml [1]. Exclusion criteria – co-infection with other hepatotropic viruses and/or HIV, decompensated somatic diseases, oncopathology.

The patient examination program included: assessment of complaints and anamnestic data, physical examination, complete blood count, determination of biochemical parameters of blood serum, characterizing the functional state of the liver – alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase, total bilirubin, gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase and the stages of hepatic fibrosis according to METAVIR. Genetic studies were also conducted, the purpose of which was to identify carriers in the genome of the examined male alleles 11Gln (normal) or 11Leu (polymorphic) of TLR7 gene. The frequency of concomitant pathology was established based on the results of anamnesis analysis, outpatient cards, objective examination followed by in-depth clinical and laboratory and instrumental examination, findings of specialists in related specialties.

The duration of HCV infection was determined by the results of anamnestic data analysis (indication of the transferred icteric form of acute hepatitis C, transfusion of blood and its components prior to mandatory screening of donors, initiation of systemic injecting drug

use), in the absence of the anamnesis of these facts – on the basis of clinical and laboratory data (the first detection of antibodies to HCV and/or hepatic transaminases elevation the upper limit of normal (ULN), reflected in outpatient cards).

Biochemical studies were carried out on the automatic biochemical analyzer GBG STAT FAX-1904 (Japan) with Human reagents (Germany).

The hepatic fibrosis stage was assessed on the METAVIR scale using the transient elastometry of shear waves of the liver on the ultrasound scanning device “Ultima PA-Expert” (Ukraine). The rate of hepatic fibrosis progression was calculated by T. Poniard’s formula by dividing the stage of hepatic fibrosis by METAVIR for the time, for which it was formed, and measured in units per year (units/year) [3].

The gene TLR7 was genotyped by real-time allele-specific PCR on the “DT Lite” amplifier (“NPO DNA-Technology”, LLC, RF) on the basis of the Research Institute for Genetics and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetics of Ukrainian Medical Stomatological Academy.

Statistical processing of the findings was carried out using the Stata software version 11.0 (StataCorp, College Station, TX, USA, serial number 71606281563). The verification of the normality of the data distribution was analyzed by the Kolmogorov-Smirnov criterion. To determine the central trend, the value of the median with the upper and lower quartiles was used. The probability of differences in quality indicators was determined by analyzing contingency tables using Fisher’s exact test and  $\chi^2$  test, depending on the conditions of the analysis. To create a prognostic model, 30 indicators ranked in the nominal scale were considered as potential predictors of the rapid hepatic fibrosis progression (1 – sign, 0 – none). The influence of each was estimated by the method of simple logistic regression with the calculation of the odds ratio (OR) and its 95 % confidence interval [95 % CI]. Predictors with a significance level of  $P < 0.05$  were included in a systematic multiple logistic regression analysis, which resulted in a clinical prognostic model of the rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C. In general, the model assumes that the dependent variable (rapid progression of hepatic fibrosis) is associated with predictors in accordance with the following formula:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-y}}$$

where  $P$  – is the probability of an error-free prognosis;  $e$  – is a mathematical constant, which is equal to 2.72;  $y = \alpha + B_1 \cdot X_1 + B_2 \cdot X_2 + \dots + B_n \cdot X_n$ ;  $\alpha$  – is the constant of the regression equation;  $B_1, \dots, B_n$  – regression coefficients for independent variables;  $X_1, \dots, X_n$  – independent variables included in the model.

The statistical significance of the obtained model was determined by the  $\chi^2$  criterion, the evaluation of diagnostic power – using the analysis of the operating characteristics of diagnostic tests (ROC), which included calculations of sensitivity, specificity, the total number of correct predictions and the construction of the ROC-curve with the definition of the area under it (AUC). The delimitation point, according to generally accepted criteria, was taken

**Table 1.** Comparative characteristics of the examined male patients with chronic hepatitis C, abs. number (%)

Characteristics	Patients with chronic hepatitis C		P
	Rapid hepatic fibrosis progression, n = 56	Slow hepatic fibrosis progression, n = 55	
1 genotype of HCV	36 (64.3)	28 (50.9)	0.154
High viral load	32 (57.1)	23 (58.2)	0.912
Age older 40	29 (51.8)	23 (41.8)	0.239
Type II diabetes mellitus	5 (8.9)	1 (1.8)	0.206
Ethanol use in a dose of more than 40 g/day	21 (37.5)	11 (20.0)	0.042
Tobacco smoking	16 (28.6)	23 (41.8)	0.144
Smoking cannabiol derivatives	11 (20.0)	5 (9.1)	0.175
Intravenous drug abuse	5 (8.9)	2 (3.6)	0.437
Overweight, BMI $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup>	10 (17.9)	6 (10.9)	0.419
Carrier state of the 11Leu TLR7 allele	4 (7.1)	12 (21.8)	0.033

**P:** is the significance level obtained using the Fisher’s exact test and the  $\chi^2$  criterion, depending on the analysis conditions.

as threshold value  $P = 0.5$  in which the sensitivity and specificity of the model were optimal ( $P > 0.5$  is considered as a positive prognosis of the event – risk group). Differences were considered significant at the level of  $P < 0.05$ .

## Results

The study found that the examined men with chronic hepatitis C had various stages of hepatic fibrosis, without predominance of any of them. Thus, there were 7 patients (6.3 %) without fibrosis, 19 (17.1 %) with  $F_1$  stages,  $F_2$  – 33 (29.7 %),  $F_3$  – 23 (20.7 %) and  $F_4$  – 29 (26.1 %). By the duration of HCV infection, the patients were divided as follows: less than 5 years – 39 (35.1 %), from 5 to 10 – 24 (21.6 %) and more than 10 – 48 (43.3 %). Based on the obtained data, the median rate of hepatic fibrosis progression was determined and amounted to 0.222 (0.125–1.000) units/year. Depending on the rate of hepatic fibrosis progression, patients with rapid (fibrosis progression rate  $\geq 0.222$  units/year) – 56 (50.5 %) and slow (fibrosis progression rate  $< 0.222$  units/year) hepatic fibrosis progression – 55 (49.5 %) were identified.

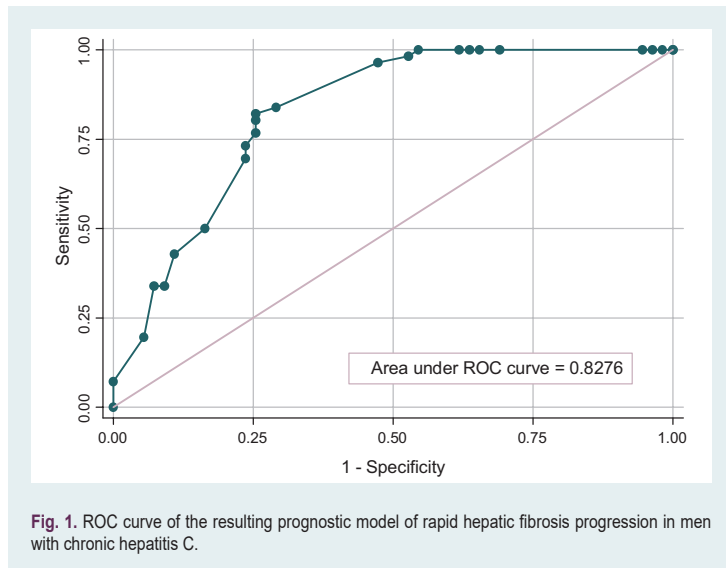
Further, the main characteristics of the examined men with rapid and slow progression of hepatic fibrosis were analyzed, taking into account the well-known risk factors affecting this process and genetic markers (Table 1).

According to the data presented in table 1, alcohol abuse – 37.5 % (with slow hepatic fibrosis progression – 20.0 %,  $P = 0.041$ ) and carrier state of the 11Leu TLR7 allele – 7.1 % (with slow hepatic fibrosis progression – 21.8 %,  $P = 0.033$ ) were significantly more frequent identified among patients with a rapid hepatic fibrosis progression. No statistically significant differences were found for the remaining characteristics.

Further, a simple logistic regression analysis was carried out for 30 indicators (data of general clinical, biochemical and molecular-genetic tests), as a result of the study we have determined that significant predictors of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C are: ethanol use in a dose of more than 40 g/day (OR = 2.40 [95 % CI 1.02–5.63],  $P = 0.042$ ), presence of chronic cholecystitis in past history (OR = 2.94 [95 % CI

**Table 2.** Resulting prognostic model of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C

Predictors	B	$\chi^2$ Wald	P	OR	95 % CI
Carrier state of allele 11Gln TLR7	1.97	7.02	0.008	7.23	1.67–31.28
AST level above ULN	2.22	12.41	<0.001	9.25	2.68–31.87
GGT level above ULN	1.10	5.17	0.023	3.02	1.16–7.83
Hyperbilirubinemia	1.58	7.69	0.006	4.88	1.59–14.96
Ethanol use in a dose of more than 40 g/day	1.18	4.87	0.027	3.28	1.14–9.42
Constant ( $\alpha$ )	-4.67	19.81	<0.001		



**Fig. 1.** ROC curve of the resulting prognostic model of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C.

1.25–6.87],  $P = 0.013$ ), ALT level above 3 ULN (OR = 2.49 [95 % CI 1.08–5.74],  $P = 0.031$ ), the levels of AST and GGT elevation above ULN (OR = 6.94 [95 % CI 2.55–18.86],  $P < 0.001$  and OR = 4.02 [95 % CI 1.82–8.87],  $P = 0.001$  respectively), hyperbilirubinemia (OR = 3.13 [95 % CI 1.31–7.46],  $P = 0.010$ ) and carrier state of allele 11Gln of TLR7 gene in the genome (OR = 3.62 [95 % CI 1.09–12.06],  $P = 0.036$ ). All of them were included in the systematic multiple logistic regression analysis, which resulted in a statistically significant predictive model ( $\chi^2 = 44.73$ ;  $P < 0.001$ ) of 5 predictors (Table 2).

The conducted ROC analysis determined the high operational characteristics of the model: sensitivity – 76.8 %, specificity – 74.5 %, the total number of correct predictions – 75.7 %. The AUC of the ROC-curve model was 0.828, which, according to the generally accepted expert scale, indicates “very good” predictive ability and proves its effectiveness for practical use (Fig. 1).

The proposed prognostic model assumes that after entering the numerical values of the regression coefficients in the appropriate formula, the probability ( $P$ ) of assigning the patient to the risk group of the rapid hepatic fibrosis progression can be calculated as follows:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(4.67 + 1.97 \cdot X_1 + 2.22 \cdot X_2 + 1.1 \cdot X_3 + 1.58 \cdot X_4 + 1.18 \cdot X_5)}}$$

where: -4.67 – is the constant of the regression equation;  $X_1$  – carrier state of allele 11Gln TLR7,  $X_2$  – ethanol use in a dose more than 40 g/day,  $X_3$  – AST level above ULN,  $X_4$  – GGT level above ULN,  $X_5$  – hyperbilirubinemia (if there is a predictor, the number 1 is added, if it is absent – 0).

Here is an example of calculation for a patient with the presence of all the specified predictors:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(4.67 + 1.97 \cdot 1 + 2.22 \cdot 1 + 1.1 \cdot 1 + 1.58 \cdot 1 + 1.18 \cdot 1)}} = 0.970$$

Thus, in this case, the probability of rapid hepatic fibrosis progression is 97.0 %.

## Discussion

Nowadays, hepatic fibrosis is considered as a process when a number of extraneous factors interact with a unique combination of the host's ones and causes significant differences in a natural course of chronic hepatitis C. Progression of the disease into cirrhosis occurs over several decades, on average – 20–30 years from the time of infection [1]. The prognosis of chronic hepatitis C is based on the idea of the rate of hepatic fibrosis progression, which is proposed to be calculated by dividing the stage of hepatic fibrosis (in units) by the duration of the disease (in years) from the moment of infection to the study. Such calculations that indicate the stability of the rate of hepatic fibrosis progression are the basis for predicting the period of cirrhosis formation. Summarizing the data of a large-scale study, T. Poynard (1997) identified three options for the progression of fibrosis, each of which is observed in about a third of patients with chronic hepatitis C: rapid (cirrhosis develops within 20 years after HCV-infection), average (cirrhosis develops in 30 years after HCV-infection) and slow rate (cirrhosis develops in more than 50 years) [3]. But a number of other researchers divide this process exclusively into rapid and slow [17–20]. The rate of hepatic fibrosis progression is the main characteristic of the patient since the patients with the rapid progression of fibrosis to cirrhosis are the first candidates for antiviral therapy of chronic hepatitis C. Along with universally recognized risk factors that have an influence on the rate of hepatic fibrosis progression, significant role belongs to genetic markers. Comparison of genetic studies with clinical materials demonstrated the existence of a significant effect of the genetic polymorphism on this process in patients with chronic hepatitis C, however, the analysis of the complex impact of clinical data and genetic polymorphism was carried out in only a few works [2, 13, 17, 20–23].

As a result of our study we have created the prognostic model of the rapid progression of hepatic fibrosis in men with chronic hepatitis C. The predictors included in the model are consistent with data from the scientific literature. Thus, the study confirmed the well-known fact of influence on the rate of hepatic fibrosis progression of such a factor as alcohol abuse [1,3]. There are no doubts about the data on the influence of increased levels of such functional indicators as AST, GGT and total bilirubin, because they are non-direct biochemical markers of fibrogenesis – they indicate activity of inflammation in liver tissues and disruption of its synthetic function and allow indirectly estimate a hepatic fibrosis stage [24–25]. To date, studies of the influence of TLR7 gene Gln11Leu polymorphism on the rate of hepatic fibrosis progression are limited. The results of our study are in line with a number of scientific studies [12, 13, 15, 16], but they contradict the data of F. Z. Fakhir (2018), who describes

the 11Leu allele as a profibrogenic factor, and E. Ascar (2010), who denies the influence of this polymorphism on fibrogenesis in chronic hepatitis C [10,14].

The use of the proposed clinical and genetic prognostic model allows predicting the probability of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C with high accuracy and forming a group of patients who need to receive antiviral therapy in the first place on the basis of simple characteristics, most of which are used in a routine clinical practice.

## Conclusions

1. Informative predictors of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C are: ethanol use in a dose of more than 40 g/day (OR = 2.40 [95 % CI 1.02–5.63],  $P = 0.042$ ), presence of chronic cholecystitis in past history (OR = 2.94 [95 % CI 1.25–6.87],  $P = 0.013$ ), ALT level above 3 ULN (OR = 2.49 [95 % CI 1.08–5.74],  $P = 0.031$ ), the levels of AST and GGT exceeding ULN (OR = 6.94 [95 % CI 2.55–18.86],  $P < 0.001$  and OR = 4.02 [95 % CI 1.82–8.87],  $P = 0.001$  respectively), hyperbilirubinemia (OR = 3.13 [95 % CI 1.31–7.46],  $P = 0.010$ ) and carrier state of allele 11Gln of TLR7 gene in the genome (OR = 3.62 [95 % CI 1.09–12.06],  $P = 0.036$ ).

2. In order to optimize the prognosis of rapid hepatic fibrosis progression in men with chronic hepatitis C a model that demonstrated statistical significance ( $\chi^2 = 44.73$ ,  $P < 0.001$ ) and high operational characteristics (sensitivity – 76.8 %, specificity – 74.5 %, the total number of correct predictions – 75.7 %, AUC of the ROC curve – 0.828), which indicates the feasibility of its practical use, was proposed.

**Prospects for further research** are to study the pathogenetic mechanisms of the influence of the TLR7 gene on the course of chronic hepatitis C.

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

Надійшла до редакції / Received: 08.11.2018  
Після доопрацювання / Revised: 13.11.2018  
Прийнято до друку / Accepted: 26.11.2018

## Information about authors:

Koval T. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.  
ORCID ID: 0000-0003-2685-8665  
Syzova L. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.  
ORCID ID: 0000-0002-8335-3295  
Dubynska H. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.  
ORCID ID: 0000-0003-0950-8997  
Pryimenko N. O., MD, PhD, Associated Professor of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.  
ORCID ID: 0000-0002-8265-1143  
Rudenko S. S., MD, PhD, Assistant of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.  
ORCID ID: 0000-0002-9497-6703

## Відомості про авторів:

Коваль Т. І., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.  
Сизова Л. М., канд. мед. наук, асистент каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.  
Дубинська Г. М., д-р мед. наук, професор каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.  
Прийменко Н. О., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.  
Руденко С. С., канд. мед. наук, асистент каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

## Сведения об авторах:

Коваль Т. И., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.  
Сизова Л. М., канд. мед. наук, ассистент каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.  
Дубинская Г. М., д-р мед. наук, профессор каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.  
Прийменко Н. О., канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.  
Руденко С. С., канд. мед. наук, ассистент каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

## References

- [1] EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection (2014). *J Hepatol.*, 60, 392–420.
- [2] Musin, A. G., Mutalova, E. G., Nigmatullina, A. E., Konstantinova, E. E., Musina, F. S., & Nasibullin, I. M. (2014). Sovremennye aspekty mekhanizmov fibrogezeza v pečeni [Modern aspects of liver fibrogenesis mechanisms]. *Medicinskij vestnik Bashkortostana*, 9(3), 95–99. [in Russian].
- [3] Poynard, T., Bedossa, P., & Opolon, P. (1997). Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOS-VIRC groups. *Lancet*, 349(9055), 825–832.
- [4] Sebastiani, G., Gkouvatso, K., & Pantopoulos, K. (2014). Chronic hepatitis C and liver fibrosis. *World journal of gastroenterology: WJG.*, 20(32), 11033–11053. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11033
- [5] Howell, J., Angus, P., Gow, P., & Visvanathan, K. (2013). Toll-like receptors in hepatitis C infection: Implications for pathogenesis and treatment. *J Gastroenterol Hepatol.*, 28(5), 766–776. doi: 10.1111/jgh.12170
- [6] Kawai, T., & Akira, S. (2013). Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*, 34(5), 637–650. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006
- [7] Roh, Y. S., Park, S., Kim J. W., Lim, C. W., Seki, E., & Kim, B. (2014). Toll-like receptor 7-mediated type I interferon signaling prevents cholestasis- and hepatotoxin-induced liver fibrosis. *Hepatology*, 60(1), 237–249. doi: 10.1002/hep.26981
- [8] Sasai, M., & Yamamoto, M. (2013). Pathogen recognition receptors: ligands and signaling pathways by Toll-like receptors. *Int Rev Immunol.*, 3(2), 116–133. doi: 10.3109/08830185.2013.774391
- [9] Xu, Y., & Zhong, J. (2016). Innate immunity against hepatitis C virus. *Curr Opin Immunol.*, 42, 98–104. doi: 10.1016/j.coi.2016.06.009
- [10] Askar, E., Ramadori, G., & Mihm, S. (2010). Toll-like receptor 7 rs179008/Gln11Leu gene variants in chronic hepatitis C virus infection. *J Med Virol.*, 82(11), 1859–1868. doi: 10.1002/jmv.21893
- [11] Bordignon, M., Bargagli, E., Agostini, C., Cinetto, F., Baldo, V., Alai-bac, M., et al. (2013). TLR7 Gln11Leu single nucleotide polymorphism in patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.*, 30(2), 157–161.
- [12] Dubinskaya, G. M., Sizova, L. M., Koval, T. I., & Izyumskaya, E. M. (2016). Vplyv polimorfizmu henv TLR4 ta TLR7 na shvydkist prohreshuvannya fibrozu pechinky u khvorykh na khronichnyi hepatyt C [The influence of TLR4 and TLR7 gene polymorphisms on the rate of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C]. *Hepatologia*, 1(31), 23–32. [in Ukrainian].

- [13] Dubinskaya, G., Sizova, L., Koval, T., Kovalyova, E., & Kaydashv, I. (2016). Clinical and genetic predictors and prognostic model of rapidly progressive hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *Georgian Med News*, 7–8(256–257), 37–45.
- [14] Fakhir, F. Z., Lkhider, M., Badre, W., Alaoui, R., Meurs, E. F., Pineau, P., et al. (2018). Genetic variations in toll-like receptors 7 and 8 modulate natural hepatitis C outcomes and liver disease progression. *Liver Int.*, 38(3), 432–442. doi: 10.1111/liv.13533
- [15] Schott, E., Witt, H., Neumann, K., Taube, S., Oh, D. Y., Schreier, E., et al. (2007). A toll-like receptor 7 single nucleotide polymorphism protects from advanced inflammation and fibrosis in male patients with chronic HCV-infection. *J Hepatol.*, 47(2), 203–211. doi: 10.1016/j.jhep.2007.03.021
- [16] Koval, T., Dubinskaya, G., & Sizova, L. (2017). Prognozirovanie skorosti razvitiya fibroza pecheni pri khronicheskom gepatite C u VICH-inficirovannykh pacientov [Prognosis of rapidly progressive hepatic fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C]. *Klinicheskaya infek-tologiya i parazitologiya*, 3, 344–345. [in Russian].
- [17] Taratina, O. V., Samokhodskaya, L. M., Krasnova, T. N., & Mukhin, N. A. (2017). Prognozirovanie skorosti razvitiya fibroza pecheni u bolnykh khronicheskim gepatitom C na osnove kombinatsii geneticheskikh i sredovykh faktorov [Predicting the rate of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection based on the combination of genetic and environmental factors]. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*, 45(5), 392–407. doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-5-392-407 [in Russian].
- [18] Schekotova, A. P., Bulatova, I. A., Schekotov, V. V., & Titov, V. N. (2016). Laboratornaya ocenka dinamiki progressirovaniya fibroza pecheni pri khronicheskom gepatite [The laboratory evaluation of dynamics of progression of liver fibrosis under chronic hepatitis]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 61(10), 686–689. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-10-686-689 [in Russian].
- [19] Trépo, E., Pradat, P., Potthoff, A., Momozawa, Y., Quertinmont, E., Gustot, T., et al. (2011). Impact of patatin-like phospholipase-3 (rs738409C>G) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 54(1), 60–69. doi: 10.1002/hep.24350
- [20] Rüeger, S., Bochud, P. Y., Dufour, J. F., Müllhaupt, B., Semela, D., Heim, M. H., et al. (2015). Impact of common risk factors of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*, 64(10), 1605–1615. doi: 10.1136/gutjnl-2014-306997
- [21] Romero-Gomez, M., Eslam, M., Ruiz, A., & Maraver, M. (2011). Genes and hepatitis C: susceptibility, fibrosis progression and response to treatment. *Liver Int.*, 31(4), 443–460. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02449.x
- [22] Fontana, R. J., Litman, H. J., Dienstag, J. L., Bonkovsky, H. L., Su, G., Sterling, R. K., et al. (2012). YKL-40 genetic polymorphisms and the risk of liver disease progression in patients with advanced fibrosis due to chronic hepatitis C. *Liver Int.*, 32(4), 665–674. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02686.x
- [23] do O, N. T., Eurich, D., Schmitz, P., Schmeding, M., Heidenhain, C., Bahra, M., et al. (2012). A 7-gene signature of the recipient predicts the progression of fibrosis after liver transplantation for hepatitis C virus infection. *Liver Transpl.*, 18(3), 298–304. doi: 10.1002/lt.22475
- [24] Sheptulina, A. F., Shirokova, Ye. N., & Ivashkin, V. T. (2015). Neinvazivnaya diagnostika fibroza pecheni: rol' syvorotochnykh markerov [Non-invasive of liver fibrosis diagnostics: the role of serum markers]. *Rossiyskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*, 2, 28–40. [in Russian].
- [25] Gudowska, M., Wojtowicz, E., Cylwik, B., Gruszewska, E., & Chrostek, L. (2015). The distribution of liver steatosis, fibrosis, steato-hepatitis and inflammation activity in alcoholics according to FibroMax Test. *Adv Clin Exp Med.*, 24(5), 823–827. doi: 10.17219/acem/28485

## Результати експериментального моделювання післяопераційних перитонеальних спайок

М. Г. Мельниченко<sup>\*A,C,E,F</sup>, В. О. Ситнікова<sup>C,E</sup>, А. А. Квашніна<sup>B,C,D</sup>

Одеський національний медичний університет, Україна

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

**Мета роботи** – оптимізація моделювання післяопераційних інтраабдомінальних спайок.

**Матеріали та методи.** Об'єкт дослідження – 17 статевозрілих щурів лінії Вістар обох статей і масою 200–250 г. Експериментальне моделювання післяопераційних інтраабдомінальних спайок виконали в асептичних умовах (1 серія, 11 тварин) і в умовах перитоніту (2 серія, 6 тварин).

**Результати.** Для кількісного оцінювання спайкового процесу використали шкалу бального оцінювання Matoba для аналізу моделей із залученням *saesmit*: середній бал спайкового процесу в 1 групі становив 4,90 (3,00; 6,00), в умовах перитоніту – 4,83 (2,00; 7,00). Формування інтраперитонеального спайкового процесу досягнуто в усіх піддослідних тварин (100 %). Формування зрощень між *saesmit* і червовою стінкою визначили у 66,7 % випадків.

**Висновки.** Для експериментального відтворення інтраабдомінальних спайок в асептичних умовах доцільно використовувати спосіб моделювання шляхом абразії серозного покриву *saesmit* цервікальною щіточкою в напрямі вздовж кишки до появи точкових крововиливів у вигляді «кров'яної роси» та пошкодження парієтальної очеревини в нижніх квадрантах, що забезпечує розвиток адгезивного інтраабдомінального процесу в усіх піддослідних тварин. Для експериментального відтворення інтраабдомінальних спайок в умовах перитоніту за 20 годин до описаного способу моделювання доцільно внутрішньоочеревинне введення 2 мл суспензії фекалій у фізіологічному розчині хлориду натрію, що забезпечує розвиток адгезивного інтраабдомінального процесу в умовах фібринозно-гнійного перитоніту в усіх піддослідних тварин. Дані, що одержали, дали змогу вважати розроблені моделі адекватними для проведення надалі експериментальних досліджень для вивчення інтраабдомінальної профілактики спайкоутворення в умовах інфікування та в асептичних умовах.

**Ключові слова:**

експерименти на тваринах, післяопераційні перитонеальні спайки.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 39–44

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2019.1.166220

**\*E-mail:**  
marina\_gm@i.ua

## Результаты экспериментального моделирования послеоперационных перитонеальных спаек

М. Г. Мельниченко, В. О. Ситникова, А. А. Квашнина

**Цель работы** – оптимизация моделирования послеоперационных интраабдоминальных спаек.

**Материалы и методы.** Объект исследования – 17 половозрелых крыс линии Вистар обоих полов и массой 200–250 г. Экспериментальное моделирование послеоперационных интраабдоминальных спаек проведено в асептических условиях (1 серия, 11 животных) и в условиях перитонита (2 серия, 6 животных).

**Результаты.** Для количественной оценки спаечного процесса использована шкала балльной оценки Matoba для анализа моделей с повреждением *saesmit*: средний балл спаечного процесса в 1 группе составил 4,90 (3,00; 6,00), в условиях перитонита – 4,83 (2,00; 7,00). Формирование интраперитонеального спаечного процесса достигнуто у всех подопытных животных (100 %). Формирование сращений между *saesmit* и брюшной стенкой отмечено в 66,7 % случаев.

**Выводы.** Для экспериментального воспроизведения интраабдоминальных спаек в асептических условиях целесообразно использовать способ моделирования путем абразии серозного покрова *saesmit* цервикальной щеточкой в направлении вдоль кишки до появления точечных кровоизлияний в виде «кровяной росы» и повреждения парієтальної брюшини в нижних квадрантах, что обеспечивает развитие адгезивного интраабдоминального процесса у всех подопытных животных. Для экспериментального воспроизведения интраабдоминальных спаек в условиях перитонита за 20 часов до описанного способа моделирования целесообразно внутривнутрибрюшинное введение 2 мл суспензии фекалий в физиологическом растворе хлорида натрия, которая обеспечивает развитие адгезивного интраабдоминального процесса в условиях фибринозно-гнойного перитонита у всех подопытных животных. Полученные данные позволили считать разработанные модели адекватными для дальнейшего проведения экспериментальных исследований с целью изучения интраабдоминальной профилактики спайкообразования в условиях инфицирования и в асептических условиях.

**Ключевые слова:**

эксперименты на животных, послеоперационные перитонеальные спайки.

**Патология.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 39–44

## Results of experimental modeling of postoperative peritoneal adhesions

M. H. Melnychenko, V. O. Sytnikova, A. A. Kvashnina

**Objective.** Optimization of postoperative intraabdominal adhesions modeling.

**Key words:**  
animal  
experimentation,  
tissue adhesions.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 39–44

**Material and methods.** The objects of the study were 17 mature rats of the Wistar line of both sexes weighing 200–250 g. Experimental modeling of postoperative intraabdominal adhesions was carried out under aseptic conditions (the 1<sup>st</sup> series, 11 animals) and in peritonitis conditions (the 2<sup>nd</sup> series, 6 animals).

**Results.** We have used the Matoba score scale for the quantitative assessment of the adhesion process, as well as to analyze the models with the involvement of the cecum: the average score of the adhesion process in the 1<sup>st</sup> group was 4.90 (3.00; 6.00), in the peritonitis conditions – 4.83 (2.00; 7.00). Formation of the intraperitoneal adhesion process was achieved in all experimental animals (100%). Formation of adhesions between the cecum and the abdominal wall was noted in 66.7% of cases.

**Conclusions.** For the experimental reproduction of intraabdominal adhesions in aseptic conditions, it is advisable to use a method of simulation by abrasions of the serous cover of *cecum* with a cervical brush along the intestine till the appearance of spot hemorrhages in the form of “blood dew” and damage to the parietal peritoneum in the lower quadrants, which provides the development of adhesive intraabdominal process in all experimental animals. For experimental reproduction of intraabdominal adhesions in peritonitis it is expedient for 20 hours prior to the above-described method of modeling to complete an intraperitoneal injection of 2 ml of fecal suspension into a physiological solution of sodium chloride, which provides the development of an adhesive intra-abdominal process under conditions of fibrinous purulent peritonitis in all experimental animals. The obtained data allowed to consider the developed models to be adequate for further experimental research with the aim of studying intraabdominal prophylaxis of adhesion formation under conditions of infection and in aseptic conditions.

Враховуючи недосконалість наявних заходів профілактики післяопераційного спайкоутворення та суперечливі дані фахової літератури щодо інтраопераційних заходів профілактики адгезіогенезу під час лікування дітей із запальними хірургічними захворюваннями органів черевної порожнини, вирішили дослідити розвиток інтраабдомінальних спайок в експерименті.

У фаховій літературі запропонована велика кількість варіантів тваринних моделей для вивчення процесу формування післяопераційних спайок. Більшість із них засновані на травматизації мезотелію різними механічними, фізичними чи хімічними факторами, адже це є доведеною первинною ланкою в патогенезі спайкоутворення [1,3,5,7,8]. Запропонували також методики ініціювання адгезіогенезу під дією патогенетичних факторів бактерій при введенні фекалій у черевну порожнину, культур мікроорганізмів чи гнійного ексудату [2,3].

Однак опис методик не завжди достатньо детальний, показники відтворюваності моделі наведені не в усіх публікаціях, чинники, що використовуються для провокування спайкоутворення, не завжди трапляються в реальних клінічних ситуаціях. У сучасних публікаціях найширше описують досвід застосування способу провокування утворення зрощень шляхом травматизації ділянок парієтальної та вісцеральної очеревини. Як травмувальний агент автори пропонують скальпель, суху стерильну марлю [1], накладання гемостатичного затискача [4], скарифікатор [3], висічення певної ділянки парієтальної очеревини з ушиванням дефекту вузловими швами [8], формування «ішемічних кнопок» за допомогою захоплення ділянок парієтальної очеревини пінцетом і перев'язування основи ділянок, що утворилися, вікриловою ниткою [4], пошкодження очеревини за допомогою біполярної коагуляції з чи без наступного ушивання дефекту [6,8].

Однак жодна модель не є загальноприйнятим способом моделювання спайкового процесу, що робить неможливим порівняння результатів досліджень, які здійснені різними вченими. Розробляючи метод моделювання, надавали перевагу використанню факторів, які наявні при хірургічних втручаннях, можуть бути стандартизовані та відтворені в експериментальних

умовах. Модель має бути технічно простою та демонструвати високий показник відтворюваності.

## Мета роботи

Оптимізація моделювання післяопераційних інтраабдомінальних спайок.

## Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – 17 статевозрілих щурів лінії Вістар обох статей і масою 200–250 г. Підготовку тварин, усі інвазивні втручання, знеболювання та виведення з досліду здійснювали, дотримуючись Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» № 27, ст. 230, від 2006 р. зі змінами, що внесені згідно з Законом № 1759-VI (1759-17) від 15.12.2009, ВВР, 2010, № 9, ст. 76, а також загальними етичними принципами експериментів на тваринах (I Національний конгрес з біоетики, 20.09.2001 р., м. Київ) та Етичним кодексом вченого України (Національна академія наук України, 2009 р.).

Експериментальне моделювання післяопераційних інтраабдомінальних спайок здійснили в асептичних умовах (1 серія) та в умовах перитоніту (2 серія) (табл. 1).

Втручання виконали під загальним знеболенням внутрішньочеревинним введенням розчину тіопенталу натрію з розрахунку 20–25 мг/кг. Операційне поле двічі оброблювали спиртовим розчином хлоргексидину.

Як доступ обрали поперечну лапаротомію у правому нижньому квадранті живота, адже цей доступ забезпечує оптимальний огляд черевної порожнини при невеликому розмірі розрізу (до 1,5–2,0 см), який легко може бути подовжений у випадку технічних складнощів.

В асептичних умовах (1 серія) в рану виводили сліпу кишку, яка в щурів є дуже мобільною. Абразію серозного покриву *saecum* виконали стерильною цервікальною щіточкою в напрямі вздовж кишки до появи точкових крововиливів у вигляді «кров'яної роси». Також пошкоджували парієтальну очеревину в нижніх квадрантах, адже для формування спайок необхідний контакт двох пошкоджених серозних поверхонь. Лапаротому рану ушивали двома рядами



безперервних швів атравматичною ниткою полісорб 4/0. Після туалету рани лінію швів обробляли бриліантовим зеленим і медичним клеєм БФ-6. Після операції за тваринами організували спостереження.

Для відтворення спайок у другій серії експерименту (в умовах перитоніту) за 20 годин до основного етапу створення моделі внутрішньочеревинно вводили 2 мл суспензії фекалій у фізіологічному розчині хлориду натрію (10 мг подрібнених сухих фекалій у 50 мл). Критерії наявності перитоніту: розвиток системної запальної реакції, що проявлялася передусім підвищенням температури тіла, зміною поведінки тварин, здуттям живота та/або наявністю випоту в черевній порожнині. Втручання для провокування спайкоутворення виконали аналогічно першій серії експерименту в асептичних умовах за винятком санації черевної порожнини стерильним фізіологічним розчином з евакуацією рідини за допомогою стерильних серветок, яку здійснили перед зашиванням рани черевної стінки. У післяопераційному періоді тварини отримували протягом 3 днів ін'єкцію цефтріаксону з розрахунку 100 мг/кг.

Макроскопічне оцінювання спайкоутворення також не є стандартизованим, але вираженість післяопераційного спайкового процесу теоретично визначали за критеріями: кількість спайок, їхня щільність, поширеність у різних відділах черевної порожнини, наявність васкуляризації тощо. Ці показники лежать в основі більшості шкал, що використовуються різними дослідниками, однак загальноприйнятої системи немає, методи оцінювання різняться залежно від моделі спайкоутворення, яку було застосовано в дослідженні. Оцінювання інтраабдомінального спайкового процесу здійснили за шкалою Matoba [7], що розроблена для кількісного визначення спайкоутворення в моделях із пошкодженням *saesum* залежно від частки сліпої кишки, що бере участь в утворенні зрощень, щільності утворених спайок, їх поширеності; визначали інтегральний показник. За наявності перитоніту утворення спайок спостерігали та у відділах черевної порожнини, де не виконували абразію мезотелію, ймовірно, внаслідок пошкодження під дією патогенних бактеріальних факторів.

Гістологічне дослідження виконали після виведення тварин з експерименту на 14 добу та макроскопічного оцінювання спайкового процесу. Здійснили вилучення *saesum* конгломератами, що утворилися, або інтактною *saesum* із гістологічним дослідженням отриманих зразків (світлова мікроскопія, забарвлення гематоксилін-еозином і за ван Гізеном).

## Результати

У першій серії експерименту протягом усього періоду післяопераційного спостереження всі тварини були активними, їхня поведінка не відрізнялася від інтактних щурів за винятком двох тварин, які були гіподинамічними та відмовлялися від їжі протягом першої післяопераційної доби. Але наступного дня їхня поведінка не відрізнялася від інших тварин із групи спостереження. У двох тварин діагностували явища часткової кишкової непрохідності на 13–14 добу після втручання – асиметричне здуття живота та відмова від

Таблиця 1. Поділ експериментальних тварин на групи

Назва серії	Контроль
1 серія – моделювання в асептичних умовах	11
2 серія – моделювання в умовах перитоніту	6
Загалом	17

їжі. У 2 серії експерименту у двох тварин встановили здуття живота, відсутність випорожнень кишківника, зменшення рухової активності та об'єму спожитої їжі. Це інтерпретували як явища часткової кишкової непрохідності, що підтверджено після виведення тварин з експерименту під час ревізії черевної порожнини.

Тварин виводили з досліду на 14 добу після втручання шляхом передозування тіопенталу натрію (з розрахунку 100 мг/кг ваги). Процес інтраабдомінального спайкоутворення досліджували макроскопічно та гістологічно. У досліджуваних групах, яким виконували моделювання спайкоутворення в асептичних умовах, всі тварини доживали до запланованого терміну виведення з досліду. Одна тварина загинула під час введення в наркоз у зв'язку з ускладненнями, що пов'язані з анестезією.

Для оцінювання вираженості спайкового процесу черевної порожнини оптимальним повторним доступом визнали U-подібний розріз, який давав змогу отримати доступ до всіх відділів черевної порожнини та гарантовано не пошкодити вісцеропарієтальні спайки, зокрема до післяопераційного рубця.

Явища часткової кишкової непрохідності визначили у двох тварин 1 серії на 13–14 добу після втручання, що проявлялися зміною поведінки, асиметричним здуттям живота; мізерні випорожнення зберігалися в обох тварин. Під час виведення цих тварин з експерименту на 14 добу в одній встановили формування «двостовлки» між сліпою кишкою та дистальною петлею здухвинної, що призводило до інтермітувальної непрохідності (рис. 1), у другій – петля *ileum* завернута на 180° та припаяна із пасмом великого сальника до купола сліпої кишки, яка була залучена у зрощення післяопераційної рани (рис. 2).

Площа, що залучена до спайкового процесу, становить понад 50 % поверхні купола. Привідні петлі тонкої кишки перероздуті. Ішемічні явища не визначили. Пасаж товстою кишкою частково збережений. Переважна локалізація спайкового процесу в ділянці сліпої кишки з формуванням зрощень рідко призводить до виникнення повної кишкової непрохідності та, відповідно, передчасної загибелі тварини.

Макроскопічне оцінювання стану черевної порожнини у 2 серії за наявності перитоніту показало: утворення вісцеропарієтальних спайок відбувалося і в тих відділах черевної порожнини, де не виконували абразію мезотелію, ймовірно, внаслідок пошкодження під дією патогенних бактеріальних факторів (рис. 3).

Даних, що отримали, досить для порівняння кількості, поширеності та якості спайок між групами дослідження. Для кількісного оцінювання спайкового процесу використали шкалу бального оцінювання Matoba [9] для аналізу моделей із залученням *saesum* (табл. 2)

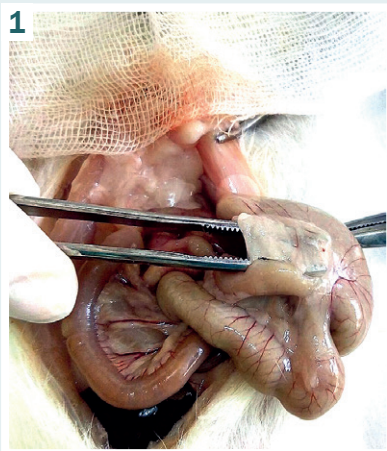


Рис. 1. 1 серія, 14 доба. Формування «двостовки» між сліпою кишкою та дистальною петлею здухвинної кишки.

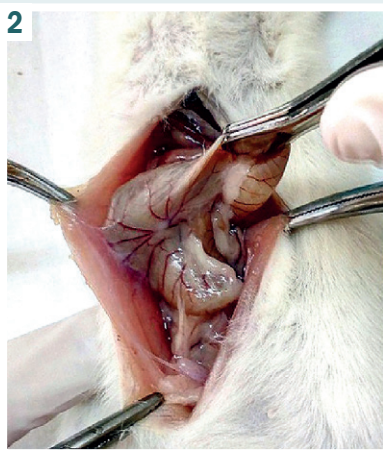


Рис. 2. 1 серія, 14 доба. Петля *ileum* завернута на 180° і припаяна із пасмом великого сальника до купола сліпої кишки та до післяопераційної рани.

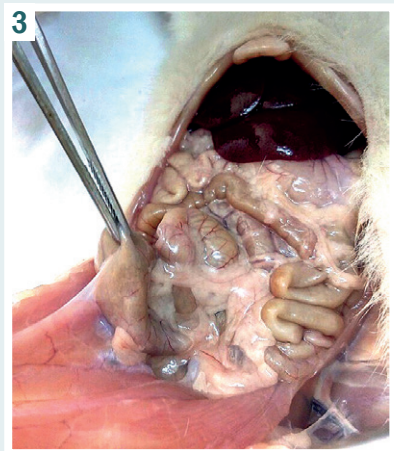


Рис. 3. 2 серія, 14 доба. Вісцеропарієтальні спайки між *saecum* і черевною стінкою.

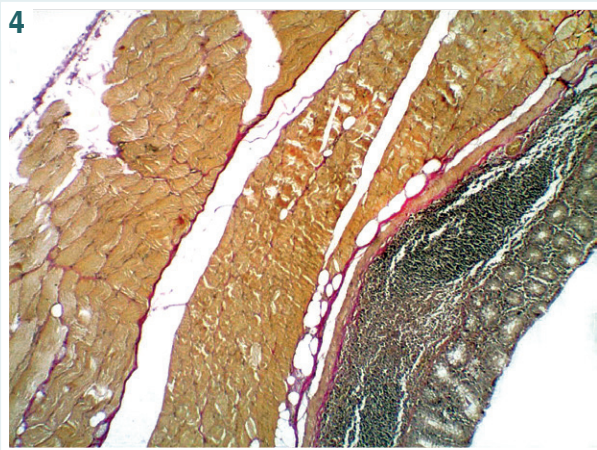


Рис. 4. Фрагмент кишки, що фіксований до черевної стінки. Забарвлення за ван Гізоном. Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 4$ .

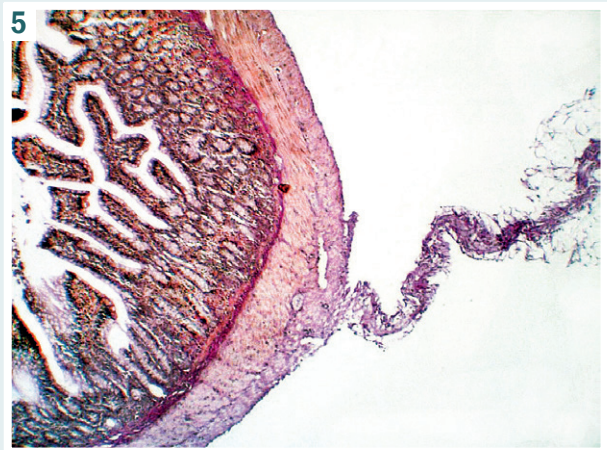


Рис. 5. Спайка з жировою тканиною фіксована до стінки кишки. Забарвлення за ван Гізоном. Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 4$ .

Додатково оцінювали наявність спайок до післяопераційного рубця, наявність випоту в черевній порожнині та ознак кишкової непрохідності.

Результати макроскопічного оцінювання інтраабдомінального спайкового процесу наведені в таблиці 3.

Як видно з наведених у таблиці 3 даних, в усіх тварин досягнуто формування спайкового процесу. Показники спайкового процесу за *Matoba* у 1 серії становили 5 [3; 6], в умовах перитоніту – 6 [5; 6]. Ускладнення з боку операційної рани розвинулись в однієї тварини з 2 серії (підпапоневротичний абсцес), ще в однієї тварини з піддослідної групи сформувалась лігатурна нориця. Випадки розвитку кишкової непрохідності або передчасної загибелі тварин за період спостереження були поодинокими.

Отже, формування інтраперитонеального спайкового процесу досягнуто в усіх піддослідних тварин (100%). Формування зрощень між *saecum* і черевною стінкою виявили у 66,7% випадків.

Після виведення тварин з експерименту на 14 добу

та макроскопічного оцінювання спайкового процесу вилучили *saecum* конгломератами, що утворилися, або інтактну *saecum*, виконали гістологічне дослідження зразків.

Як показало гістологічне дослідження (світлова мікроскопія, забарвлення гематоксилін-еозином і за ван Гізоном), серед тварин 1 і 2 серії *saecum* була фіксована до структур черевної стінки щільною сполучною тканиною (рис. 4). Саме наявність і поширеність цих вісцеропарієтальних спайок є основою оцінювання ефективності спайкоутворення при запропонованому способі моделювання.

Встановлена наявність у 5 випадках вісцеро-вісцеральних спайок між *saecum*, петлями тонкої кишки та сальником. При забарвленні за ван Гізоном у тканинах брижі та по периферії кишки визначали ділянки волокнистої сполучної тканини (рис. 5).

Узагальнюючи результати обох серій експериментального дослідження, можна зробити висновок: запропонований спосіб моделювання інтраабдомі-

нальних спайок шляхом абразії серозного покриття *саесит* цервікальною щіточкою в напрямі вздовж кишки до появи точкових крововиливів у вигляді «кров'яної роси» та пошкодження парієтальної очеревини в нижніх квадрантах забезпечує розвиток адгезивного інтраабдомінального процесу, а внутрішньоочеревинне введення 2 мл суспензії фекалій у фізіологічному розчині хлориду натрію за 20 годин до описаного пошкодження призводить до виникнення фібринозно-гнійного перитоніту з явищами кишкової непрохідності. У всіх спостереженнях було надлишкове інтраабдомінальне спайкоутворення, розвиток якого, на наш погляд, у 1 серії моделювання зумовлений механічним ушкодженням серози, при 2 серії – як інфікуванням, так і травмувальною дією.

## Обговорення

Нині немає універсального способу моделювання інтраабдомінальних спайок в асептичних умовах і в умовах перитоніту. Запропонована в сучасній фаховій літературі кількість варіантів тваринних моделей для вивчення адгезіогенезу не завжди показує хірургічну природу цього процесу, вони мають низьку відтворюваність і є недостатньо описаними [1–8]. Отже, розробляючи метод моделювання, перевагу надавали використанню факторів, що наявні під час хірургічних втручань і можуть бути стандартизовані та відтворені в експериментальних умовах. Запропонована модель є технічно простою, має високий показник відтворюваності: середній бал спайкового процесу за Matoba в 1 серії становив 4,90 (3,00; 6,00), в умовах перитоніту – 4,83 (2,00; 7,00).

Оцінювання інтраабдомінального спайкового процесу за шкалою Matoba [7] дало змогу кількісно визначити спайкоутворення в моделях із пошкодженням *саесит*, їхню щільність і поширеність, а також визначити інтегральний показник. Вважаємо за необхідне наголосити, що моделювання інтраабдомінальних спайок в асептичних умовах і в умовах перитоніту запропонованим способом досягнуто в усіх піддослідних тварин (100%), розвиток якого, ймовірно, зумовлений і механічним ушкодженням серози (1 серія), й інфікуванням (2 серія), що найближче до факторів під час хірургічних втручань.

## Висновки

1. Для експериментального відтворення інтраабдомінальних спайок в асептичних умовах доцільно використовувати спосіб моделювання шляхом абразії серозного покриття *саесит* цервікальною щіточкою в напрямі вздовж кишки до появи точкових крововиливів у вигляді «кров'яної роси» та пошкодження парієтальної очеревини в нижніх квадрантах, що забезпечує розвиток адгезивного інтраабдомінального процесу в усіх піддослідних тварин (середній бал спайкового процесу за Matoba становив 4,90 (3,00; 6,00)).

2. Для експериментального відтворення інтраабдомінальних спайок в умовах перитоніту за 20 годин до описаного способу моделювання доцільне внутрішньоочеревинне введення 2 мл суспензії фе-

**Таблиця 2.** Шкала для оцінювання інтраабдомінального спайкоутворення в експерименті

Категорія та опис	Бал	Кількість випадків	
		1 серія	2 серія
<b>Поширеність зрощень</b>			
Немає залучення	0	–	–
≤25 % обробленої площі	1	1	–
≤50 % обробленої площі	2	3	4
≤75 % обробленої площі	3	7	2
≤100 % обробленої площі	4	–	–
<b>Щільність зрощень</b>			
Немає спайок	0	–	–
Розділяються тракцією	1	2	1
Розділяються тупим шляхом	2	3	1
Розділення потребує <50 % гострої дисекції	3	6	2
Розділення потребує >50 % гострої дисекції	4	–	2

**Таблиця 3.** Результати макроскопічного оцінювання вираженості спайкового процесу (середні значення в балах за шкалою Matoba, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>])

Серія	Matoba			Кількість випадків				
	Поширеність	Щільність	Загальний бал	Парціальна КН	Наявність випоту	Спайки до 1/2 рубця	Ускладнення з боку п/о рани	Летальність протягом періоду спостереження
1 серія, n = 11	3 [3; 3]	3 [2; 3]	5 [3; 6]	2	2	3	0	0
2 серія, n = 6	2,5 [2; 3]	3 [2; 3]	6 [5; 6]	0	6	3	2	1

калій у фізіологічному розчині хлориду натрію, що забезпечує розвиток адгезивного інтраабдомінального процесу в умовах фібринозно-гнійного перитоніту в усіх піддослідних тварин (середній бал спайкового процесу за Matoba – 4,83 (2,00; 7,00)).

**Перспективи подальших досліджень.** Дані дали змогу вважати розроблені моделі адекватними для здійснення надалі експериментальних досліджень для вивчення інтраабдомінальної профілактики спайкоутворення в умовах інфікування та в асептичних умовах.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Одеського національного медичного університету: «Диференційна діагностика та лікування гострих запальних хірургічних захворювань органів грудної та черевної порожнини в дітей» (№ держреєстрації 0111U010166) та НДР «Особливості перебігу хірургічних захворювань у дітей із диспластичним синдромом».

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 08.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.12.2018

Прийнято до друку / Accepted: 17.12.2018

## Відомості про авторів:

Мельниченко М. Г., д-р мед. наук, професор каф. дитячої хірургії, Одеський національний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0000-0001-9066-4801

Ситнікова В. О., д-р мед. наук, професор,  
зав. каф. патоморфології, Одеський національний медичний  
університет, Україна.  
ORCID ID: 0000-0003-2111-669X  
Квашніна А. А., аспірант каф. дитячої хірургії, Одеський  
національний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0000-0003-3704-2047

#### Сведения об авторах:

Мельниченко М. Г., д-р мед. наук, профессор каф. детской  
хирургии, Одесский национальный медицинский университет,  
Украина.  
Ситникова В. А., д-р мед. наук, профессор,  
зав. каф. патоморфологии, Одесский национальный  
медицинский университет, Украина.  
Квашнина А. А., аспирант каф. детской хирургии, Одесский  
национальный медицинский университет, Украина.

#### Information about authors:

Melnychenko M. H., MD, PhD, DSc, Professor of the Department  
of Pediatric Surgery, Odesa National Medical University, Ukraine.  
Sytnikova V. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of  
Pathomorphology Department, Odesa National Medical University,  
Ukraine.  
Kvashnina A. A., Postgraduate Student of the Department of  
Pediatric Surgery, Odesa National Medical University, Ukraine.

#### Список літератури

- [1] Ашурметов Р.И. Моделирование спаечной болезни / Р.И. Ашурметов, А.А. Ризаходжаев // Вопросы медицины: теория и практика: материалы международной заочной научно-практической конференции. (03 декабря 2012 г.). – Новосибирск : СибАК, 2012. – С. 107–110.
- [2] Липатов В.А. Обоснование применения геля метилцеллюлозы для профилактики послеоперационного спаечного процесса брюшной полости (экспериментальное исследование): автореф. диссертации на соискание ученой степени к.мед.н.: 14.00.27 / В.А. Липатов. – Курск, 2004. – 28 с.
- [3] Оценка эффективности различных вариантов моделирования спаечного процесса брюшной полости / А.А. Сопуев, Н.Н. Маматов, К.Е. Овчаренко и др. // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2011. – №3. – С. 327–332.
- [4] Assessment of postoperative adhesion formation in a rat cecum model using different techniques / L. Zeng, S. Yan, W.L. Li, et al. // Pak J Pharm Sci. – 2015. – Vol. 28. – P. 1049–54.
- [5] High Reproducibility of Adhesion Formation in Rat with Meso-Stitch Approximation of Injured Cecum and Abdominal Wall / D. Poehnert, M. Abbas, H. Kreipe, et al. // International Journal of Medical Sciences. – 2015. – №12. – P. 1–6.
- [6] Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? Aratuterine horn model / M. Wallwiener, S. Brucker, H. Hierlemann et al. // Fertility and Sterility. – 2006. – Vol. 86. – Sup. 4. – P. 1266–1276.
- [7] Prevention of Polyglycolic Acid-Induced Peritoneal Adhesions Using Alginate in a Rat Model / M. Matoba, A. Hashimoto, A. Tanzawa, et al. // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – P. 403413.
- [8] Standardised Models for Inducing Experimental Peritoneal Adhesions in Female Rats / B. Kraemer, C. Wallwiener, T.K. Rajab, et al. // BioMed Research International. – 2014. – Vol. 2014. – P. 435056.

#### References

- [1] Ashurmetov, R. I., & Rizakhodzhaev, A. A. (2012). Modelirovanie spaechnoj bolezni [Modeling of adhesive disease]. *Voprosy mediciny: teoriya i praktika*. Proceedings of the International Scientific Practical Conference. (P. 107–110). Novosibirsk. [in Russian].
- [2] Lipatov, V. A. (2004). *Obosnovanie primeneniya gelya metilcellulozy dlya profilaktiki posleoperacionnogo spaechnogo processa bryushnoj polosti* (Avtoref. dis ...kand. med. nauk). [Substantiation of the use of methylcellulose gel for the prevention of postoperative adhesions of the abdominal cavity]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kursk. [in Russian].
- [3] Sopuev, A. A., Mamatov, N. N., Ovcharenko, K. Ye., Umurzakov, O. A., Ibragimov, U. K. (2011). Ocenka e'ffektivnosti razlichnykh variantov modelirovaniya spaechnogo processa bryushnoj polosti [Evaluation of the effectiveness of various options for modeling the adhesion process of the abdominal cavity]. *Aktual'nye problemy gumanitarnykh i yestestvennykh nauk*, 3, 327–332. [in Russian].
- [4] Zeng, L., Yan, S., Li, W. L., Yang, L., Yue, Y. Z., Jiang, C. X., et al. (2015). Assessment of postoperative adhesion formation in a rat cecum

model using different techniques. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 28, 1049–54.

- [5] Poehnert, D., Abbas, M., Kreipe, H., Klempnauer, J., & Winny, M. (2015). High Reproducibility of Adhesion Formation in Rat with Meso-Stitch Approximation of Injured Cecum and Abdominal Wall. *International Journal of Medical Sciences*, 12(1), 1–6. doi: 10.7150/ijms.8870
- [6] Wallwiener, M., Brucker, S., Hierlemann, H., Brochhausen, C., Solomayer, E., & Wallwiener, C. (2006). Innovative barriers for peritoneal adhesion prevention: liquid or solid? A rat uterine horn model. *Fertility And Sterility*, 86(4), 1266–1276. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.05.023
- [7] Matoba, M., Hashimoto, A., Tanzawa, A., Orikasa, T., Ikeda, J., Iwame, Y., et al. (2015). Prevention of Polyglycolic Acid-Induced Peritoneal Adhesions Using Alginate in a Rat Model. *Biomed Research International*, 2015, 403413. doi: 10.1155/2015/403413
- [8] Kraemer, B., Wallwiener, C., Rajab, T., Brochhausen, C., Wallwiener, M., & Rothmund, R. (2014). Standardised Models for Inducing Experimental Peritoneal Adhesions in Female Rats. *Biomed Research International*, 2014, 435056. doi: 10.1155/2014/435056

# Кардиальное ремоделирование в остром периоде Q-инфаркта миокарда, осложненного острой сердечной недостаточностью на фоне гипергликемии

В. Д. Сыволап<sup>A,E</sup>, Н. И. Капшитарь<sup>\*B,C,D</sup>

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

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

**Цель работы** – изучить особенности структурно-геометрической и функциональной перестройки сердца в остром периоде Q-инфаркта миокарда (Q-ИМ), осложненного острой сердечной недостаточностью (ОСН) на фоне гипергликемии (ГГ).

**Материалы и методы.** В исследование включены 139 пациентов в остром периоде Q-ИМ, осложненного ОСН: у 108 больных диагностирована ГГ при поступлении (у 23 установлен СД 2 типа в анамнезе, у 34 – стрессовая ГГ, у 26 – нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), у 25 – впервые выявленный (ВВ) диабет 2 типа), у 31 – нормогликемия. Пациентам определяли уровень гликемии, гликемический профиль (ГП), рассчитывали стандартное отклонение и коэффициент вариации ГП, измеряли структурно-геометрические и функциональные показатели сердца.

**Результаты.** В группе Киллип 2 КСР на 16 % и СДЛА на 29 % больше, а УО на 17 %, УИ на 20 % и ФВЛЖ на 25 % меньше, чем в группе Киллип 1. Размер ЛП на 8 %, ИММЛЖ на 16 %, MVE на 18 %, E/A на 46 % меньше, а ФВЛЖ на 10 % и IVRT на 11 % больше, чем в группе Киллип 3. В группе Киллип 3 размер ЛП на 11 %, КСР на 20 %, ИММЛЖ на 24 %, MVE на 24 %, E/A на 45 % и СДЛА на 39 % выше, а УО на 18 %, ФВЛЖ на 32 % ниже, чем в группе Киллип 1. У пациентов с ГГ при поступлении КДР на 9 %, КСР на 6 %, СДЛА на 18 % больше, а ФВЛЖ на 17 % меньше, чем у пациентов с нормогликемией. В группе стрессовой ГГ КДР на 10 % и КСР на 5 % больше, ФВЛЖ на 15 % ниже, чем в группе нормогликемии. В группе ВВ диабета размер ЛП на 12 % больше, а ФВЛЖ на 20 % ниже, чем в группе нормогликемии. Размер ЛП на 10 %, ТМЖП на 13 % больше, чем в группе стрессовой ГГ. ТМЖП на 13 % больше, чем в группе с НТГ. В группе СД 2 типа в анамнезе размер ЛП на 8 %, КСР на 15 % и СДЛА на 29 % больше, а ФВЛЖ на 19 % меньше, чем в группе нормогликемии. Размер ЛП на 5 % больше, чем в группе стрессовой ГГ. Отмечена достоверная положительная связь уровня ГГ при поступлении с размером ЛП ( $r = +0,23$ ), КСР ( $r = +0,27$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,25$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,23$ ),  $p < 0,05$ . Достоверная положительная связь величины стандартного отклонения ГП с размером ЛП ( $r = +0,27$ ), КДР ( $r = +0,20$ ), КСР ( $r = +0,23$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,32$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,20$ ),  $p < 0,05$ . Установлена достоверная положительная связь коэффициента вариации ГП с размером ЛП ( $r = +0,24$ ), КДР ( $r = +0,25$ ), КСР ( $r = +0,24$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,36$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,22$ ),  $p < 0,05$ . В группе стрессовой ГГ и СД 2 типа в анамнезе эксцентрическая гипертрофия ЛЖ развивалась достоверно чаще в сравнении с группой нормогликемии.

**Выводы.** У пациентов в остром периоде Q-ИМ с гипергликемией при поступлении с увеличением класса ОСН отмечено увеличение среднего уровня гликемии, стандартного отклонения и коэффициента вариации ГП, размера ЛП, КСР, ИММЛЖ, СДЛА и снижение УИ и ФВЛЖ. В группе Киллип 3 установлено увеличение MVE, соотношения E/A и снижение IVRT, что свидетельствует о преобладании диастолической дисфункции 2 типа в сравнении с Киллип 1 и Киллип 2. У пациентов с гипергликемией при поступлении систолическую дисфункцию ЛЖ и легочную гипертензию, а у пациентов со стрессовой ГГ и СД 2 типа в анамнезе эксцентрическую гипертрофию регистрируют достоверно чаще, чем в группе нормогликемии. Наиболее выраженное увеличение ЛП и снижение ФВЛЖ отмечено у пациентов с ВВ диабетом и СД 2 типа в анамнезе. ГГ, увеличение стандартного отклонения и коэффициента вариации ГП на фоне ОСН влияют на кардиальное ремоделирование при Q-ИМ, что проявляется снижением ФВЛЖ, увеличением размеров камер сердца и массы миокарда ЛЖ.

## Ключевые слова:

Q-инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, гипергликемия.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 45–52

DOI: 10.14739/2310-1237. 2019.1.166236

\*E-mail: stonataliya@gmail.com

# Кардіальне ремодельовання в гострому періоді Q-інфаркту міокарда, що ускладнений гострою серцевою недостатністю на тлі гіперглікемії

В. Д. Сыволап, Н. И. Капшитарь

**Мета роботи** – вивчити особливості структурно-геометричної та функціональної перебудови серця в гострому періоді Q-інфаркту міокарда (Q-ИМ), що ускладнений гострою серцевою недостатністю (ГСН) на тлі гіперглікемії (ГГ).

**Матеріали та методи.** У дослідження залучили 139 пацієнтів у гострому періоді Q-ИМ, що ускладнений ГСН: у 108 хворих діагностували ГГ під час надходження (у 23 виявили ЦД 2 типу в анамнезі, у 34 – стресову ГГ, у 26 – порушення толерантності до глюкози (ПТГ), у 25 – уперше виявлений (ВВ) діабет 2 типу), у 31 – нормоглікемія. Пацієнтам визначали рівень глікемії, глікемічний профіль (ГП), розраховували стандартне відхилення та коефіцієнт варіації ГП, вимірювали структурно-геометричні та функціональні показники серця.

**Результати.** У групі Killip 2 КСР на 16 % і СДЛА на 29 % більші, а УО на 17 %, УІ на 20 % і ФВЛШ на 25 % менші, ніж у групі Killip 1. Розмір ЛП на 8 %, ИММЛШ на 16 %, MVE на 18 %, E/A на 46 % менші, а ФВЛШ на 10 % і IVRT на 11 %

## Ключові слова:

Q-інфаркт міокарда, серцева недостатність, гіперглікемія.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 45–52

більші, ніж у групі Killip 3. У групі Killip 3 розмір ЛП на 11 %, КСР на 20 %, ІММЛШ на 24 %, МВЕ на 24 %, Е/А на 45 % і СТЛА на 39 % вищі, а УО на 18 %, ФВЛШ на 32 % нижчі, ніж у групі Killip 1. У пацієнтів з ГГ при надходженні КДР на 9 %, КСР на 6 %, СТЛА на 18 % більші, а ФВЛШ на 17 % менша, ніж у пацієнтів із нормоглікемією. У групі стресової ГГ КДР на 10 % і КСР на 5 % більші, ФВЛШ на 15 % нижча, ніж у групі нормоглікемії. У групі ВВ діабету розмір ЛП на 12 % більше, а ФВЛШ на 20 % нижче, ніж у групі нормоглікемії. Розмір ЛП на 10 %, ТМШП на 13 % більші, ніж у групі стресової ГГ. ТМШП на 13 % більше, ніж у групі з ПТГ. У групі ЦД 2 типу в анамнезі розмір ЛП на 8 %, КСР на 15 % і СТЛА на 29 % більші, а ФВЛШ на 19 % менша, ніж у групі нормоглікемії. Розмір ЛП на 5 % більше, ніж у групі стресової ГГ. Визначили вірогідний позитивний зв'язок рівня ГГ під час надходження з розміром ЛП ( $r = +0,23$ ), КСР ( $r = +0,27$ ), ІММЛШ ( $r = +0,25$ ) і негативний зв'язок із ФВ ( $r = -0,23$ ),  $p < 0,05$ . Вірогідний позитивний зв'язок величини стандартного відхилення ГП із розміром ЛП ( $r = +0,27$ ), КДР ( $r = +0,20$ ), КСР ( $r = +0,23$ ), ІММЛШ ( $r = +0,32$ ) і негативний зв'язок із ФВ ( $r = -0,20$ ),  $p < 0,05$ . Виявили вірогідний позитивний зв'язок коефіцієнта варіації ГП із розміром ЛП ( $r = +0,24$ ), КДР ( $r = +0,25$ ), КСР ( $r = +0,24$ ), ІММЛШ ( $r = +0,36$ ) і негативний зв'язок із ФВ ( $r = -0,22$ ),  $p < 0,05$ . У групі стресової ГГ і ЦД 2 типу в анамнезі ексцентрична гіпертрофія ЛШ розвивалася вірогідно частіше порівняно з групою нормоглікемії.

**Висновки.** У пацієнтів у гострому періоді Q-ІМ із гіперглікемією під час надходження зі збільшенням класу ГСН відзначається збільшення середнього рівня глікемії, стандартного відхилення та коефіцієнта варіації ГП, розміру ЛП, КСР, ІММЛШ, СТЛА та зниження УІ та ФВЛШ. У групі Killip 3 виявили збільшення МВЕ, співвідношення Е/А та зниження ІВРТ, що свідчить про переважання діастолічної дисфункції 2 типу порівняно з Killip 1 і Killip 2. У пацієнтів із гіперглікемією при надходженні систолічну дисфункцію ЛШ і легенеvu гіпертензію, а в пацієнтів зі стресовою ГГ і ЦД 2 типу в анамнезі ексцентричну гіпертрофію рееструють вірогідно частіше, ніж у групі нормоглікемії. Найбільш виражене збільшення ЛП і зниження ФВЛШ виявили в пацієнтів із ВВ діабетом і ЦД 2 типу в анамнезі. ГГ, збільшення стандартного відхилення, коефіцієнта варіації ГП на тлі ГСН впливають на кардіальне ремоделювання при Q-ІМ, що проявляється зниженням ФВЛШ, збільшенням розмірів камер серця та маси міокарда ЛШ.

**Key words:**  
myocardial  
infarction, acute  
heart failure,  
hyperglycemia.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 45–52

## Cardiac remodeling in the acute period of Q-myocardial infarction, complicated by acute heart failure and hyperglycemia

V. D. Syvolap, N. I. Kapshytar

**The aim** was to study structural, geometric and functional heart reconstruction in acute period of Q-myocardial infarction (Q-MI) complicated by acute heart failure (AHF) and hyperglycemia (HG).

**Materials and methods.** The study included 139 patients in acute period of Q-MI complicated by AHF. On admission, HG was diagnosed in 108 patients: 23 cases of type 2 diabetes in history, 34 – stress HG, 26 – impaired glucose tolerance (IGT), 25 – first identified diabetes. The level of glycemia and glycemc profile (GP) were determined in patients, the standard deviation and the coefficient of GP variation were calculated, the heart structural, geometric and functional parameters were measured.

**Results.** The increase by 16 % in ESD and 29 % in the systolic PAP, the decrease by 17 % in SV, 20 % in SI and 25 % in LVEF were revealed in the Killip 2 group comparing with the Killip 1 group. The decrease in LA size by 8 %, LVMI by 16 %, MVE by 18 %, E/A by 46 %, the increase in LVEF by 10 % and IVRT by 11 % comparing with the Killip 3 group were observed. The increase in the size of LA by 11 %, ESD by 20 %, LVMI by 24 %, MVE by 24 %, E/A by 45 % and the systolic PAP by 39 %, and the decrease in SV by 18 %, LVEF by 32 % were detected in the Killip 3 group comparing with the Killip 1 group. The increase in EDD by 9 %, ESD by 6 %, systolic PAP by 18 % and the decrease in LVEF by 17 % were defined in patients with stress HG comparing with the patients with normal glycaemia. The group with stress HG showed the increase in EDD by 10 %, ESD by 5 % and the decrease in LVEF by 15 % comparing with the group with normal glycemia. There were the increase in the size of LA by 12 % and the decrease of LVEF by 20 % in the group with the first identified diabetes comparing with the patients with normal glycaemia. There was an increase in the size of LA by 10 %, IVS by 13 % comparing with the stress HG group; IVS by 13 % comparing with the group with IGT. The group of type 2 diabetes demonstrated the increase in the size of LA by 8 %, ESD by 15 %, and the systolic PAP by 29 %, and the decrease in LVEF by 19 % comparing with patients with normal glycaemia; the increase in the size of LA by 5 % comparing with the stress HG group. There was a significant positive relationship between the level of HG on admission and the size of LA ( $r = +0,23$ ), ESD ( $r = +0,27$ ), LVMI ( $r = +0,25$ ) and a negative relationship with the LVEF ( $r = -0,23$ ),  $P < 0,05$ . A significant positive correlation between the standard deviation of the GP and the size of the LA ( $r = +0,27$ ), EDD ( $r = +0,20$ ), ESD ( $r = +0,23$ ), LVMI ( $r = +0,32$ ) and a negative relationship with LVEF ( $r = -0,20$ ),  $P < 0,05$  were determined. A significant positive correlation between the coefficient of variation of the GP and the size of the LA ( $r = +0,24$ ), the EDD ( $r = +0,25$ ), the ESD ( $r = +0,24$ ), LVMI ( $r = +0,36$ ) and negative correlation with LVEF ( $r = -0,22$ ),  $P < 0,05$  were found. The eccentric hypertrophy of the left ventricle developed significantly more often in the group with stress HG and type 2 diabetes in history, comparing with the group with normal glycemia.

**Conclusions.** The increasing of the average blood glucose level, standard deviation and coefficient of GP variation, LA size, ESD, LVMI, and systolic PAP and the decreasing of SI and LVEF were observed in patients with acute Q myocardial infarction and hyperglycemia on admission with the elevation of AHF grade. The study revealed the increase in MVE, E / A ratios and a decrease in IVRT in the Killip 3 group, which indicates the predominance of type 2 diastolic dysfunction comparing with Killip 1 and Killip 2. The patients with hyperglycemia on admission, systolic dysfunction of the left ventricle and pulmonary hypertension, and the patients with stress hyperglycemia and type 2 diabetes in the history demonstrate the eccentric hypertrophy significantly more often than patients with normal glycemia. The Q-MI cardiac remodeling is influenced by the increasing level of glycemia, standard deviation and coefficient of variation of GP on the background of AHF, which is manifested in LVEF decreasing and the increasing of the heart chambers size and left ventricular myocardial mass.

Острый Q-инфаркт миокарда (Q-ИМ) занимает лидирующие позиции среди причин смертности и инвалидизации в мире. В Украине смертность от острого инфаркта миокарда в возрасте 55–60 лет выше, чем у пациентов 80 лет во Франции [1]. Наличие острой сердечной недостаточности (ОСН) достоверно ухудшает прогноз у больных Q-ИМ [2]. Доказана роль гипергликемии (ГГ) как независимого предиктора смертности и неблагоприятного течения заболевания у пациентов как с Q-ИМ и сахарным диабетом, так и без нарушения углеводного обмена в анамнезе. В условиях ОКС стрессовая ГГ приводит к дополнительной структурной, функциональной и метаболической перестройке миокарда [3]. Исследованиями доказано более выраженное ремоделирование сердца у пациентов с Q-ИМ на фоне ГГ, чем у пациентов без нарушения углеводного обмена [4]. Требуют дальнейшего изучения особенности структурно-геометрической и функциональной перестройки миокарда у пациентов с Q-ИМ, течение которого осложнено ОСН на фоне гипергликемии.

## Цель работы

Изучить особенности структурно-геометрической и функциональной перестройки сердца в остром периоде Q-инфаркта миокарда, осложненного острой сердечной недостаточностью на фоне гипергликемии.

## Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на клинической базе кафедры внутренних болезней 1 Запорожского государственного медицинского университета в отделении интенсивной терапии для лечения пациентов с острой коронарной недостаточностью КУ «Городская клиническая больница экстренной и скорой медицинской помощи г. Запорожья». После подписания информированного согласия в исследование включили 139 пациентов в остром периоде Q-ИМ, осложненного ОСН (средний возраст – 66,3 ± 11,4 года, М ± SD).

Дизайн исследования согласован с локальным этическим комитетом (протокол № 10 от 26 декабря 2018 г.) с заключением о соответствии требованиям морально-этических норм биоэтики согласно правилам ICH/GCP, Хельсинской декларации прав человека (1964 г.), Конвенции Совета Европы по правам человека и биомедицине (1997 г.), а также действующего законодательства Украины.

Критерии включения: пациенты с ОКС с подъемом ST, которым выполнена (n = 29) и не выполнена (n = 110) тромболитическая терапия.

Критерии исключения: пациенты с ОКС без подъема ST.

Класс ОСН оценивали по классификации Киллип (Киллип I – 45 больных, Киллип II – 52, Киллип III – 42 пациента). У 108 больных (средний возраст – 67,0 ± 11,1 года) диагностирована ГГ при поступлении – уровень глюкозы крови выше 7,8 ммоль/л (согласно рекомендациям Американской ассоциации эндокринологов и Американской диабетической ассоциации [5]), у 31 (средний возраст – 63,0 ± 10,1 года) – нормогликемия. После сбора анамнеза у 23 пациентов (средний возраст – 67,0 ± 8,9 года) диагностирован СД 2 типа длительностью от 3 до 15 лет. Нарушений углеводного обмена в анамнезе не было у 85 больных. В конце острого периода Q-ИМ пациентам с ГГ проведен пероральный тест толерантности к глюкозе по методике ВОЗ [6]. У 34 больных (средний возраст – 67,0 ± 11,5 года) с нормальными результатами теста ГГ расценивали как стрессовую, у 26 (средний возраст – 65,0 ± 11,8 года) диагностировано нарушение толерантности к глюкозе, у 25 (средний возраст – 65,0 ± 12,3 года) – впервые выявленный (ВВ) сахарный диабет 2 типа. Достоверных различий по возрасту и полу между группами не было. Всем пациентам определяли уровень гликемии на момент поступления и гликемический профиль (ГП) в первые сутки (4-кратное измерение уровня глюкозы капиллярной крови в 6:00, 12:00, 17:00, 21:00). По результатам измерения рассчитывали стандартное отклонение (степень разброса данных гликемии) и коэффици-

Таблица 1. Уровень гликемии и вариабельность ГП в исследуемых группах, Ме [Q25; Q75]

Параметр, единицы измерения	Нормогликемия, n = 31	ГГ при поступлении, n = 108			
		Стрессовая ГГ, n = 34	НТГ, n = 26	Диабет ВВ, n = 25	СД 2 типа, n = 23
Уровень ГГ при поступлении, ммоль/л	6,1 [4,9;6,7]	9,4* [8,6; 11,5] 8,8* [8,1; 9,3]	8,8* [8,5; 10,1]	10,4**& [9,1; 11,6]	13,7**&A [10,6; 18,5]
Стандартное отклонение ГП	0,87 [0,6;1,5]	1,54* [1,0; 2,1] 1,44* [0,9; 2,0]	1,06 [0,8; 1,7]	1,62*& [1,1; 2,0]	2,28**&A [1,5; 3,6]
Коэффициент вариации ГП, %	14 [11;18]	18* [13;25] 22* [14; 27]	15# [10, 21]	17 [14; 23]	19** [16; 31]

\*: различия достоверны по сравнению с группой нормогликемии, p < 0,05; #: различия достоверны по сравнению с группой стрессовой гипергликемии, p < 0,05;

\*\*&: различия достоверны по сравнению с группой НТГ, p < 0,05; \*\*&A: различия достоверны по сравнению с группой ВВ диабета, p < 0,05.

Таблица 2. Уровень гликемии и вариабельность ГП у пациентов с гипергликемией при поступлении в зависимости от стадии ОСН, Ме [Q25; Q75]

Параметр, единицы измерения	Киллип 1, n = 30	Киллип 2, n = 46	Киллип 3, n = 32
Уровень ГГ при поступлении, ммоль/л	9,0 [8,5; 10,4]	9,4 [8,5; 11,5]	10,6 [8,8; 14,5]*
Стандартное отклонение ГП	1,33 [0,74; 2,08]	1,46 [0,99; 1,86]	2,03 [1,24; 2,6]**
Коэффициент вариации ГП, %	16 [11; 22]	17 [13; 22]	24 [18; 31]**

\*: различия достоверны по сравнению с группой Киллип 1, p < 0,05; \*\*: различия достоверны по сравнению с группой Киллип 2, p < 0,05.

Таблиця 3. Структурно-функціональні показателі серця у пацієнтів с гіперглікемією при поступленні по класам ОШН, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

Показатели, единицы измерения	Киллип 1, n = 30	Киллип 2, n = 46	Киллип 3, n = 32
АО, см	3,08 [2,93; 3,24]	3,08 [2,8; 3,31]	2,97 [2,77; 3,12]
ЛП, см	3,94 [3,59; 4,4]	4,07 [3,78; 4,39]	4,43 [4,1; 4,77]**
ПЖ, см	2,33 [2,1; 2,75]	2,38 [2,11; 2,74]	2,57 [2,3; 2,84]
ТМЖП, см	1,1 [1,03; 1,29]	1,16 [1,03; 1,31]	1,23 [1,07; 1,31]
КДР, см	5,64 [5,28; 5,95]	5,88 [5,34; 6,15]	5,9 [5,37; 6,34]
ТЗСЛЖ, см	1,13 [0,97; 1,21]	1,11 [1,03; 1,24]	1,16 [1,03; 1,29]
КСР, см	3,76 [3,54; 4,2]	4,46 [3,91; 4,85]*	4,65 [3,82; 5,02]*
ИММЛЖ, г/м <sup>2</sup>	143 [128; 161]	157 [135; 187]	188 [157; 235]**
УО, мл	68,5 [51,1; 86,7]	56,6 [41,6; 74,6]*	56,4 [43,2; 70,5]*
УИ, мл/м <sup>2</sup>	37 [28,2; 41,9]	29,6 [21,5; 39]*	30,6 [25,8; 40,4]
МОК, л/мин	4,82 [3,69; 5,95]	4,72 [3,67; 6,00]	4,81 [3,54; 5,79]
СИ, л/мин/м <sup>2</sup>	2,48 [2,07; 3,27]	2,40 [2,13; 3,30]	2,42 [1,93; 3,10]
ФВ, %	56 [48; 60]	42 [39; 51]*	38 [35; 44]**
MVE, см/с	0,58 [0,44; 0,72]	0,62 [0,47; 0,82]	0,76 [0,68; 0,84]**
MVA, см/с	0,61 [0,49; 0,80]	0,67 [0,53; 0,79]	0,50 [0,40; 0,87]
Е/А, у.е.	0,8 [0,67; 1,32]	0,78 [0,62; 1,51]	1,46 [0,84; 2,13]**
IVRT, мс	108,0 [89,0; 140,0]	112,0 [95,0; 128,0]	99,5 [85,0; 120,0] <sup>†</sup>
V max АО, м/с	0,99 [0,81; 1,18]	0,91 [0,72; 1,15]	0,87 [0,58; 1,15]
G АО, мм рт. ст.	3,9 [2,65; 5,1]	3,3 [2,05; 5,3]	2,8 [1,4; 5,1]
V max Т, м/с	0,53 [0,38; 0,64]	0,46 [0,38; 0,53]	0,50 [0,42; 0,60]
V max ЛА, м/с	0,66 [0,56; 0,79]	0,66 [0,57; 0,74]	0,70 [0,53; 0,76]
СДЛА, мм рт. ст.	20,2 [18,6; 26,2]	28,4 [20,2; 35,5]*	33,1 [25,2; 36,0]*

\*: различия достоверны по сравнению с группой Киллип 1,  $p < 0,05$ ; \*\*: различия достоверны по сравнению с группой Киллип 2,  $p < 0,05$ .

Таблиця 4. Структурно-функціональні показателі серця в 1 сутки у пацієнтів с гіперглікемією при поступленні, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

Показатели, единицы измерения	Нормогликемия, n = 31	ГГ при поступлении, n = 108
АО, см	3,15 [2,90; 3,50]	3,07 [2,84; 3,24]
ЛП, см	3,90 [3,70; 4,30]	4,15 [3,80; 4,47]
ПЖ, см	2,41 [2,10; 2,70]	2,40 [2,10; 2,80]
ТМЖП, см	1,23 [1,10; 1,36]	1,16 [1,03; 1,31]
КДР, см	5,30 [4,90; 6,00]	5,80 [5,30; 6,20]*
ТЗСЛЖ, см	1,16 [1,03; 1,30]	1,15 [1,03; 1,25]
КСР, см	3,95 [3,50; 4,30]	4,17 [3,70; 4,80]*
ИММЛЖ, г/м <sup>2</sup>	163,50 [145,00; 202,00]	159,0 [13,04; 194,0]
УО, мл	63,05 [46,00; 84,00]	57,6 [45,7; 76,9]
УИ, мл/м <sup>2</sup>	33,75 [26,00; 43,00]	32,6 [24,0; 40,6]
МОК, л/мин	4,4 [3,6; 6,5]	4,76 [3,60; 5,95]
СИ, л/мин/м <sup>2</sup>	2,25 [1,90; 3,20]	2,13 [2,00; 3,23]
ФВ, %	52 [44; 59]	43 [38; 56]*
MVE, см/с	0,55 [0,45; 0,83]	0,67 [0,50; 0,81]
MVA, см/с	0,65 [0,54; 0,78]	0,62 [0,47; 0,82]
Е/А, у.е.	0,77 [0,65; 1,61]	0,83 [0,69; 1,47]
IVRT, мс	117,5 [96,0; 128,0]	108,0 [89,0; 128,0]
V max АО, м/с	0,97 [0,85; 1,27]	0,95 [0,73; 1,15]
G АО, мм рт. ст.	3,75 [2,90; 6,50]	3,60 [2,10; 5,10]
V max Т, м/с	0,49 [0,39; 0,55]	0,48 [0,40; 0,58]
V max ЛА, м/с	0,62 [0,52; 0,67]	0,65 [0,56; 0,74]
СДЛА, мм рт. ст.	22,2 [18,6; 30,0]	26,6 [19,9; 34,6]*

\*: различия достоверны по сравнению с группой нормогликемии,  $p < 0,05$ .

ент вариации ГП (долю стандартного отклонения от среднего уровня глюкозы) по стандартной методике [7] (табл. 1 и 2).

В первые сутки выполнена трансторакальная доплерэхокардиография на аппарате «MyLab50» (« Esaote », Италия) по рекомендациям Американского

сообщества эхокардиографии [8]. Оценивали такие параметры: размер аорты (АО), диастолический размер левого предсердия (ЛП), диаметр правого желудочка (ПЖ), конечный систолический (КСР) и конечный диастолический размер (КДР) левого желудочка (ЛЖ), толщину межжелудочковой перегородки (МЖП) и задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ) в диастолу, фракцию выброса левого желудочка (ФВЛЖ). Рассчитывали индекс массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ), ударный объем (УО), ударный индекс (УИ), минутный объем крови (МОК) и систолический индекс (СИ) ЛЖ. Измеряли систолическое давление в легочной артерии (СДЛА) по потоку трикуспидальной регургитации. Допплерографически оценивали скорости кровотока (Vmax) на АО, митральном (М), трикуспидальном клапане (Т) и клапане легочной артерии (ЛА), максимальный градиент давления на АО. Измеряли скорость раннего (MVE) и позднего (MVA) диастолического наполнения ЛЖ, рассчитывали их соотношения Е/А, время изоволюмического расслабления ЛЖ (IVRT).

Статистический анализ проводили в программе Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные представлено в виде  $M \pm SD$  (среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение) и Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>] (медиана [25 квартиль и 75 квартиль]). Достоверность различий количественных переменных между двумя независимыми группами оценивали с использованием критерия Манна–Уитни. Достоверность различия качественных переменных оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ . Зависимость между двумя количественными переменными анализировали методом парной корреляции Пирсона. Достоверными считали различия при уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты

У пациентов группы Киллип 2 КСР на 16 % ( $p = 0,002$ ) и СДЛА на 29 % ( $p = 0,007$ ) достоверно больше, а УО на 17 % ( $p = 0,04$ ), УИ на 20 % ( $p = 0,03$ ) и ФВЛЖ на 25 % ( $p = 0,0001$ ) меньше, чем в группе Киллип 1. Размер ЛП на 8 % ( $p = 0,001$ ), ИММЛЖ на 16 % ( $p = 0,02$ ), MVE на 18 % ( $p = 0,01$ ), Е/А на 46 % ( $p = 0,003$ ) меньше, а ФВЛЖ на 10 % ( $p = 0,001$ ) и IVRT на 11 % ( $p = 0,02$ ) больше, чем в группе Киллип 3 (табл. 3).

В группе Киллип 3 размер ЛП на 11 % ( $p = 0,004$ ), КСР на 20 % ( $p = 0,0003$ ), ИММЛЖ на 24 % ( $p = 0,0004$ ), MVE на 24 % ( $p = 0,0001$ ), Е/А на 45 % ( $p = 0,0003$ ) и СДЛА на 39 % ( $p = 0,0002$ ) выше, а УО на 18 % ( $p = 0,03$ ), ФВЛЖ на 32 % ( $p < 0,0001$ ) ниже, чем в группе Киллип 1 (табл. 3).

У пациентов с ГГ при поступлении КДР на 9 % ( $p = 0,018$ ), КСР на 6 % ( $p = 0,037$ ), СДЛА на 17 % ( $p = 0,04$ ) больше, а ФВЛЖ на 17 % ( $p = 0,008$ ) меньше, чем у пациентов с нормогликемией (табл. 4)

Отмечена достоверная положительная связь уровня ГГ при поступлении с размером ЛП ( $r = +0,23$ ), КСР ( $r = +0,27$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,25$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,23$ ),  $p < 0,05$ . Достоверная поло-



Таблица 5. Структурно-функциональные показатели сердца в зависимости от вида нарушения углеводного обмена, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>].

Показатели, единицы измерения	Нормогликемия, n = 31	Стрессовая ГГ, n = 34	НТГ, n = 26	Диабет ВВ, n = 25	СД 2 типа, n = 23
АО, см	3,15 [2,90; 3,50]	2,95 [2,75; 3,22]	3,03 [2,86; 3,2]	3,23 [3,01; 3,47]	2,99 [2,84; 3,22]
ЛП, см	3,9 [3,7; 4,3]	3,91 [3,66; 4,23]	4,14 [3,86; 4,50]	4,42 [3,87; 4,61]**	4,24 [3,88; 4,46]**
ПЖ, см	2,41 [2,10; 2,70]	2,36 [2,13; 2,52]	2,49 [2,10; 2,75]	2,47 [2,18; 2,79]	2,50 [2,07; 2,90]
ТМЖП, см	1,23 [1,10; 1,36]	1,15 [1,03; 1,29]	1,15 [0,97; 1,30]	1,31 [1,03; 1,36]**	1,16 [1,06; 1,31]
КДР, см	5,30 [4,90; 6,00]	5,86 [5,34; 6,15]*	5,69 [5,04; 6,00]	5,77 [5,34; 6,29]	5,86 [5,30; 6,14]
ТЗСЛЖ, см	1,16 [1,03; 1,30]	1,10 [1,03; 1,23]	1,16 [1,03; 1,23]	1,23 [1,10; 1,31]	1,11 [1,03; 1,29]
КСР, см	3,95 [3,50; 4,30]	4,17 [3,82; 4,82]*	3,94 [3,47; 4,80]	4,14 [3,76; 4,75]	4,64 [3,65; 4,84]*
ИММЛЖ, г/м <sup>2</sup>	163,5 [145,0; 202,0]	144 [133; 188]	154 [135; 183]	178 [143; 206]	181 [139; 207]
УО, мл	63,05 [46,00; 84,00]	58,30 [47,00; 82,00]	58,3 [43,0; 94,0]	58,4 [46,9; 77,6]	54,7 [40,9; 68,6]
УИ, мл/м <sup>2</sup>	33,75 [26,00; 43,00]	32,3 [26,0; 41,0]	35,6 [22,0; 46,0]	34,7 [22,8; 40,9]	29,2 [20,4; 38,4]
МОК, л/мин	4,4 [3,6; 6,5]	4,80 [3,47; 5,83]	5,38 [3,56; 6,60]	4,57 [3,74; 5,86]	4,55 [3,60; 6,00]
СИ, л/мин/м <sup>2</sup>	2,25 [1,90; 3,20]	2,22 [1,99; 3,15]	2,42 [1,9; 3,8]	2,16 [1,97; 2,87]	2,19 [2,07; 3,20]
ФВ, %	52 [44; 59]	44 [39; 52]*	51 [39; 60]	41,5 [38,0; 52,5]*	42 [36; 54]*
MVE, см/с	0,55 [0,45; 0,83]	0,65 [0,49; 0,79]	0,65 [0,47; 0,80]	0,69 [0,49; 0,81]	0,73 [0,58; 0,92]
MVA, см/с	0,65 [0,54; 0,78]	0,64 [0,47; 0,94]	0,60 [0,49; 0,80]	0,63 [0,41; 0,74]	0,55 [0,49; 0,80]
Е/А, у.е.	0,77 [0,65; 1,61]	0,82 [0,68; 1,38]	0,84 [0,58; 1,46]	0,89 [0,63; 2,13]	1,41 [0,75; 1,71]
IVRT, мс	117,5 [96,0; 128,0]	103 [89; 127]	110 [85; 140]	114 [89; 127]	108 [89; 128]
V max АО, м/с	0,97 [0,85; 1,27]	0,93 [0,75; 1,12]	1,03 [0,81; 1,32]	0,94 [0,68; 1,13]	0,89 [0,59; 1,18]
G АО, мм. рт. ст.	3,75 [2,90; 6,50]	3,40 [2,10; 5,00]	4,20 [2,60; 5,20]	3,55 [1,90; 5,30]	2,85 [1,40; 4,30]
V max Т, м/с	0,49 [0,39; 0,55]	0,45 [0,38; 0,57]	0,48 [0,40; 0,58]	0,49 [0,36; 0,62]	0,48 [0,41; 0,58]
V max ЛА, м/с	0,62 [0,52; 0,67]	0,67 [0,52; 0,75]	0,65 [0,51; 0,81]	0,66 [0,57; 0,73]	0,66 [0,57; 0,73]
СДЛА, мм рт. ст.	22,2 [18,6; 30,0]	26,6 [22,5; 33,1]	26,2 [19,5; 34,0]	23,8 [19,9; 36,6]	32,0 [19,7; 34,7]*

\*: различия достоверны по сравнению с группой нормогликемии,  $p < 0,05$ ; \*: различия достоверны по сравнению с группой с группой стрессовой гипергликемии,  $p < 0,05$ ; \*\*: различия достоверны по сравнению с группой НТГ,  $p < 0,05$ .

жительная связь уровня стандартного отклонения ГП с размером ЛП ( $r = +0,27$ ), КДР ( $r = +0,20$ ), КСР ( $r = +0,23$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,32$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,20$ ),  $p < 0,05$ . Установлена достоверная положительная связь коэффициента вариации ГП с размером ЛП ( $r = +0,24$ ), КДР ( $r = +0,25$ ), КСР ( $r = +0,24$ ), ИММЛЖ ( $r = +0,36$ ) и отрицательная связь с ФВ ( $r = -0,22$ ),  $p < 0,05$ .

В группе стрессовой ГГ КДР на 10 % ( $p = 0,02$ ) и КСР на 5 % ( $p = 0,046$ ) больше, ФВЛЖ на 15 % ( $p = 0,018$ ) ниже, чем в группе нормогликемии. В группе ВВ диабета размер ЛП на 12 % ( $p = 0,007$ ) больше, а ФВЛЖ на 20 % ( $p = 0,01$ ) ниже, чем в группе нормогликемии. Размер ЛП на 10 % ( $p = 0,002$ ) и ТМЖП на 13 % ( $p = 0,01$ ) больше, чем в группе стрессовой ГГ. ТМЖП на 13 % ( $p = 0,01$ ) больше, чем в группе с НТГ. В группе СД 2 типа в анамнезе размер ЛП на 8 % ( $p = 0,044$ ), КСР на 15 % ( $p = 0,022$ ) и СДЛА на 29 % ( $p = 0,03$ ) больше, а ФВЛЖ на 19 % ( $p = 0,01$ ) меньше, чем в группе нормогликемии. Размер ЛП на 5 % ( $p = 0,03$ ) больше, чем в группе стрессовой ГГ (табл. 5).

В группе стрессовой ГГ ( $\chi^2 = 6,66$ ) и СД 2 типа в анамнезе ( $\chi^2 = 5,46$ ) эксцентрическая гипертрофия ЛЖ развивалась достоверно чаще в сравнении с группой нормогликемии (табл. 6).

## Обсуждение

Многочисленными исследованиями установлено неблагоприятное влияние ГГ на течение и прогноз у пациентов с Q-ИМ [9,10]. Доказано прямое негативное влияние гипергликемии на ишемизированный миокард посредством нескольких механизмов: окислительного

стресса, воспаления, апоптоза, эндотелиальной дисфункции, гиперкоагуляции, агрегации тромбоцитов [11].

В исследовании STEMI [12] с помощью миокардиальной контрастной эхокардиографии установлено, что ГГ при поступлении ассоциирована с микрососудистой дисфункцией. На следующем этапе пациентам со STEMI проведена контрастная магнитно-резонансная томография сердечно-сосудистой системы, которая продемонстрировала связь гипергликемии при поступлении с микрососудистой обструкцией. При оценке эхокардиографических параметров [13] пациентов с ГГ без СД в анамнезе отмечены более низкие показатели ФВЛЖ, большие КДР и КСР ЛЖ в сравнении с пациентами без ГГ. Оценка индекса локальной сократимости миокарда (ИЛСМ) и суммарной сократимости пораженных сегментов (ССПС) ЛЖ у пациентов с ГГ показала более высокие значения этих параметров, в сравнении с пациентами с нормогликемией (1,31 vs 1,19 и 10 vs 6 соответственно). По результатам нашего исследования типов гипертрофии по группам нарушения углеводного обмена, установлено преобладание эксцентрической гипертрофии в группах стрессовой ГГ и СД 2 типа в сравнении с нормогликемией, что свидетельствует о более выраженном ремоделировании ЛЖ на фоне ГГ.

Доказана корреляция уровня стрессовой ГГ с размером зоны некроза миокарда и сократительной функцией ЛЖ [14]. В исследовании [15], посвященном ОСН с сохраненной ФВЛЖ у пациентов с ОИМ, отмечена корреляция уровня гликемии на 3 сутки с выраженностью симптомов ОСН в 1 сутки и размером зоны некроза миокарда. Сходные корреляционные связи установлены в проведенном исследовании:

Таблиця 6. Ремоделирование миокарда по группам в зависимости от вида нарушения углеводного обмена, n (%)

	Нормогликемия, n = 31	Стрессовая ГГ, n = 34	НТГ, n = 26	Диабет ВВ, n = 24	СД 2 типа, n = 23
Концентрическая гипертрофия	18 (58 %)	9 (26 %)*	10 (38 %)	9 (38 %)	6 (26 %)*
Эксцентрическая гипертрофия	13 (41 %)	25 (74 %)*	16 (62 %)	15 (62 %)	17 (74 %)*

\*: различия достоверны по сравнению с группой нормогликемии,  $p < 0,05$ ; различия анализировали с использованием критерия критерия  $\chi^2$ .

уровень гликемии и вариабельности ГП ассоциируется со снижением ФВЛЖ и увеличением размеров камер и массы миокарда.

Сравнение показателей эхокардиограммы пациентов с Q-ИМ и СД 2 типа с пациентами без нарушения углеводного обмена подтверждает негативное влияние ГГ. У пациентов с СД 2 типа в анамнезе регистрировали увеличение размеров ЛП, ТМЖП, массы миокарда ЛЖ и снижение ФВЛЖ. Отмечена большая частота митральной регургитации I-II степени – 37,3 % и 23,4 % соответственно,  $p = 0,04$  [16]. В результате нашего исследования установлено: наиболее выраженное снижение ФВЛЖ регистрировали у пациентов с ВВ диабетом и диабетом 2 типа в анамнезе, что, вероятно, связано с более длительным влиянием гипергликемии на миокард и развитием сопутствующей диабетической микроангиопатии.

ОСН в остром периоде Q-ИМ усугубляет состояние диастолической функции ЛЖ. В исследовании [17] показано, что тяжелые нарушения диастолической функции ЛЖ (псевдонормальный и рестриктивный типы) установлены у лиц на фоне осложненного ИМ – 51 % случаев против 23 % в группе не осложненного ИМ ( $p < 0,01$ ). У пациентов с Q-ИМ на фоне ОСН тип диастолической дисфункции с нарушенной релаксацией зарегистрирован в 39 % случаев, а в группе без ОСН – в 67 % ( $p < 0,04$ ). В нашем исследовании более тяжелый тип диастолической дисфункции отмечен при более высоком классе ОСН, что соответствует данным научной литературы.

Согласно исследованию [18], у пациентов с нарушением углеводного обмена диагностируют более высокий класс ОСН по Киллип в сравнении с пациентами с нормогликемией. Сходные данные получены в нашем исследовании параметров углеводного обмена в зависимости от класса ОСН и при корреляционном анализе, что подтверждает ассоциацию тяжести ОСН от уровня ГГ.

## Выводы

1. У пациентов в остром периоде Q-инфаркта миокарда и гипергликемией при поступлении с увеличением класса острой сердечной недостаточности отмечено увеличение среднего уровня гликемии, стандартного отклонения и коэффициента вариации гликемического профиля, размера левого предсердия, конечного систолического размера, индекса массы миокарда левого желудочка, систолического давления в легочной артерии и снижение ударного объема и фракции выброса левого желудочка.

2. В группе Киллип 3 установлено увеличение скорости раннего диастолического наполнения левого желудочка, соотношения E/A и снижение времени изоволюметрического наполнения левого желудочка,

что свидетельствует о преобладании диастолической дисфункции 2 типа по сравнению с группами Киллип 1 и Киллип 2.

3. У пациентов в остром периоде Q инфаркта миокарда, осложненного острой сердечной недостаточностью и гипергликемией при поступлении, систолическую дисфункцию ЛЖ и легочную гипертензию, а у пациентов со стрессовой гипергликемией и сахарным диабетом 2 типа в анамнезе эксцентрическую гипертрофию регистрируют достоверно чаще, чем в группе нормогликемии. Наиболее выраженное увеличение размеров левого предсердия и снижение фракции выброса левого желудочка установлено у пациентов с впервые диагностированным диабетом и сахарным диабетом 2 типа в анамнезе.

4. Гипергликемия, увеличение стандартного отклонения и коэффициента вариации гликемического профиля на фоне ОСН влияют на кардиальное ремоделирование при Q-инфаркте миокарда, что проявляется снижением фракции выброса левого желудочка, увеличением размеров камер сердца и массы миокарда левого желудочка.

**Перспективы дальнейших исследований.** Следующим этапом исследования планируется изучение динамики уровня копептина и его влияние на клиническое течение острой сердечной недостаточности в остром периоде Q-инфаркта миокарда на фоне различных нарушений углеводного обмена.

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках НИР Запорожского государственного медицинского университета «Исследование клинико-патогенетических особенностей течения хронической сердечной недостаточности ишемического генеза на фоне сопутствующих патологических состояний, усовершенствование диагностики и оптимизация лечения» № регистрации 0114U001392 (2014–2019).

## Конфликт интересов: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 12.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 08.01.2019

Прийнято до друку / Accepted: 11.01.2019

## Сведения об авторах:

Сыволоп В. Д., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. внутренних болезней 1, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Капшитарь Н. И., аспирант каф. внутренних болезней 1, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Відомості про авторів:

Сиволоп В. Д., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішніх хвороб 1, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Капшитар Н. І., аспірант каф. внутрішніх хвороб 1, Запорізький державний медичний університет, Україна.

### Information about authors:

Syvolap V. D., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Diseases 1, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kapshytar N. I., MD, Postgraduate Student, Department of Internal Medicine 1, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

### Список литературы

- [1] Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update / M. Nichols, N. Townsend, P. Scarborough, M. Rayner // *European Heart Journal*. – 2014. – Vol. 35. – Issue 42. – P. 2929–2933.
- [2] Acute heart failure in patients admitted to the emergency department with acute myocardial infarction / J.M. Krzysztofik, M. Sokolski, M. Kosowski et al. // *Kardiologia Pol.* – 2017. – Vol. 75. – Issue 4. – P. 306–315.
- [3] Аметов А.С. Управление гипергликемией при остром коронарном синдроме / А.С. Аметов, Я.В. Пуговкина, Н.А. Черникова // *Медицинский совет*. – 2016. – №3. – С. 98–104.
- [4] Смирнова Е.С. Стрессовая гипергликемия у пациентов с острым крупноочаговым инфарктом миокарда / Е.С. Смирнова, Е.А. Григоренко, Н.П. Митковская // *Весті Національної академії наук України. Серія медичних наук*. – 2017. – №4. – С. 60–69.
- [5] American association of clinical endocrinologists and american diabetes association consensus statement on inpatient glycemic control / E.S. Moghissi, M.T. Korytkowski, M. Di Nardo, et al. // *Diabetes Care*. – 2009. – Vol. 32. – Issue 6. – P. 1119–1131.
- [6] Report of a WHO/IDF consultation. Definition and diagnosis of diabetes and intermediate hyperglycaemia, 2006. Retrieved from [https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis\\_diabetes2006/en/](https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/)
- [7] Tracy T.S. Glycemic Variability: Looking Beyond the A1C / T.S. Tracy, T.L. Dace // *Diabetes Spectrum*. – 2012. – Vol. 25. – Issue 3. – P. 149–153.
- [8] Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / R.M. Lang, L.P. Badano, V. Mor-Avi, et al. // *Journal of the American Society of Echocardiography*. – 2015. – Vol. 28. – Issue 1. – P. 1–39.
- [9] Stress hyperglycemia in acute myocardial infarction / G. Korašević, S. Vasiljević, R. Veljković-Radovanović, et al. // *Vojnosanit Pregl.* – 2014. – Vol. 71. – Issue 9. – P. 858–869.
- [10] Холматова К.К. Прогностическое значение уровней гликемии, зарегистрированных у пациентов с инфарктом миокарда при поступлении / К.К. Холматова, И.В. Дворяшина // *Архив внутренней медицины*. – 2014. – №1(15). – С. 25–29.
- [11] Ishihara M. Acute hyperglycemia in patients with acute myocardial infarction / M. Ishihara // *Circulation Journal*. – 2012. – Vol. 76. – Issue 3. – P. 563–571.
- [12] Association between hyperglycemia at admission and microvascular obstruction in patients with ST-segment elevation myocardial infarction / S. Ota, T. Tanimoto, M. Orii, et al. // *Journal of Cardiology*. – 2015. – Vol. 65. – Issue 4. – P. 272–277.
- [13] Смирнова Е.С. Гипергликемия у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST: лабораторные и инструментальные характеристики / Е.С. Смирнова, С.С. Галицкая // *Фундаментальная наука в современной медицине 2014: материалы сателл.-конф. молодых ученых / под ред. А.В. Сикорского и др.* – Минск : БГМУ, 2014. – С. 144–149.
- [14] Impact of hyperglycemia at admission in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction as assessed by contrast-enhanced MRI / C.J. Jensen, H.C. Eberle, K. Nassenstein, et al. // *Clin. Res. Cardiol.* – 2011. – Vol. 100. – Issue 8. – P. 649–659.
- [15] Стрессова гипергликемія та активація системного запалення як складові розвитку гострої серцевої недостатності у пацієнтів із гострим інфарктом міокарда з елевацією сегмента ST і збереженою фракцією викиду лівого шлуночка / О.М. Пархоменко, Ю.В. Корнацький, С.М. Кожухов та ін. // *Український медичний часопис*. – 2013. – №1(93). – С. 158–163.
- [16] Панова Е.И. Корректируемые и некорректируемые факторы неблагоприятного течения и отдаленных исходов инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом 2-го типа [Электронный ресурс] / Е.И. Панова // *Международный эндокринологический журнал*. – 2009. – №5(23). – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/10078>

- [17] Алейник О.Н. Диастолическая дисфункция левого желудочка при инфаркте миокарда: аспекты оптимизации диагностики и лечения с учетом дисплазии соединительной ткани : автореф. диссертации на соискание ученой степени к.мед.н. / О.Н. Алейник. – Ставрополь, 2010. – 24 с.
- [18] Попрыго М.В. Значение гипергликемии в остром периоде инфаркта миокарда: результаты клинического исследования / М.В. Попрыго, Б.У. Марданов // *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний*. – 2015. – №3(7). – С. 31–38.

### References

- [1] Nichols, M., Townsend, N., Scarborough, P., & Rayner, M. (2014) Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *European Heart Journal*, 35(42), 2929–2933. doi: 10.1093/eurheartj/ehu299
- [2] Krzysztofik, J. M., Sokolski, M., Kosowski, M., Zimoch, W., Lis, A., Klepuszewski, M., et al. (2017) Acute heart failure in patients admitted to the emergency department with acute myocardial infarction. *Kardiologia Pol.*, 75(4), 306–315. doi: 10.5603/KP.a2016.0178
- [3] Ametov, A. S., Pugovkina, Y. V., & Chernikova, N. A. (2016) Upravljenje giperгликемией pri ostrom koronarnom sindrome [Management of hyperglycemia in acute coronary syndrome. Issues and solutions]. *Medicinskij sovet*, 3, 98–104. [in Russian].
- [4] Smirnova, E. S., Grigorenko, E. A., & Mitkovskaya, N. P. (2017) Stressovaya giperгликемия u pacientov s ostrym krupnoochagovym infarktom miokarda [Stress-induced hyperglycemia in patients with acute myocardial infarction]. *Viesci Nacyyanal'noj akademii nauk Belarusi. Seriya medycynskikh nauk*, 4, 60–69. [in Russian].
- [5] Moghissi, E. S., Korytkowski, M. T., DiNardo, M., Einhorn, D., Hellman, R., Hirsch, I. B., et al. (2009) American association of clinical endocrinologists and American diabetes association consensus statement on inpatient glycemic control. *Diabetes Care*, 32(6), 1119–1131 doi: 10.2337/dc09-9029
- [6] (2006) Report of a WHO/IDF consultation. *Definition and diagnosis of diabetes and intermediate hyperglycaemia*. Retrieved from [https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis\\_diabetes2006/en/](https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/)
- [7] Tracy, T. S., & Dace, T. L. (2012) Glycemic Variability: Looking Beyond the A1C. *Diabetes Spectrum*, 25(3), 149–153. doi: 10.2337/diaspect.25.3.149
- [8] Lang, R. M., Badano, L. P., Mor-Avi, V., Afzal, J., Armstrong, A., Ernande, L., et al. (2015) Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 28(1), 1–39.e14. doi: 10.1016/j.echo.2014.10.003
- [9] Korašević, G., Vasiljević, S., Veljković-Radovanović, R., Sakac, D., Obradović, S., Damjanović, M., et al. (2014) Stress hyperglycemia in acute myocardial infarction. *Vojnosanit Pregl*, 71(9), 858–869. doi: 10.2298/VSP121103017K
- [10] Kholmatoва, K. K., & Dvoryashina, I. V. (2014) Prognosticheskoe znachenie urovnej glikemii, zaregistrovannykh u pacientov s infarktom miokarda pri postuplenii [Prognostic value of blood glucose levels, detected in patients with myocardial infarction on admission]. *Arhiv vnutrennej mediciny*, 1(15), 25–29. [in Russian].
- [11] Ishihara, M. (2012) Acute hyperglycemia in patients with acute myocardial infarction. *Circulation Journal*, 76(3), 563–571. doi: 10.1253/circ.CJ-11-1376
- [12] Ota, S., Tanimoto, T., Orii, M., Hirata, K., Shiono, Y., Shimamura, K., et al. (2015) Association between hyperglycemia at admission and microvascular obstruction in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Journal of Cardiology*, 65(4), 272–277. doi: 10.1016/j.jjcc.2014.10.013
- [13] Smirnova, E. S., & Galickaya, S. S. (2014) Giperгликемия u pacientov s infarktom miokarda s pod'emom segmenta ST: laboratornye i instrumental'nye kharakteristiki. [Hyperglycemia in patients with myocardial infarction with ST-segment elevation: laboratory and instrumental characteristics]. *Fundamental'naya nauka v sovremennoj medicene 2014. Proceedings of the Conference young scientists*. (pp. 142–149). Minsk. [in Russian].
- [14] Jensen, C. J., Eberle, H. C., Nassenstein, K., Schlosser, T., Farzandeh, M., Naber, C. K., et al. (2011) Impact of hyperglycemia at admission in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction as assessed by contrast-enhanced MRI. *Clin. Res. Cardiol.*, 100(8), 649–659. doi: 10.1007/s00392-011-0290-7
- [15] Parkhomenko, O. M., Kornatzkiy, Yu. V., Kozhukhov, S. M., Guryeva, O. S., Lutay, Ya. M., & Irkin, O. I. (2013) Stresova hiperгликемія та акtyvatsiia systemnoho zapalennia yak skladovi rozvytku hostroi sertsevoi nedostatnosti u patsientiv iz hostrym infarktom miokarda z elevatsiieiu sehmenta ST i zberzhenoiu fraktsiieiu vykydu livoho shlunochka [Stress hyperglycemia and activation of systemic inflammation as a counterparts of the acute heart failure onset in patients with with ST-segment elevation acute myocardial infarction and preserved left ventricular ejection fraction]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 1(93), 158–163. [in Ukrainian].

- [16] Panova, E. I. (2009) Korrigiruemye i nekorrigiruemye faktory neblagopriyatnogo techeniya i otdalennykh iskhodov infarkta miokarda u bol'nykh sakharnym diabetom 2-go tipa [Correctable and non-corrective factors of unfavorable course and long-term outcome of myocardial infarction in patients with type 2 diabetes mellitus]. *Mezhdunarodnyj e'ndokrinologicheskij zhurnal*, 5(23) Retrieved from <http://www.mif-ua.com/archive/article/10078> [in Russian].
- [17] Alejnik, O. N. (2010) *Diastolicheskaya disfunkciya levogo zheludochka pri infarkte miokarda: aspekty optimizacii diagnostiki i lecheniya s uchetom displazii soedinite'noj tkani* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Left ventricular diastolic dysfunction in myocardial infarction: the aspects of optimization of diagnosis and treatment based on connective tissue dysplasia]. (Extended abstract of candidate's thesis). Stavropol'. [in Russian]
- [18] Poprygo, M. V., & Mardanov, B. U. (2015) Znachenie giperglikemii v ostrom periode infarkta miokarda: rezul'taty klinicheskogo issledovaniya [Features of the hospital course of myocardial infarction in patients with impaired glucose metabolism]. *Mezhdunarodnyj zhurnal serdca i sosudistykh zabolevanij*, 3(7), 31–38. [in Russian].

# The interrelationship between the cardiovascular remodeling indicators and the state of bone mineral density in women with coronary artery disease

N. S. Mykhailovska<sup>A,E,F</sup>, I. O. Stetsiuk<sup>\*B,C,D</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

**Objective.** To determine the peculiarities of the interrelationship between the cardiovascular remodeling indicators and the state of bone mineral density (BMD) in women with coronary artery disease (CAD).

**Methods.** A double open cross-sectional monocentric clinical study in parallel groups involved 115 women in postmenopausal period with coronary artery disease (CAD): stable exertional angina of II–III functional class. Depending on the BMD state they were divided into 3 groups: group 1 – 24 patients with normal BMD; group 2 – 34 patients with osteopenia; group 3 – 44 patients with osteoporosis. The BMD state was assessed with the help of ultrasound densitometry combined with FRAX algorithm. The structural and functional parameters of the heart and blood vessels were determined using the two-dimensional echocardiography and pulsed-wave Doppler imaging.

**Results.** It was established that in women with CAD there was a significant decrease in T- and Z-criteria and an increase in the 10-year risk of developing of osteoporosis fractures, depending on the severity of BMD loss. The presence of postmenopausal osteoporosis in women with coronary artery disease was associated with a significant increase in thickness of the intima-media complex of the right and left common carotid artery (by 14.94 % and 15.56 % respectively), LV PWd (by 9.26 %), and LV Myocardial stiffness index (by 40.00 %), decreased LV EF (by 8.77 %), development of the LV diastolic dysfunction by the type of the impaired relaxation (in 80.76 %), formation of predominantly concentric hypertrophy of LV (in 68.18 % of cases) and an increase in the incidence of LV eccentric hypertrophy compared to patients with normal BMD (11.36 % vs. 4.17 %;  $\chi^2 = 4.267$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ). In women with coronary artery disease and BMD abnormalities, the number of patients with heart valves calcification was significantly higher: 60.00 % in the group with osteopenia, 77.42 % in the group with osteoporosis in comparison with 28.58 % in the group with normal BMD; there was an increase in the incidence of calcinosis identification in two or more heart valves. The existence of a correlative dependence was established between T- and Z-criteria of the radial bone and LV EF ( $r = +0.42$ ;  $P < 0.05$ ), LV ESV ( $r = +0.61$ ;  $P < 0.05$ ), between Z-criteria of the radius, the 10-year risk of development of fractures of the radial bone and tibia and LAD ( $r = +0.43$ ;  $P < 0.05$ ;  $r = +0.50$ ;  $P < 0.05$  respectively), between the 10-year risk of the development of the tibial fractures and LVM ( $r = +0.58$ ;  $P < 0.05$ ).

**Conclusions.** Changes in the structural and functional parameters of the heart in women with coronary artery disease progress depending on the severity of BMD loss, which indicates the interrelationship of bone and cardiovascular remodeling.

## Key words:

myocardial ischemia, postmenopause, osteoporosis, bone density, arterial remodeling, correlation of data.

## Pathologia

2019; 16 (1), 53–59

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166296

## \*E-mail:

iryna.zsmu@gmail.com

## Взаємозв'язок показників кардіоваскулярного ремоделювання зі станом мінеральної щільності кісткової тканини в жінок з ішемічною хворобою серця

Н. С. Михайловська, І. О. Стецюк

**Мета роботи** – визначити особливості взаємозв'язку показників кардіоваскулярного ремоделювання зі станом мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) у жінок з ішемічною хворобою серця (ІХС).

**Матеріали та методи.** До подвійного відкритого, поперечного, моноцентрового клінічного дослідження в паралельних групах залучили 115 жінок у постменопаузальному періоді з діагнозом ІХС: стабільна стенокардія напруження II–III ФК. Залежно від стану МЩКТ пацієнток поділили на 3 групи: 1 група – 24 хворих із нормальними показниками МЩКТ, 2 група – 34 пацієнти з остеопенією, 3 група – 44 особи з остеопорозом. Стан МЩКТ вивчили за допомогою ультразвукової остеоденситометрії та алгоритму FRAX. Структурно-функціональні показники серця та судин визначали за допомогою двовимірної ехокардіоскопії та імпульсно-хвильової доплерографії.

**Результати.** У жінок з ІХС спостерігали вірогідне зниження T- та Z-критерію та збільшення 10-річного ризику розвитку остеопорозних переломів залежно від ступеня порушень МЩКТ. Наявність постменопаузального остеопорозу в жінок з ІХС асоційована з вірогідним збільшенням КІМ правої та лівої ЗСА (на 14,94 % та 15,56 % відповідно), ТЗСЛШ (на 9,26 %) та індексу жорсткості міокарда ЛШ (на 40,00 %), зниженням ФВ ЛШ (на 8,77 %), розвитком діастолічної дисфункції ЛШ за типом порушення релаксації (у 80,76 %), формуванням переважно концентричної гіпертрофії ЛШ (у 68,18 %) та збільшення частоти розвитку ексцентричної гіпертрофії ЛШ порівняно з хворими з нормальним станом МЩКТ (11,36 % проти 4,17 %;  $\chi^2 = 4.27$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.05$ ). Серед жінок з ІХС і порушеннями МЩКТ вірогідно переважала кількість хворих, які мають кальциноз клапанів серця: 60,00 % у групі з остеопенією, 77,42 % у групі з остеопорозом проти 28,58 % у групі з нормальними показниками МЩКТ; спостерігали збільшення частоти виявлення кальцинозу 2 і більше клапанів серця. Встановили наявність кореляційного взаємозв'язку між T- та Z- критерієм променевої кістки та ФВ ЛШ ( $r = +0.42$ ;  $p < 0.05$ ), КСР ЛШ ( $r = +0.61$ ;  $p < 0.05$ ), між Z-критерієм променевої кістки, 10-річним ризиком розвитку

## Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, постменопауза, остеопороз, кістки щільність, ремоделювання серця, взаємозв'язок.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 53–59

переломів променевої кістки й великогомілкової кісток та ЛПД ( $r = +0,43$ ;  $p < 0,05$ ;  $r = +0,50$ ;  $p < 0,05$  відповідно), між 10-річним ризиком розвитку переломів великогомілкової кістки та ММЛШ ( $r = +0,58$ ;  $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Зміни структурно-функціональних показників серця в жінок з ІХС прогресують залежно від ступеня виразності порушень МШКТ, що свідчить про взаємозв'язок кісткового та кардіоваскулярного ремоделювання.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, постменопауза, остеопороз, кости плотность, ремоделирование сердца, взаимосвязь.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 53–59

## Взаимосвязь показателей кардиоваскулярного ремоделювания с состоянием минеральной плотности костной ткани у женщин с ишемической болезнью сердца

Н. С. Михайловская, И. О. Стецюк

**Цель работы** – определить особенности взаимосвязи показателей кардиоваскулярного ремоделювания с состоянием минеральной плотности костной ткани (МПКТ) у женщин с ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Материалы и методы.** В двойное, открытое, поперечное, моноцентровое клиническое исследование в параллельных группах включены 115 женщин в постменопаузальном периоде с диагнозом ИБС: стабильная стенокардия напряжения II–III ФК. В зависимости от состояния МПКТ пациенток поделили на 3 группы: 1 группа – 24 больных с нормальными показателями МПКТ, 2 группа – 34 пациентки с остеопенией, 3 группа – 44 женщины с остеопорозом. Состояние МПКТ изучали при помощи ультразвуковой остеоденситометрии и алгоритма FRAX. Структурно-функциональные показатели сердца и сосудов определяли с помощью двумерной эхокардиоскопии и импульсно-волновой доплерографии.

**Результаты.** У женщин с ИБС наблюдали достоверное снижение T- и Z-критерия и увеличение 10-летнего риска развития остеопорозных переломов в зависимости от степени нарушений МПКТ. Наличие постменопаузального остеопороза у женщин с ИБС ассоциировано с достоверным увеличением КИМ правой и левой ОСА (на 14,94 % и 15,56 % соответственно), ТЗСЛЖ (на 9,26 %) и индекса жесткости миокарда ЛЖ (на 40,00 %), снижением ФВ ЛЖ (на 8,77 %), развитием диастолической дисфункции ЛЖ по типу нарушения релаксации (у 80,76 %), формированием преимущественно концентрической гипертрофии ЛЖ (у 68,18 %) и увеличением частоты развития эксцентрической гипертрофии ЛЖ по сравнению с больными с нормальным состоянием МПКТ (11,36 % против 4,17 %;  $\chi^2 = 4,27$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,05$ ). Среди женщин с ИБС и нарушениями МПКТ достоверно преобладало количество больных, имеющих кальциноз клапанов сердца: 60,00 % в группе с остеопенией, 77,42 % в группе с остеопорозом против 28,58 % в группе с нормальными показателями МПКТ; наблюдали увеличение частоты обнаружения кальциноза 2 и более клапанов сердца. Установлено наличие корреляционной взаимосвязи между T- и Z-критерием лучевой кости и ФВ ЛЖ ( $r = +0,42$ ;  $p < 0,05$ ), КСР ЛЖ ( $r = +0,61$ ;  $p < 0,05$ ), между Z-критерием лучевой кости, 10-летним риском развития переломов лучевой, большеберцовой костей и ЛПД ( $r = +0,43$ ;  $p < 0,05$ ;  $r = +0,50$ ;  $p < 0,05$  соответственно), между 10-летним риском развития переломов большеберцовой кости и ММЛШ ( $r = +0,58$ ;  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Изменения структурно-функциональных показателей сердца у женщин с ИБС прогрессируют в зависимости от степени выраженности нарушений МПКТ, что свидетельствует о взаимосвязи костного и кардиоваскулярного ремоделювания.

## Introduction

According to the World Health Organization (WHO), among the elderly people all over the world women predominate: their proportion at the age of 60 years and older is 54 %, at the age of 75 years and older – almost 60 %, and at the age of 90 years and older – about 70 %. Today, the proportion of elderly women is constantly increasing, which requires studying the health state of women in the postmenopausal period [1].

Menopause is an inalienable natural biological process which occurs in women of the average age of 50, and which is established after 12 months of nonpathological amenorrhea and characterized with a progressing deficiency of sex hormones [2]. Recently, it was considered that the natural level of sex hormones in women renders a cardioprotective effect. However, over the last decade, the views on the development of probable cardiovascular complications in women, especially in the postmenopausal period, have significantly changed [3]. Since the onset of menopause, which accelerates the development of dyslipidaemia, insulin resistance and obesity, the incidence of coronary artery disease in the female population significantly increases, equating, and in future even exceeding such in men [4].

Besides, in the menopause period, a decrease in bone mineral density with the further development of systemic osteoporosis is observed, which is characterized by negative changes of microarchitectonics and increased bone fragility and the increased risk of osteoporosis fractures [5,6]. In Ukraine, osteoporosis is observed in 13.4 % of female and in 2.9 % of male population. With age, the proportion of patients with osteoporosis increases up to 22.0 % in men and up to 53.0 % in women [7]. According to other national data, the prevalence of osteoporosis among the adult population of Ukraine is about 20–39 % in women and 9–23 % in men (depending on the region of residence), with a high risk of fractures – up to 10.7% [7]. According to dual-energy X-ray densitometry, 11 % of women in Ukraine have osteoporosis at the femoral neck level, 20 % and 24 % respectively – in the spinal column and forearm area. According to the International Osteoporosis Foundation, the number of Ukrainian women in postmenopausal period with osteoporosis and osteopenia is equal to 7 million (28 % of the total number of women) [7].

Today, in the older age groups, the combination of CAD with bone marrow pathology, in particular osteoporosis, is recognized more frequently [8]. A close interrelationship between BMD indices and cardiovascular

diseases risk has been proven [9,10]. In osteoporosis, as in atherosclerosis, the similar processes occur: key proteins of bone metabolism (in particular, osteocalcin, osteoprotegerin, bone morphogenic protein, matrix Gla protein, osteonectin, osteopontin, etc.) are detected in the components of the vascular matrix, and under the progression of atherosclerotic lesion of the heart and blood vessels, the concentration of some of them significantly increases [11–13]. Modern scientific data also provide the evidence of their participation in the development of cardiovascular remodeling [12].

Therefore, it is important to investigate the interrelationship between cardiovascular and bone remodeling in women with coronary artery disease, associated with postmenopausal osteoporosis in order to find common determinants of development and progression, as well as to develop differentiated approaches to diagnosing and treatment of this comorbidity.

## Objective

To determine the peculiarities of the interrelationship between the cardiovascular remodeling indicators and the BMD state in women with CAD.

## Materials and methods

A double open cross-sectional monocentric clinical study in parallel groups involved 115 women in the postmenopausal period with CAD: stable exertional angina of II–III functional class. Depending on the BMD state, all patients were divided into 3 groups: group 1 – 24 patients with normal BMD (T-criterion is more than -1 SD); group 2 – 34 patients with osteopenia (T-criterion is from -1 SD to -2.5 SD); group 3 – 44 patients with osteoporosis (T-criterion is less than -2.5 SD).

Criteria for the patient to be included into the study were the following: presence of verified (documented) stable exertional angina of II–III FC; the duration of the postmenopausal period in women for more than 5 years, informed consent of the patient. The exclusion criteria: diseases inducing the development of secondary osteoporosis; severe arterial hypertension, severe chronic somatic pathology; cancer, mental disorders and systemic diseases; alcohol abuse, drug addiction.

Angina pectoris was diagnosed according to the classification of the Canadian Association of Cardiologists. The BMD state was assessed according to WHO criteria (1994). The degree of BMD loss was evaluated according to the T-criterion (the standard deviations' value – SD from the mean values of the «peak bone mass») using the ultrasonic osteodensitometry method on the Omnisense 7000 apparatus with sensors for the phalanx of the finger, the radial and tibia bones. The FRAX algorithm was used to assess the 10-year risk of osteoporotic fractures development.

Two-dimensional echocardiography and pulse-wave dopplerography were performed at the Esaote MyLab 50 Xvision ultrasound scanner under the generally accepted practice according to ASE/EAE recommendations (2011). The following parameters were determined (sm): the size of the left atrium (LA-AP) and the aorta (Ao), the size

of the right atrium (RAD) and the right ventricle (RVD), the end-diastolic (EDD, sm), and the end-systolic sizes (ESD, sm) of the left ventricle (LV), the posterior wall thickness (LV PWd, sm), the interventricular septum thickness (IVSd). The end-diastolic volume (LV EDV, ml), end-systolic volume (LV ESV, ml) were calculated by the Simpson method (1991), the left ventricular ejection fraction (LV EF, %), the mass of the myocardium of the LV (LVM, g) were determined. Taking into account the individual constitutional features of patients, in determining the myocardial mass index (LVMI, g/m<sup>2</sup>), the indexing of the value to the surface area of the body was used. The myocardial stiffness index of the LV (LV Myocardial stiffness index, mm Hg/ml), (%) was determined according to E. I. Chazov (1992).

In order to assess the transmitral diastolic blood flow, the maximal velocity of the early (Ve, sm/sec) and late (Va, sm/sec) LV filling, their correlation (Ve/Va, units), the time of isovolumic relaxation of the LV (IVRT, ms) and the deceleration time of early diastolic filling (DT, ms) were determined. Evaluation of the types of LV remodeling was carried out according to the A. Ganau et al. classification (1992).

Quantitative and qualitative characteristics of the state of the intima-media complex (IMC) of the common carotid arteries (CCA) were evaluated under the ultrasound visualization in B-mode. An increase in the thickness of IMC greater than 0.9 mm was considered as a marker of atherosclerotic vascular damage.

In the following study the principles of bioethics were respected: the main provisions of the European Convention on Human Rights and Biomedicine (from 04.04.1997), GCP (1996), Helsinki Declaration of the World Medical Association on the Ethical Principles of Human Medical Scientific Research (1964–2000) and the Ministry of Health of Ukraine Order No. 281 dated back to 01.11.2000.

Statistical data processing was carried out by using the method of variation statistics with the help of software package "Statistica 13.0". (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J), under the generally accepted practice. The pattern of the distribution of the studied variables was assessed using the Shapiro-Wilk's criterion. Quantitative characteristics were represented as  $M \pm m$  (arithmetic mean  $\pm$  standard error of arithmetic mean) or Me ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ) (median, 25 and 75 distribution quartiles) depending on the type of data distribution. Under the normal distribution, the validity of the differences was estimated using the Student's t-criterion; under the distribution different from normal, Mann–Whitney's non-parametric U-criterion was used. The assessment of the interrelationship between pairs of independent indexes, expressed in quantitative scale, was performed by calculating Pearson rank correlation coefficients (under the normal distribution) and Spearman rank correlation coefficients (under the distribution different from normal). Comparison of groups on a qualitative basis, as well as in the study of the frequency of detection of indicators, was carried out using the criterion  $\chi^2$  with the analysis of conjugation tables. Differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## Results

The results of the assessment of the BMD state and the 10-year risk of osteoporotic fractures development in women with coronary artery disease in the postmenopausal period are presented in *Table 1*.

The presence of osteopenia or osteoporosis in

**Table 1.** BMD state in women with coronary artery disease in the postmenopausal period (M ± m)

Indicator, units of measurement	CAD (n = 24)	CAD + osteopenia (n = 34)	CAD + osteoporosis (n = 44)
T-criterion phalanx, SD	-0.17 ± 0.21	-1.39 ± 0.20***	-2.17 ± 0.22***
T-criterion radius, SD	-0.31 ± 0.26	-1.73 ± 0.16***	-3.15 ± 0.20***
T-criterion tibia, SD	0.13 ± 0.21	-0.78 ± 0.26***	-1.43 ± 0.31***
Z-criterion phalanx, SD	1.49 ± 0.24	0.35 ± 0.20***	-0.16 ± 0.21***
Z-criterion radius, SD	1.18 ± 0.33	-0.01 ± 0.19***	-1.13 ± 0.23***
Z-criterion tibia, SD	1.49 ± 0.21	0.69 ± 0.31*	0.25 ± 0.32***
Fracture risk (phalanx), %	4.24 ± 0.70	9.56 ± 1.20***	18.31 ± 2.53***
Fracture risk (radius), %	6.38 ± 0.96	12.68 ± 0.94***	32.48 ± 3.70***
Fracture risk (tibia), %	10.81 ± 1.10	12.18 ± 0.75	18.22 ± 1.58***

\*, \*\*, \*\*\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state (P < 0.05; P < 0.01; P < 0.001).

**Table 2.** Structural and functional parameters of heart and vessels in women with coronary artery disease in the postmenopausal period, depending on the degree of BMD loss, M ± m; Me (Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>)

Indicator, units of measurement	CAD (n = 24)	CAD + osteopenia (n = 34)	CAD + osteoporosis (n = 44)
IMC thickness of the right CCA, mm	0.87 ± 0.03	0.92 ± 0.03	1.00 ± 0.02*
IMC thickness of the left CCA, mm	0.90 ± 0.03	0.96 ± 0.03	1.04 ± 0.03*
Ao, sm	2.10 (1.9; 2.6)	2.10 (1.9; 2.6)	2.10 (1.90; 2.40)
LA-AP, sm	4.10 (3.70; 4.40)	3.95 (3.60; 4.30)	3.90 (3.60; 4.30)
LV EDD, sm	4.91 (4.75; 5.15)	5.00 (4.80; 5.20)	4.80 (4.60; 5.00)
LV EDV, ml	115.00 (98.00; 121.00)	115.00 (104.00; 126.00)	117.00 (99.00; 122.00)
LV ESD, sm	3.00 (2.97; 3.20)	3.04 (2.80; 3.40)	2.99 (2.20; 4.70)
LV ESV, ml	43.50 (36.00; 47.00)	47.00 (39.00; 52.00)	50.00 (45.00; 60.00)*
LV Myocardial stiffness index, mm Hg/ml	0.10 (0.10; 0.13)	0.12 (0.07; 0.14)	0.14* (0.13; 0.18)
IVSd, sm	1.11 (1.06; 1.23)	1.12 (1.01; 1.18)	1.14 (1.10; 1.20)
LV PWd, sm	1.08 (1.02; 1.18)	1.15 (1.03; 1.20)	1.18 (1.10; 1.20)*
LV EF, %	62.00 (57.50; 63.00)	58.00 (54.00; 62.00)	57.00 (49.00; 61.00)*
LVM, g	216.00 (194.00; 227.00)	217.00 (170.00; 242.00)	222.00 (198.00; 250.00)
LVMI, g/m <sup>2</sup>	107.50 (87.00; 115.00)	113.00 (96.00; 130.00)	112.00 (106.00; 129.00)
RVD, sm	3.00 (2.40; 3.30)	2.70 (2.60; 3.10)	2.80 (2.50; 3.10)
RAD, sm	4.40 (3.85; 4.40)	4.00 (3.70; 4.30)	4.10 (3.70; 4.30)

\*, \*\*, \*\*\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state (P < 0.05; P < 0.01; P < 0.001).

**Table 3.** Indices of transmitral blood flow in CAD women, depending on the degree of BMD loss (M ± m)

Indicator, units of measurement	CAD (n = 24)	CAD + osteopenia (n = 34)	CAD + osteoporosis (n = 44)
Ve/Va	0.94 ± 0.06	0.87 ± 0.04	0.83 ± 0.04
IVRT, ms	76.71 ± 3.07	78.94 ± 2.72	80.57 ± 1.90
DT, ms	160.00 ± 8.28	188.53 ± 8.14*	193.64 ± 6.38*

\*, \*\*, \*\*\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state (P < 0.05; P < 0.01; P < 0.001).

the corresponding group was verified by a significant decrease in T- and Z-criteria and an increase in the 10-year risk of osteoporosis fractures development.

The peculiarities of cardiovascular remodeling in women with coronary artery disease, depending on the degree of BMD loss are presented in *Table 2*.

In the CAD and osteopenia group the mean value of the IMC thickness of the left and right CCA tended to increase, while in the CAD and osteoporosis group it significantly exceeded the corresponding indices in the CAD and normal BMD group by 14.94 % and by 15.56 % (P < 0.05). At the same time, in women with CAD and postmenopausal osteoporosis, a larger number of patients showed the increase in the IMC thickness: 88.33% vs. 30.00% in the group of women with normal BMD ( $\chi^2 = 6.42$ ; df = 1; P < 0.05).

The structural and functional parameters of the heart in women with CAD and osteopenia did not demonstrate a significant difference, if compared to the women with normal BMD, but LV ESV, LVMI, LV PWd parameters tended to increase, and LV EF tended to decrease if compared to the women with normal BMD. In women with CAD, combined with postmenopausal osteoporosis, there was a tendency to the increase in LV EDV, the IVSd thickness and the LVMI, and a significant increase in the LV PWd by 9.26 % and in the LV ESV by 14.94 % (P < 0.05), which indicates a greater degree of LVH in this category of patients. In patients with postmenopausal osteoporosis, an increase in the LV Myocardial stiffness index by 40.00 % was observed, if compared to the CAD and normal BMD group (P < 0.05). In patients with CAD, combined with postmenopausal osteoporosis, in contrast to the CAD and normal BMD group, the LV EF significantly decreased by 8.77 % (P < 0.05).

Distribution of types of LV geometric model in women with CAD, depending on the degree of BMD loss is presented in *Fig. 1*.

It has been established that the most prognostically unfavorable type of cardiac remodeling, which is the LV eccentric hypertrophy, was observed in 11.36 % patients in the CAD and osteoporosis group, the proportion of concentric hypertrophy was 68.18%, concentric remodeling occurred in 13.63 %; 6.82 % of patients had a normal LV geometry. In the group of patients with coronary artery disease and osteopenia, eccentric hypertrophy was estimated in 8.82% of patients, concentric hypertrophy – in 64.71 %, concentric remodeling – in 11.76 %, normal geometry – in 14.71 % of patients. In the group of patients with coronary heart disease without BMD disorders eccentric hypertrophy was found only in 4.17 % of patients, LV concentric hypertrophy – in 70.83 % of patients, while concentric remodeling was registered in 12.50 %, and the normal LV geometry was in 12.50 % of cases.

Therefore, in patients with CAD, combined with postmenopausal osteoporosis, the significantly larger number of patients had an eccentric hypertrophy of LV if compared to the patients with normal BMD ( $\chi^2 = 4.27$ ; df = 1; P < 0.05).

Indices of transmitral blood flow in women in the postmenopausal period with CAD, depending on the degree of BMD loss are presented in *Table 3*.

Regarding the indices of transmitral blood flow in



women with CAD and BMD disorders, the  $V_e/V_a$  ratio tended to decrease and isovolumic relaxation time of LV lengthening was observed if compared to the patients with CAD and normal BMD, which indicated an impairment of the lusitropic function of the heart. The DT in patients with bone structure changes was significantly longer than the same index in the group of patients with CAD without BMD loss: by 17.83 % - in the group with CAD and osteopenia, by 21.03 % - in the group with CAD and osteoporosis ( $P < 0.05$ ).

In women with CAD, an increase in the incidence of LV diastolic dysfunction was observed, depending on the degree of BMD loss (Fig. 2).

As it was shown in Fig. 2, the diastolic dysfunction of the left ventricle, was observed more frequently with the progression of BMD loss: in 80.76 % of women with CAD and osteoporosis ( $\chi^2 = 5.96$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ); in 74.07 % of CAD and osteopenia patients ( $\chi^2 = 3.87$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ) versus 42.86 % of patients with normal bone turnover rate. No significant difference was observed between the groups considering the type of diastolic dysfunction: in all groups of patients the prevalence of diastolic dysfunction of impaired relaxation type was observed (in 100.00 % - in the group of CAD patients, in 96.30 % - in the group of patients with coronary artery disease with osteopenia, in 96.15 % in the group of patients with coronary artery disease with osteoporosis).

In order to investigate the peculiarities of cardiovascular remodeling in patients with coronary artery disease, the presence or absence of calcinosis of the valves of the heart and large vessels was determined, which suggests an increase in the incidence of ectopic calcification in patients with coronary artery disease with BMD disorders (Fig. 3).

As it was shown in Fig. 3, in the groups with BMD disorders, the number of patients with calcinosis of the valves of the heart and large vessels was significantly higher: 60.00 % in the group with osteopenia ( $\chi^2 = 3.77$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ); 77.42% in the group with osteoporosis ( $\chi^2 = 9.79$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ) versus 28.58 % in the group with normal BMD. Under the progression of BMD, an increase in the number of patients with coronary artery disease, with two or more valves calcinosis was observed, which was maximal in the group with osteoporosis: 45.16 % ( $\chi^2 = 6.10$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.05$ ) versus 21.43 % in group with normal BMD.

Under the conduction of the correlation analysis in the group of women with coronary heart disease and osteoporosis, a direct correlative interdependence between the T-and Z-criterion of the radial bone and the LV EF ( $r = +0.42$ ;  $P < 0.05$ ), between the 10-year risk of fracture of the phalanx and the RAD ( $r = +0.50$ ;  $P < 0.05$ ), between the Z-criterion of the radial bone and the LV ESD ( $r = +0.61$ ;  $P < 0.05$ ), between the 10-year risk of fracture of the radial and tibia bone and the LA-AP ( $r = +0.43$ ;  $P < 0.05$ ;  $r = +0.50$ ;  $P < 0.05$  correspondingly), the LVM ( $r = +0.58$ ;  $P < 0.05$ ) was discovered. In the group of women with coronary artery disease and osteopenia, a direct correlative dependence between the Z-criterion of the radial bone and the LV ESV ( $r = +0.61$ ;  $P < 0.05$ ), the LV EDV ( $r = +0.63$ ,  $P < 0.05$ ), between the Z-criterion

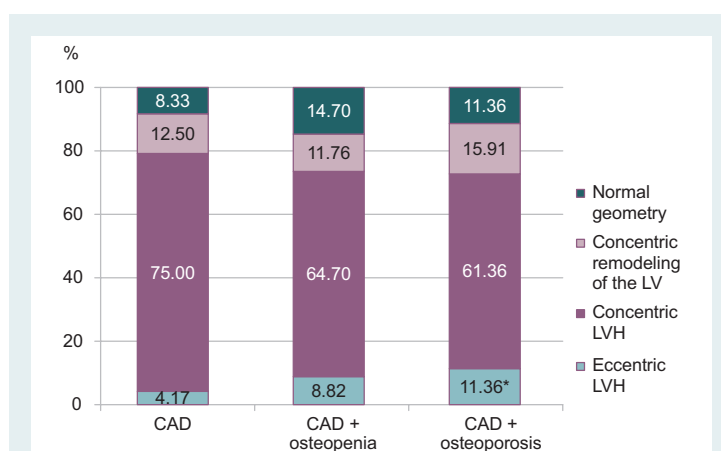


Fig. 1. Distribution of types of LV geometric model in women with CAD, depending on the degree of BMD loss.

\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state, according to the  $\chi^2$  criterion ( $P < 0.05$ ).

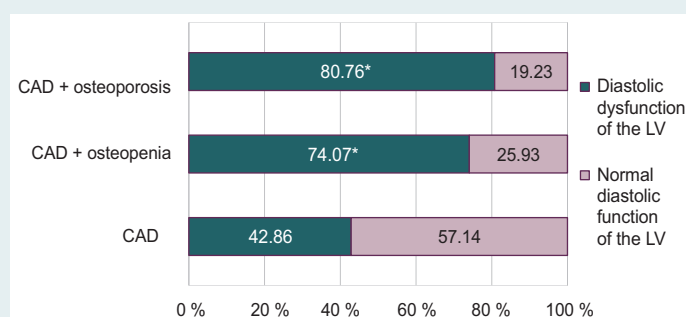


Fig. 2. Frequency of LV diastolic dysfunction in women with coronary artery disease, depending on the degree of BMD loss according to the echocardiography data.

\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state, according to the  $\chi^2$  criterion ( $P < 0.05$ ).

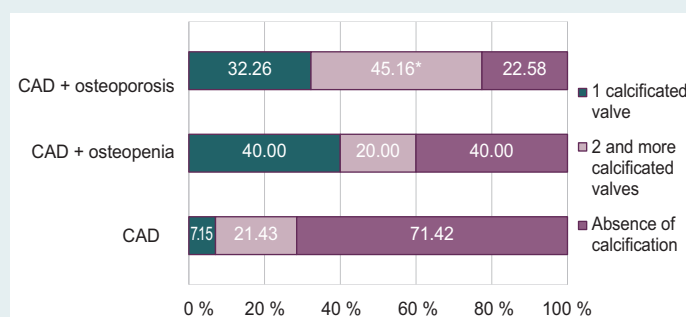


Fig. 3. Frequency of registration of calcinosis of the valves of the heart and large vessels in women with coronary artery disease, depending on the degree of BMD loss according to the echocardiography data.

\*: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state, according to the  $\chi^2$  criterion ( $P < 0.05$ ).

of the tibia and the diameter of the aorta ( $r = +0.46$ ;  $P < 0.05$ ), the inverse correlative dependence between the LVM and T-criterion of the tibia ( $r = -0.75$ ;  $P < 0.05$ ), the Z-criterion of the radial bone ( $r = -0.64$ ;  $P < 0.05$ ), the Z-criterion of the tibia ( $r = -0.73$ ;  $P < 0.05$ ) was found out.

Thus, the obtained data confirm the relationship between the BMD state and the indicators of cardiovascular remodeling in women with CAD.

## Discussion

In our study, in the group with CAD and postmenopausal osteoporosis, an increase in the IMC thickness was observed, a tendency to an increase in the LV EDV, the IVSd thickness and the LVMI, and a significantly higher thickness of the LV PWd and the LV ESV if compared to the patients with normal BMD was discovered, which indicates a greater degree of left ventricular hypertrophy, which leads to a significant increase in the LV Myocardial stiffness index. It should be noted that in women with CAD in the postmenopausal period in the structure of LV myocardial remodeling concentric hypertrophy was dominating, however, in the presence of concomitant postmenopausal osteoporosis, the frequency of development of eccentric hypertrophy of the myocardium as a predictor of disadaptive remodeling increases. The obtained data confirm the results of the research by Tsarenok S. Yu. (2017), who noted that the presence of osteoporosis in postmenopausal CAD patients is associated with an increase in the parameters of structural and geometric remodeling of the heart with predominance of the remodeling by the type of concentric LV hypertrophy [14].

In women with CAD, in parallel with the decrease in BMD state, grade 1 diastolic dysfunction of the left ventricle was more common, which was verified by the  $V_e/V_a$  ratio tendency to decrease and LV isovolumic relaxation time slowdown lengthening, the significant DT increase if compared to the patients with CAD and normal BMD state. The data obtained coincide with the results of Wang R. et al. (2016) [15]. Thus, in the Wang's study, BMD loss was identified as an independent predictor of LV diastolic dysfunction, which can be explained by the effect of chronic inflammation with the hyperproduction of cytokines, growth factors, prostanoids, nitric oxide, and the development of oxidative stress in the combination with the endothelial dysfunction [15].

In the groups with BMD disorders, the number of patients who had calcinosis of two or more valves was significantly higher, and it was maximal in the group with osteoporosis. The studies of other authors also showed a link between calcification of the valves of the heart, coronary and peripheral arteries, and a decrease in BMD [13, 16–18], which can be explained by excessive activation of specific proteins (osteoprotegerin, osteocalcin), which leads not only to bone mineralization abnormalities, but also to the formation of ectopic calcification.

Thus, the obtained results confirm the existing scientific data on the presence of general pathogenetic mechanisms between the interruption of osteogenesis, the progression of cardiovascular remodeling and the development of heart valve calcinosis in women with CAD in the postmenopausal period.

## Conclusions

1. The development of postmenopausal osteoporosis in women with CAD is associated with a likely increase in the IMC of the left and right CCA (by 14.94 % and 15.56 % respectively), in the LV PWd (by 9.26 %), and in the LV Myocardial stiffness index (by 40 %), with a decrease in the LV EF (by 8.77 %). In women with CAD and osteopenia there was a similar directivity of cardioghemody-

namic disorders, which have not reached the statistical significance level.

2. In women with CAD and postmenopausal osteoporosis, in the structure of LV myocardial remodeling concentric hypertrophy (68.18 %) and grade I diastolic dysfunction (80.76 %) were dominating, however, the increase of incidence of eccentric LV hypertrophy was observed if compared to the patients with normal BMD (11.36 % vs. 4.17 %;  $P < 0.05$ ).

3. In women with CAD and BMD disorders, a significantly higher number of patients with calcinosis of heart valves was observed: 60.00 % in the group with osteopenia, 77.42 % with osteoporosis compared with 28.58 % in the group with normal BMD; an increase in the incidence of calcinosis in two or more heart valves was also discovered.

4. The peculiarities of changes in the structural and functional parameters of the heart in women with CAD depend on the degree of BMD disorders, which indicates the presence of an interrelationship between bone and cardiovascular remodeling and is confirmed by the corresponding data of the correlation analysis.

**Prospects for further research:** to assess the dynamics of cardiovascular remodeling indicators in women with CAD and postmenopausal osteoporosis under the influence of complex treatment is the prospect of further research.

## Funding

The research was carried out within the scientific research work plan of the Zaporizhzhia State Medical University on the topic: "Clinical and pathogenetic, prognostic and treatment and diagnostic aspects of cardiovascular pathology with different comorbid states" (State registration number 0118U007138).

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

Надійшла до редакції / Received: 25.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 25.03.2019

## Information about authors:

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. ORCID ID: 0000-0001-6781-9406

Stetsiuk I. O., MD, PhD Student of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. ORCID ID: 0000-0002-3698-0181

## Відомості про авторів:

Михайловська Н. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. Стецюк І. О., аспірант каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Михайловская Н. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Стецюк И. О., аспирант каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] de Villiers, T., & Tatarчук, T. F. (2016) Natsionalnyi konsensus shchodo vedennia patsientok u klimakterii [National consensus on the management of patients in menopause]. *Reproductywna endokrynolohia*, 1(27), 8–25. [in Ukrainian]. doi: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2016.27.8-25>
- [2] Davis, S. R., Lambrinoudaki, I., Lumsden, M., Mishra, G. D., Pal, L., Rees, M., et al. (2015) Menopause. *Nature Reviews Disease Primers*, 1, 15004. doi: 10.1038/nrdp.2015.4
- [3] Mitchenko, O. I., & Illiushyna, H. Ya. (2016) Rannia menopauza yak spetsyfichnyi faktor sertsevo-sudynnoho ryzyku v zhinko [Early menopause as a specific risk factor for cardiovascular risk in women]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 3, 85–90. [in Ukrainian].
- [4] Mitchenko, O. I., Mamedov, M. N., Kolesnik, T. V., Deev, A. D., Romanov, V. Yu., & Ilyushina, G. Y. (2015) Osoblyvosti poshyrenosti chynnykiv sertsevo-sudynnoho ryzyku v zhinko zalezno vid naiavnosti menopauzy [Features of cardiovascular risk factors in women depending on menopause]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 4, 96–102. [in Ukrainian].
- [5] Pasieshvilii, L. M. (2015) Osteoporoz – bezmolvnyi kostnyj vor [Osteoporosis is silent bone "Thief"]. *Skhidnoievropeyskyi zhurnal vnutrishnoi ta simeinoi medytsyny*, 1, 16–24. [in Russian].
- [6] Golovach, I. Yu. (2018) Sovremennaya strategiya diagnostiki i dolgovremennogo lecheniya postmenopausal'nogo osteoporozu [Modern strategy of diagnostics and long-term treatment of postmenopausal osteoporosis]. *Ukrainskyi revmatologichnyi zhurnal*, 2(72), 9–16. [in Russian].
- [7] Barna, O., Golovach, I., Pogrebnyak, O., Korost, Ya., Pekhenko, V., Alifer, O., & Lotushko, V. (2017) Otsinka stanu kistkovoї tkanyny za pokaznykamy UZ densytmetrii u vikovomu aspekti (doslidzhennia SKELET) [Evaluation of the bone tissue state in terms of ultrasound densitometry in the age aspect (SKELET research)]. *Liky Ukrainy*, 8(214), 65–70. [in Ukrainian].
- [8] Bugrim, T. V. (2014) Suchasni pidkhody do diahnostryky osteoporozu ta ishemichnoi khvoroby serdtsia v zhinko u pislia menopauzal'nomyi periody v umovakh pervynnoi medyko-sanitarnoi dopomohy [Modern approaches to diagnostics of osteoporosis and ischemia in women after menopause under conditions of primary medical and sanitary aid]. *Medychni perspektvy*, 19(1), 77–81. [in Ukrainian].
- [9] Nishkumay, O. I. (2016) Kaltsyfikatsiia sudyn, ateroskleroz i osteoporoz: chy ye vzaiemozviazok? [Calcification of blood vessels, atherosclerosis and osteoporosis: is there a relationship?]. *Sertse i sudyny*, 1, 107–112. [in Ukrainian].
- [10] Ahmadi, N., Mao, S. S., Hajsadeghi, F., Arnold, B., Kiramijyan, S., Gao, Y., et al. (2018) The relation of low levels of bone mineral density with coronary artery calcium and mortality. *Osteoporos. Int.*, 29(7), 1609–1616. doi: 10.1007/s00198-018-4524-7
- [11] Malyuta, E. B., Raskina, T. A., Barbarash, O. L., Kokov, A. N., Masenko, V. L., & Voronkina, V. A. (2014) Vzaimosvyaz' osteopenicheskogo sindroma i porazheniya koronarnykh arterij u muzchin s ishemicheskoy bolezn'yu serdca [Relationship between the osteopenic syndrome and coronary artery disease in male patients with ischemic heart disease]. *Sovremennaya revmatologiya*, 8(1), 18–22. [in Russian].
- [12] Zhang, H., Wang, L. J., Si, D. L., Wang, C., Yang, J. C., Jiang, P., et al. (2015) Correlation between osteocalcin-positive endothelial progenitor cells and spotty calcification in patients with coronary artery disease. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 42(7), 734–9. doi: 10.1111/1440-1681.12366
- [13] Mykhailovska, N. S., & Stetsiuk, I. O. (2018) The indicators of the bone tissue mineralization abnormalities in women with coronary artery disease in the post-menopausal period. *Pathologia*, 15, 2(43), 136–141. doi: 10.14739/2310-1237.2018.2.141408
- [14] Tsarenok, S. Yu. (2017) Strukturno-funkcional'nye izmeneniya miokarda u zhenshchin s osteoporozom v sochetanii s ishemicheskoy bolezn'yu serdca [Structural and functional changes of myocardium in women with osteoporosis in combination with ischemic heart disease]. *Klinitsist*, 11(3–4), 50–58. doi: 10.17650/1818-8338-2017-11-3-4-50-58 [in Russian].
- [15] Wang, R. T., Li, X. S., Zhang, J. R., Sun, Y., Yu, K. J., & Liu, T. (2016) Bone mineral density is associated with left ventricular diastolic function in women. *Clinical Cardiology*, 39(12), 709–714. doi: 10.1002/clc.22592
- [16] Sagalovsky, S., & Richter, T. (2016) Kal'cifkatsiya sosudov i osteoporoz: ot ponimaniya edinstva kletочно-molekulyarnykh mekhanizmov k poisku molekul kak potencial'nykh mishenej terapii [Vascular calcification and osteoporosis: from understanding common cellular and molecular mechanisms to search molecules as potential therapeutic targets]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 1, 81–92. [in Russian].
- [17] Tanna, N., Patel, K., Moore, A. E., Dulnoan, D., Edwards, S., & Hampson, G. (2017) The relationship between circulating adiponectin, leptin and vaspin with bone mineral density (BMD), arterial calcification and stiffness: a cross-sectional study in post-menopausal women. *J. Endocrinol. Invest.*, 40(12), 1345–1353. doi: 10.1007/s40618-017-0711-1
- [18] Xu, R., Cheng, X. -C., Zhang, Y., Lai, H. -M., & Yang, H. -N. (2018) Association of Severity of Coronary Lesions with Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 110(3), 211–216. doi: 10.5935/abc.20180035

## Зв'язок рівня морфологічного диференціювання та метаболічної активності плоскоклітинних карцином орофарингеальної ділянки за даними позитронно-емісійної томографії

М. Тиш<sup>1,A</sup>, А. В. Лисак<sup>\*2,B,C,D</sup>, О. О. Дядик<sup>3,E,F</sup>

<sup>1</sup>Госпіталь Бундесверу, Клініка та поліклініка отоларингології, хірургії голови та шиї, пластичної хірургії, алергології, м. Ульм, ФРН,  
<sup>2</sup>Патологоанатомічна лабораторія Національного військово-медичного клінічного центру «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ, Україна, <sup>3</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П. А. Шупика, м. Київ, Україна

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

### Ключові слова:

новоутворення ротової порожнини, карцинома, метаболізм.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 60–66

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166300

\*E-mail: lisak-a@i.ua

Нині верифікація та визначення ступеня злоякісності пухлин орофарингеальної ділянки є актуальним діагностичним завданням у випадку морфологічної диференціації та водночас складним викликом щодо прогнозу перебігу захворювання за клінічними даними в кожному індивідуальному випадку.

**Мета роботи** – порівняння рівня гістологічного диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони та їх метаболічної активності за даними позитронно-емісійної томографії для оптимізації передопераційного визначення ступеня диференціювання пухлин. Визначення метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки шляхом позитронно-емісійної томографічної діагностики та їх порівняння з гістологічною диференціацією біопсійного та операційного матеріалу.

**Матеріали та методи.** З 1 травня 2012 р. до 1 січня 2015 р. на базі військового госпіталю Бундесверу (м. Ульм, ФРН) дослідили 121 випадок сквамозноклітинних карцином орофарингеальної ділянки з передопераційним використанням позитронно-емісійної томографічної (ПЕТ) діагностики. Вивчили залежність між накопиченням 2-фтор-[18F]-2-дезоксид-глюкози та певними гістологічними критеріями. У дослідженні оцінювали рівень диференціювання за методикою Anneroth et al., 1987 і Bruyne et al., 1992.

**Результати.** Після підбору та перегляду біопсійного та операційного матеріалу залежно від рівня морфологічного диференціювання пухлин пацієнтів поділили на три основні групи. У першій, до якої належать високодиференційовані G1 пухлини, 22 пацієнти, у групі 2 – помірно диференційовані G2 – 45, у групі 3 – низькодиференційовані G3 – 54 особи. Усі ці групи описали морфологічно.

Надалі у групах виконали оцінювання результатів ПЕТ за показником  $SUV_{max}$ . Порівнюючи показники, виявили статистично важливу відмінність між групами ( $p < 0,001$  за критерієм Краскала–Уолліса для всіх показників). Отже, зі зменшенням Me рівня диференціації  $SUV_{max}$  пухлин суттєво ( $p < 0,05$ ) збільшується, а зростання  $SUV_{max}$  вказує на збільшення ступеня злоякісності пухлин.

**Висновки.** Встановили статистично значущий взаємозв'язок  $SUV_{max}$  та рівня морфологічної диференціації сквамозноклітинних карцином орофарингеальної ділянки. Продемонстрована можливість використання методу ПЕТ-діагностики як вірогідного критерію оцінювання рівня диференціювання пухлин, зокрема складних сквамозноклітинних карцином орофарингеальної ділянки.

### Ключевые слова:

новообразования ротовой полости, карцинома, метаболізм.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 60–66

## Связи уровня морфологической дифференцировки и метаболической активности плоскоклеточных карцином орофарингеального участка по данным позитронно-эмиссионной томографии

М. Тиш, А. В. Лысак, О. О. Дядык

На сегодня верификация и определение степени злокачественности опухолей орофарингеальной области остается актуальным диагностическим заданием в случае морфологической дифференцировки и сложным вызовом в плане прогноза течения по клиническим данным в каждом индивидуальном случае.

**Цель работы** – сравнение уровня гистологического дифференцирования плоскоклеточных карцином орофарингеальной зоны и их метаболической активности по данным позитронно-эмиссионной томографии для оптимизации предоперационного уровня дифференцировки опухолей. Определение метаболической активности опухолей орофарингеального участка за счет позитронно-эмиссионной томографической диагностики и их сравнения с гистологической дифференцировкой в биопсийном материале.

**Материалы и методы.** С 1 мая 2012 г. до 1 января 2015 г. на базе военного госпиталя Бундесвера (г. Ульм, ФРГ) исследовали 121 случай сквамозноклеточных карцином орофарингеального участка с предоперационным использованием позитронно-эмиссионной томографической (ПЭТ) диагностики. Изучена зависимость между накоплением 2-фтор[18F]-2-дезоксид-глюкозы и определенными гистологическими критериями. В исследовании оценивали уровень дифференцировки по методике Anneroth et al., 1987 и Bruyne et al., 1992.

**Результаты.** После подбора и просмотра биопсийного и операционного материала в зависимости от уровня морфологической дифференцировки опухолей пациентов поделили на три основные группы. В первой, в которую входят высокодифференцированные G1 опухоли – 22 пациента, в группе 2 – умеренно дифференцированные G2 – 45, в группе 3 – низкодифференцированные G3 – 54 больных. Все группы морфологически описаны.

В дальнейшем в группах оценили результаты ПЭТ по показателю SUV<sub>max</sub>. Сравнивая показатели, обнаружили статистически значимую разницу между группами ( $p < 0,001$  по критерию Краскела–Уоллиса для всех показателей). С уменьшением Me уровня дифференциация SUV<sub>max</sub> опухолей значительно увеличивается ( $p < 0,05$ ), а рост SUV<sub>max</sub> свидетельствует об увеличении степени злокачественности опухолей.

**Выводы.** В результате исследования установлена статистически значимая взаимосвязь SUV<sub>max</sub> и уровня морфологической дифференциации сквамозноклеточных карцином орофарингеального участка. Продемонстрирована возможность использования метода ПЭТ-диагностики как возможного критерия оценки уровня дифференцировки опухолей, в том числе сложных сквамозноклеточных карцином орофарингеального участка.

## Relations of the level of morphological differentiation and metabolic activity of squamous carcinomas of oropharyngeal areas according to positron emission tomography

M. Tisch, A. V. Lysak, O. O. Diadyk

Today verification and grading of oropharyngeal tumors, determination of their malignant potential remain an actual problem both in diagnostics and in predicting the growth of tumors.

**The aim** of the study was to determine the metabolic activity of the oropharyngeal tumors due to positron emission tomographic diagnosis and comparison with the morphological (histological) pattern.

**Materials and methods.** From May 1, 2012 to January 1, 2015, on the basis of the military hospital of Bundeswehr in Ulm, we investigated 121 cases of squamous-cell carcinoma of the oropharyngeal area with preoperative use of positron emission tomographic (PET) diagnostics. We have studied the relationship between the accumulation of 2-fluoro [18F] -2-deoxy-D-glucose and certain morphological criteria. The study assessed the level of differentiation according to the method of Anneroth et al., 1987 and Bryne et al., 1992.

**Results.** After selecting and viewing the biopsy and surgical material, depending on the level of morphological differentiation of the tumors, the patients were divided into three main groups. In the first, which includes highly differentiated – G1 tumors – 22 patients, in group 2, in contrast to G2 – 45 and in group 3, poorly differentiated G3 – 54. We have morphologically described all these groups.

Later in the groups, PET results were evaluated according to the SUV<sub>max</sub> index. Comparing the indices, a statistically significant difference was found between the groups ( $P < 0.001$  by the Kruskal–Wallis criterion for all indicators). So, as the level of Me decreases, the differentiation of SUV<sub>max</sub> tumors significantly ( $P < 0.05$ ) increases, and the growth of SUV<sub>max</sub> indicates an increase in the degree of malignancy of the tumors.

**Conclusions.** On the basis of the conducted research, a statistically visible relationship between the SUV<sub>max</sub> and the level of morphological differentiation of squamous carcinomas of the oropharyngeal area was established. The possibility of using the method of PET diagnostics as a possible criterion for assessing the level of differentiation of tumors, including complex squamous carcinomas of the oropharyngeal area, has been demonstrated.

### Key words:

mouth neoplasms, carcinoma, metabolic process.

### Pathologia

2019; 16 (1), 60–66

Стрімкий розвиток медицини зумовлює необхідність суттєвих змін у діагностиці новоутворень людини. Недостатньо діагностувати наявність пухлини, необхідно чітко розуміти її анатомічну локалізацію та рівень злоякісності. Якщо з встановленням локалізації за допомогою позитронно-емісійної томографії (ПЕТ) і комп'ютерної томографії (КТ) питання визначене, то з рівнем диференціювання залишається відкритим. КТ – неінвазійний, найбільш поширений метод дослідження що має суттєві обмеження щодо точності встановлення діагнозу. ПЕТ – неінвазійний метод, що надає інформацію не тільки про розмір, локалізацію пухлини, але й метаболічну активність. Така характеристика дає можливість на передопераційному етапі прогнозувати рівень диференціювання пухлини з вибором тактики лікування. Якщо обрано консервативний метод лікування, ПЕТ дає можливість оцінити його результати. Деякі вчені відзначають закономірність між рівнем метаболічної активності (накопиченням 2-фтор-[18F]-2-дезоксид-глюкози) та рівнем диференціювання пухлини. Однак закономір-

ність ПЕТ-результатів і рівня злоякісності пухлин орофарингеальної ділянки вірогідно не підтверджена та потребує вивчення надалі [1–9].

ПЕТ-метод базується на тому, що радіоактивні ізотопи беруть участь у фізіологічних процесах в організмі так само, як і нерадіоактивні. Нині найбільшого поширення набула 18-Ф фтордезоксиглюкоза, що метаболізується як звичайна глюкоза, період напіврозпаду цієї сполуки становить 110 хвилин. Цього часу вистачає, щоб розчин розчинився в рідині організму та частково накопичився в тканинах організму, які найбільше споживають глюкозу. Під час розпаду ізотопу відбувається вивільнення енергії як вільного позитрона, шлях якого у тканинах становить 3–4 мм і завершується зіткненням з електроном із вивільненням двох гамма-квантів або фотонів енергії 511 кЕв кожен, що завжди розлітаються під кутом  $180,0 \pm 0,4^\circ$ . Датчики, що розташовані навколо пацієнта, уловлюють фотони та реєструють, за допомогою математичної обробки можна встановити кількість і точне розташування місця розпаду ізотопів, а отже і пухлини [10–12].

Уперше описав цей метод Георг де Гевеші в 1923 р. на бобових, які він занурював у розчин солей свинцю, частина з них включала радіоактивний ізотоп. Після цього учений спостерігав за розподілом радіоактивного ізотопу в рослині за допомогою лічильника Гейгера [13].

Якщо інші методи діагностики: ультразвукове дослідження, рентгенографія, магнітно-резонансна томографія та комп'ютерна томографія – досліджують структурні зміни, що вже відбулися у процесі хвороби, то при ПЕТ досліджують процеси, які передують анатомічним змінам та є їхньою причиною [14].

Методика має переваги: високі чутливість і специфічність, розчин є біологічно активним, не впливає на досліджувані процеси, не має токсичного впливу.

Метаболічна активність будь-якого новоутворення – важлива складова діагностики, оцінювання рівня диференціювання пухлин. Рівень метаболічної активності відіграє величезну роль у лікуванні хворих на рак [15–18].

## Мета роботи

Порівняння рівня гістологічного диференціювання плоскоклітинних карцином орофарингеальної зони та їхньої метаболічної активності за даними позитронно-емісійної томографії для оптимізації передопераційного визначення ступеня диференціювання пухлин. Визначення метаболічної активності пухлин орофарингеальної ділянки шляхом позитронно-емісійної томографічної діагностики та порівняння їх із гістологічною диференціацією біопсійного та операційного матеріалу.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на базі патологоанатомічного та діагностичного відділень військового госпіталю Бундесверу (м. Ульм, ФРН). Взяли матеріали 121 пацієнта зі сквамозноклітинною карциномою орофарингеальної ділянки, які отримували лікування в госпіталі з 1 травня 2012 р. до 1 січня 2015 р.

Середній вік пацієнтів (медіанне значення) – 65 років (35–95 років), серед них 101 чоловік (83,5 %) і 20 жінок (16,5 %). Усім пацієнтам з діагностичною метою передопераційно виконали ПЕТ/КТ дослідження на апараті Philips Gemini PET/CT-System series C. Для визначення рівня диференціювання карцином використали класифікацію за Anneroth et al., 1987 і Bryne et al. [19].

Гістологічні зрізи завтовшки 4 мкм виконували на ротаційному мікротомі HM 355S, Section-Transfer-System, Walldorf. Забарвлення – в автоматичному стеєпері Ventana BenchMark (Ventana Medical Systems, Ventana, USA). Світлову мікроскопію виконували на мікроскопі Leica DM 6000 B, Leica Microsystems CMS GmbH, Wetzlar з об'єктивами  $\times 5$ ,  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ .

Аналізуючи результати дослідження, використали сучасні методи доказової медицини [20]. Під час перевірки закону розподілу аналізованих показників на нормальність (за критерієм Шапіро–Уїлка) виявили відмінність від нормального ( $p < 0,05$ ), тому для

наведення кількісних ознак розраховували медіанне значення показників (Me), значення першого та третього квантилів ( $QI + QIII$ ), розраховували 95 % довірчий інтервал (95 % ДІ) показників, що аналізували [21]. Для порівняння показників у трьох групах використали критерій Краскела–Уолліса, а для апостеріорних порівнянь – критерій множинних порівнянь Данна [21]. У всіх випадках як критичний рівень значущості взяли  $\alpha_{\text{крит}} = 0,05$ .

Розглядаючи прогностичні характеристики тесту за показниками  $SUV_{\text{max}}$  використали методику побудови та аналізу кривих операційних характеристик (ROC-кривих) [21]. Адекватність тесту оцінювали за площею під ROC-кривою (AUC), наведено її 95 % ДІ [21]. Оптимальний поріг ухвалення рішення для тесту розраховували за показником Youden  $Inex = \text{Max}$  (чутливість тесту + специфічність тесту – 100 %), оцінювання прогностичних характеристик тесту при обраному порозі здійснили за показниками чутливості (95 % ДІ) та специфічності (95 % ДІ) тесту. Під час аналізу використали статистичний пакет MedCalc v.16.8 (MedCalc Software bvba, 1993–2016).

## Результати

Проаналізували дані ПЕТ діагностики та гістологічної картини пухлин у 121 хворого, ретроспективно оцінили рівень диференціювання досліджуваного матеріалу за методикою Anneroth et al., 1987 і Bryne et al., 1992. Пацієнтів поділили на три групи: група 1, до якої належать високо диференційовані G1 пухлини, – 22 пацієнти, група 2 – помірно диференційовані G2 – 45, група 3 – 54 пацієнти з низько диференційованими G3 сквамозноклітинними карциномами орофарингеальної ділянки.

Відповідно до запропонованого рівня оцінювання диференціювання пухлин за Anneroth et al., 1987 і Bryne et al., 1992 [19] морфологічно групи характеризувалися показниками:

– Група 1. Сквамозноклітинні карциноми G1 (рис. 1) рівень ороговіння в цій групі становив не менше ніж 20 %. Спостерігали слабкий чи помірно виражений поліморфізм пухлинних клітин, не менше ніж 50 % пухлинних клітин були зрілими та демонстрували ознаки, які характерні для плоского епітелію, тип росту – солідний із чіткими межами. Рівень мітотичної активності пухлинних клітин незначний, кількість мітозів – від 0 до 3 в полі зору, запальна реакція навколо пухлинних комплексів виражена чи помірна.

– Група 2. Сквамозноклітинні карциноми G2 (рис. 2) рівень ороговіння в пухлинах групи – на рівні не менше ніж 5 %, кількість зрілих клітин із характерними для плоского епітелію ознаками – не менше ніж 25 % від загальної популяції пухлинних клітин. Відзначали помірно виражений поліморфізм ядер, тип росту пухлини – інфільтративний, із вогнищево дрібними групами клітин, але не менше ніж 15 клітин у групі. Рівень мітотичної активності помірний, в оточуючих пухлинні комплекси тканинах спостерігали незначну або зовсім відсутню запальну реакцію.

– Група 3. До неї (рис. 3) належать пухлини з мінімальними ознаками, що характерні для плоского епітелію та характеризуються незначним рівнем

ороговіння, вираженим поліморфізмом ядер (зрілих клітин у досліджуваних пухлинних вогнищах менше ніж 25 %), високим мітотичним рівнем – кількість мітозів 5 і більше на поле зору. Тип росту пухлин з цієї групи інвазивний, переважно малими групами клітин (менше ніж 15 клітин) або поодинокими клітинами, запальна реакція у прилеглих тканинах відсутня.

Порівнюючи отримані результати гістологічного дослідження та ПЕТ-діагностики, визначили максимальне та мінімальне значення SUV як у всій когорті пацієнтів, так і в окремих групах. Загальне мінімальне значення  $SUV_{min}$  – 3,3; загальне максимальне значення  $SUV_{max}$  – 51,5.

Поділ у групах:

– у групі пухлин G1 мінімальне значення  $SUV_{min}$  – 3,3, максимальне значення  $SUV_{max}$  – 29,0, середнє значення – 11,1;

– у групі пухлин G2 мінімальне значення  $SUV_{min}$  – 5,0, максимальне значення  $SUV_{max}$  – 30,7, середнє значення – 16,5;

– у групі пухлин G3 мінімальне значення  $SUV_{min}$  – 3,5, максимальне значення  $SUV_{max}$  – 51,5, середнє значення – 20,4.

Дані, що одержали, наведені в *таблиці 1*.

Порівнюючи показники  $SUV_{max}$ , виявили зростання його значення при зниженні ступеня диференціювання пухлинної тканини ( $p < 0,001$  за критерієм Краскелла–Уолліса). Найменше ( $p < 0,05$ ) значення  $SUV_{max}$  було в пацієнтів групи з високо диференційованими сквамозноклітинними карциномами (G1), а найбільше ( $p < 0,05$ ) – в пацієнтів групи з низько диференційованими сквамозноклітинними карциномами (G3). Показники для пацієнтів групи з помірно диференційованими сквамозноклітинними карциномами (G2) мали проміжне значення  $SUV_{max}$ , що були статистично значущими ( $p < 0,05$ ), але нижчими ( $p < 0,05$ ), ніж для групи G3, вищими, ніж для групи G1 (*рис. 4*).

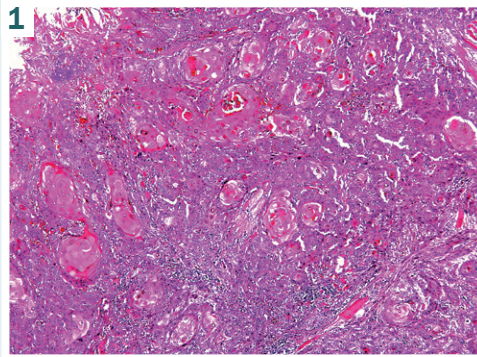
Для виявлення зв'язку ступеня диференціювання з значенням показників під час аналізу на першому етапі прогноз вважали несприятливим у випадках із низьким або середнім ступенем диференціювання для пацієнтів із G2 і G3, для пацієнтів із G1 прогноз вважали сприятливим.

Проводячи аналіз тесту за показником  $SUV_{max}$ , встановили адекватність моделі прогнозування ( $AUC = 0,78$  95 % ДІ 0,70–0,85, статистично значуще,  $p < 0,001$  перевищує 0,5; на *рис. 5* наведено ROC-криву тесту), що свідчить про задовільні прогностичні якості показника.

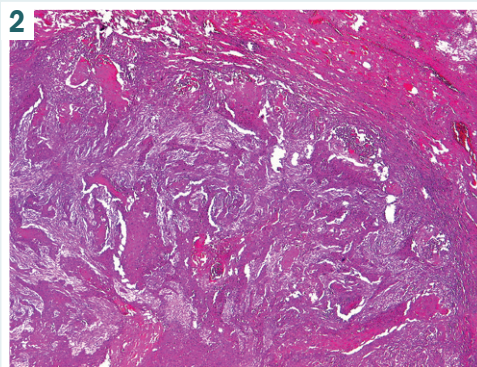
Обираючи оптимальний поріг (за Youden Index), встановили критичне значення показника  $SUV_{crit} = 14$ ; при перевищенні цього значення прогнозується ступінь гістологічного диференціювання G2, G3. При обраному порозі чутливість тесту становить 71,7 % (95 % ДІ 61,8–80,3 %), специфічність – 86,4 % (95 % ДІ 65,1–97,1 %).

На другому етапі аналізу випадком вважали тільки низький ступінь диференціювання для пацієнтів із гістологічною картиною G3, для пацієнтів із G1 чи G2 прогноз вважали сприятливим (не випадок).

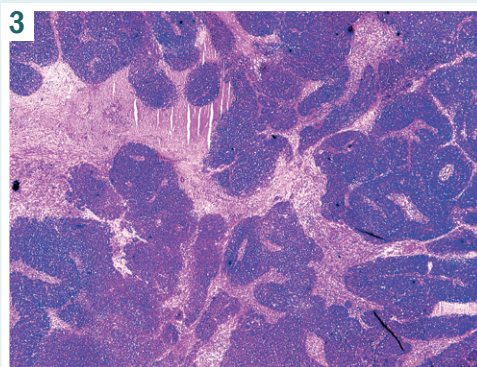
Аналізуючи тест за показником  $SUV_{max}$ , встановили адекватність моделі прогнозування (однак  $AUC = 0,70$



**Рис. 1.** Високо диференційована сквамозноклітинна карцинома ротової порожнини – G1. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення  $\times 50$ .



**Рис. 2.** Помірно диференційована сквамозноклітинна карцинома ротової порожнини – G2  $\times 50$ . Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення  $\times 50$ .



**Рис. 3.** Низько диференційована сквамозноклітинна карцинома ротової порожнини – G3  $\times 50$ . Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення  $\times 50$ .

95 % ДІ 0,61–0,78, статистично значуще,  $p < 0,001$  перевищує 0,5) (*рис. 6*), наведена ROC-крива тесту. Результати показують задовільну прогностичну якість показника  $SUV_{max}$ .

Обравши оптимальний поріг чутливості (за Youden Index), встановили критичне значення показника  $SUV_{crit} = 17,2$  (при перевищенні цього значення прогнозується G3). При обраному порозі чутливість тесту становить 68,5 % (95 % ДІ 54,4–80,5 %), специфічність тесту – 70,2 % (95 % ДІ 57,7–80,7 %).

## Обговорення

Відомості фахової літератури та здійснене дослідження свідчать не тільки про складність оцінювання різноманітних структур, що залучаються в пухлинний процес в орофарингеальній ділянці, але і про важливість визначення ключових діагностичних критеріїв, як-от метаболічна активність пухлинних клітин, що дає змогу на передопераційному етапі прогнозувати

Таблиця 1. Розподіл значень показників  $SUV_{max}$  у хворих на сквамозноклітинну орофарингеальну карциному G1, G2, G3, Me ( $Q_1-Q_{III}$ ).

Показник	Me ( $Q_1-Q_{III}$ )			Рівень значущості відмінності між групами
	G1 (n = 22)	G2 (n = 45)	G3 (n = 54)	
$SUV_{max}$	11,1 <sup>#</sup> (8,2–13,3)	16,5 <sup>*\$</sup> (12,5–20,1)	20,4 <sup>*#</sup> (13,8–25,0)	<0,001

Для аналізу використали критерій Краскела–Уолліса, для парного апостеріорного порівняння використали критерій множинних порівнянь Данна. \*: відмінність від показника G1 статистично значуща,  $p < 0,05$ ; #: відмінність від показника G2 статистично значуща,  $p < 0,05$ ; \$: відмінність від показника G3 статистично значуща,  $p < 0,05$ .

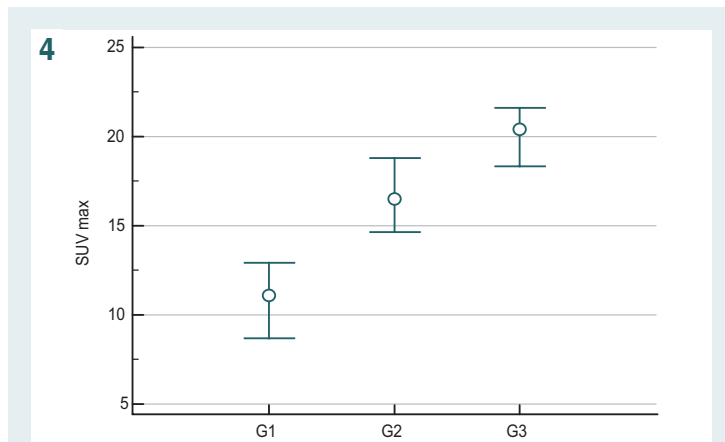


Рис. 4. Значення показника  $SUV_{max}$  для пацієнтів у трьох групах (медіанне значення та 95 % ДІ).

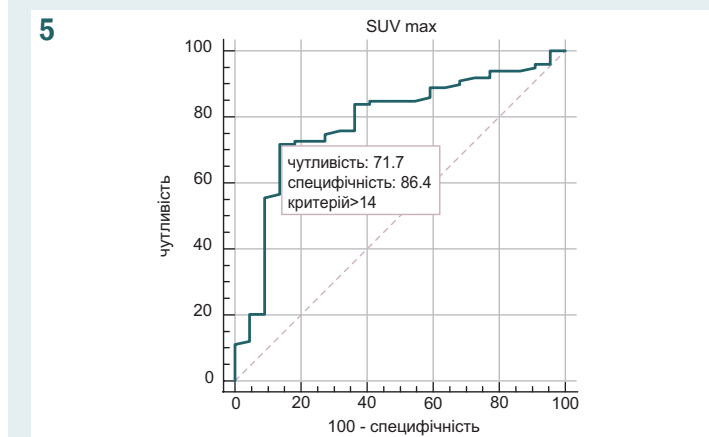


Рис. 5. ROC-крива тесту прогнозування ступеня диференціювання тканини (G3, G2 vs G1) за показником  $SUV_{max}$ . Наведено оптимальний (за Youden Index) поріг ухвалення рішення, чутливість і специфічність тесту.

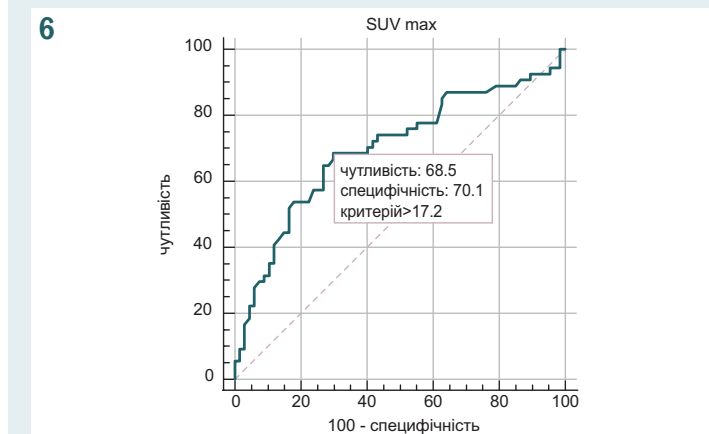


Рис. 6. ROC-крива тесту прогнозування ступеня диференціювання тканини (G3 vs G2, G1) за показником  $SUV_{max}$ . Наведено оптимальний (за Youden Index) поріг ухвалення рішення, чутливість і специфічність тесту.

рівень диференціювання пухлини з вибором тактики лікування, прогнозу захворювання.

Адекватне оцінювання рівня  $SUV_{max}$  та інших критеріїв можливе тільки під час ПЕТ, результати якої дають змогу встановити ключові діагностичні фактори, оскільки КТ і МРТ визначають лише анатомічну локалізацію новоутворень, а не рівень їхньої злякисності, метаболічної активності.

Низка досліджень також вказує на залежність  $SUV_{max}$  і рівня диференціювання пухлин при карциномі легень [21], шлунка та стравоходу [22], окремих лімфомах [23], ендометріальній карциномі [24]. Названі дослідження, як і результати нашого, є основою для створення новітньої міждисциплінарної діагностичної класифікації пухлин за результатами ПЕТ і гістологічного дослідження.

## Висновки

1. Статистично доведено можливість прогнозування рівня диференціювання орофарингеальних карцином за рівнем накопичення 2-фтор-[18F]-2-дезоксид-глюкози пухлинними тканинами. Результати свідчать про пряму залежність ( $p < 0,001$ )  $SUV_{max}$  і рівня морфологічного диференціювання сквамозноклітинної карциноми орофарингеальної зони.

2. Чутливість тесту прогнозування рівня диференціювання пухлин G1 за показником  $SUV_{max}$  становила 71,7 % (95 % ДІ 61,8–80,3 %), специфічність тесту – 86,4 % (95 % ДІ 65,1–97,1 %).

3. Чутливість тесту прогнозування рівня диференціювання пухлин G3 за показником  $SUV_{max}$  становила 68,5 % (95% ДІ 54,4–80,5 %), специфічність тесту – 70,2 % (95 % ДІ 57,7–80,7 %).

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження закономірностей накопичення 18-F-фтордезоксиглюкози та впровадження його в практику є перспективним напрямом для діагностики та градування пухлин різного походження та різного ступеня прогресії, включаючи пухлини орофарингеальної ділянки. Перспективним напрямком також є створення нової системи оцінювання рівня диференціювання пухлин залежно від показника  $SUV_{max}$ , що опосередковано вказує рівень диференціювання пухлин.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 20.11.2018

Після доопрацювання / Revised: 05.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 07.03.2019



**Відомості про авторів:**

Тиш М., д-р мед. наук, професор, начальник відділення госпіталю Бундесверу, Клініка та поліклініка отоларингології, хірургії голови та шиї, пластичної хірургії, алергології, м. Ульм, ФРН. Лысак А. В., начальник патологоанатомічної лабораторії, НВМКЦ «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ, Україна.

Дядик О. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної та топографічної анатомії, Національна академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

**Сведения об авторах:**

Тиш М., д-р мед. наук, профессор, начальник отделения госпиталя Бундесвера, Клиника и поликлиника отоларингологии, хирургии головы и шеи, пластической хирургии, алергологии, г. Ульм, ФРГ.

Лысак А. В., начальник патологоанатомической лаборатории, НВМКЦ «Главный военный клинический госпиталь», г. Киев, Украина.

Дядик Е. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической и топографической анатомии, Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика, Украина.

**Information about authors:**

Tisch M., Prof. Dr. med. habil., Head of the Hospital of the Bundeswehr, Clinic and polyclinic of otolaryngology, head and neck surgery, plastic surgery, allergy, Ulm, Germany. Lysak A.V., Head of the Pathoanatomical Laboratory, National Military Medical Clinical Center «Main Military Clinical Hospital», Kyiv, Ukraine.

Diadyk O. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Pathological and Topographic Anatomy Department, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

**Список літератури**

- [1] Рудас М.С. Позитронно-эмиссионная томография в клинической практике : учебно-методическое пособие / М.С. Рудас, И.Ю. Насникова, Г.Г. Матякин. – М. : Центральная клиническая больница УДП РФ, 2007. – 53 с.
- [2] Tsukamoto E. PET/CT today: system and its impact on cancer diagnosis / E. Tsukamoto, S. Ochi // *Annals of nuclear medicine*. – 2006. – Vol. 20. – Issue 4. – P. 255–267.
- [3] Registration of PET and CT images based on multiresolution gradient of mutual information demons algorithm for positioning esophageal cancer patients / S. Jin, D. Li, H. Wang, Y. Yin // *Journal of applied clinical medical physics*. – 2013. – Vol. 14. – Issue 1. – P. 3931.
- [4] Осипян Е.О. Компьютерная и магнитно-резонансная томография в оценке местной распространенности опухолей полости рта и ротоглотки как основной фактор выбора тактики лечения (обзор литературы) / Е.О. Осипян, А.М. Мудунов // *Опухоли головы и шеи*. – 2017. – Т. 7. – №4. – С. 53–62.
- [5] Значение позитронно-эмиссионной томографии в оптимизации терапии распространенных стадий лимфомы Ходжкина с использованием интенсивной программы EACOPP-14 / Е.А. Демина, А.А. Леонтьева, Г.С. Тумян и др. // *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. – 2017. – Т. 10. – №2. – С. 150–157.
- [6] PET-NECK: a multicentre randomised Phase III non-inferiority trial comparing a positron emission tomography-computerised tomography-guided watch-and-wait policy with planned neck dissection in the management of locally advanced (N2/N3) nodal metastases in patients with squamous cell head and neck cancer / H. Mehanna, C.C. McConkey, J.K. Rahman, et al. // *Health Technology Assessment*. – 2017. – Vol. 21. – Issue 17. – P. 1–122.
- [7] Heterogeneity and irregularity of pretreatment 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography improved prognostic stratification of p16-negative high-risk squamous cell carcinoma of the oropharynx / N.M. Cheng, Y.D. Fang, D.L. Tsan, et al. // *Oral oncology*. – 2018. – Vol. 78. – P. 156–162.
- [8] Prognostic Value of Head and Neck Tumor Proliferative Sphericity From 3'-Deoxy-3'-[18 F] Fluorothymidine Positron Emission Tomography / M. Majdoub, B.A.W. Hoeben, E.G.C. Troost, et al. // *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*. – 2017. – Vol. 2. – Issue 1. – P. 33–40.
- [9] Sayan A. Multiple metastases to bone from squamous cell carcinoma of the oropharynx: unusual findings on positron emission tomography-computed tomography / A. Sayan, Z.B. Gonen, V. Ilankovan // *British*

- Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2017. – Vol. 55. – Issue 10. – P. 1044–1045.
- [10] Совмещенная позитронно-эмиссионная и компьютерная томография в диагностике первично-метастатического поражения лимфатических узлов шеи / Е.П. Куликов, Т.В. Захаркина, Н.И. Чевардов, и др. // *Российский онкологический журнал*. – 2015. – Т. 20. – №4. – С. 6–8.
- [11] Principles of PET/MR imaging / J.A. Disselhorst, I. Bezrukov, A. Kolb, et al. // *J Nucl Med*. – 2014. – Vol. 55. – Suppl. 2. – P. 2S–10S.
- [12] Molekulare Bildgebung bei Kopf-Hals-Tumoren Molecular imaging of head and neck cancers / P. Stumpp, S. Purz, O. Sabri, T. Kahn // *Der Radiologe*. – 2016. – Vol. 56. – Issue 7. – P. 588–596.
- [13] de Hevesy G. Biographical [Electronic resource] / G. de Hevesy // *Nobelprize.org*. Nobel Media AB 2014. – Retrieved from: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1943/hevesy-bio.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1943/hevesy-bio.html)
- [14] Rödel R. CT-Untersuchung zur Lokalrezidivdiagnostik bei Plattenkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich / R. Rödel, H. Christiansen // *Strahlentherapie und Onkologie*. – 2012. – Vol. 188. – Issue 9. – P. 839–840.
- [15] The effect of SUV discretization in quantitative FDG-PET Radiomics: the need for standardized methodology in tumor texture analysis / R.T.H. Leijenar, G. Nabantov, S. Carvalho, et al. // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 11075.
- [16] Bildgebung der Kopf-Hals-Region / M. Lell, K. Mantsopoulos, M. Uder, W. Wuest // *HNO*. – 2016. – Vol. 64. – Issue 3. – P. 189–210.
- [17] Preliminary study on the correlation between grading and histology of solitary pulmonary nodules and contrast enhancement and [18F] fluorodeoxyglucose standardised uptake value after evaluation by dynamic multiphase CT and PET/CT / S. Cappabianca, A. Porto, M. Pettillo, et al. // *Journal of clinical pathology*. – 2011. – Vol. 64. – Issue 2. – P. 114–119.
- [18] Positron Emission Tomography (PET) Chillers. (2018). [Electronic resource]. Medical Chillers. – Retrieved from: <http://www.medicalchillermfg.com/pet/> – Last access: 11 Jun 2018. – Title from the screen.
- [19] Burkhardt A. Oralpathologie. 3. Mundhöhle, angrenzendes Weichteil- und Knochengewebe / A. Burkhardt, K. Morgenroth // Springer. – 2000. – Vol. 3. – 625 p.
- [20] Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сабин ; пер. с англ. В.П. Леонова. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 141 с.
- [21] The variation of prognostic significance of Maximum Standardized Uptake Value of [18F]-fluoro-2-deoxy-glucose positron emission tomography in different histological subtypes and pathological stages of surgically resected Non-Small Cell Lung Carcinoma / C. Casali, M. Cucca, G. Rossi, et al. // *Lung cancer*. – 2010. – Vol. 69. – Issue 2. – P. 187–193.
- [22] Конурбаев Т.Р. Влияние метаболизма опухолей на стандартизованный уровень накопления радиофармпрепарата 18 ф-ФДГ (SUV) при ПЭТ/КТ исследовании у больных раком пищевода и желудка [Электронный ресурс] / Т.Р. Конурбаев // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – №1. – Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11231>
- [23] Ходжибекова М.М. Роль позитронной эмиссионной томографии с 18F-ФДГ в определении степени злокачественности неходжкинских лимфом / М.М. Ходжибекова // *Радиология-практика*. – 2014. – №1. – С. 31–37.
- [24] Nakamura K. The SUVmax of 18F-FDG PET correlates with histological grade in endometrial cancer / K. Nakamura // *International Journal of Gynecological Cancer*. – 2010. – Vol. 20. – Issue 1. – P. 110–115.

**References**

- [1] Rudas, M. S., Nasnikova, I. Yu., & Matyakin, G. G. (2007) *Pozitronno-e'missionnaya tomografiya v klinicheskoy praktike [Positron-Emission Tomography in Clinical Practice]*. Moscow [in Russian].
- [2] Tsukamoto, E., & Ochi, S. (2006). PET/CT today: system and its impact on cancer diagnosis. *Annals of nuclear medicine*, 20(4), 255–267.
- [3] Jin, S., Li, D., Wang, H., & Yin, Y. (2013). Registration of PET and CT images based on multiresolution gradient of mutual information demons algorithm for positioning esophageal cancer patients. *Journal of applied clinical medical physics*, 14(1), 3931. doi: 10.1120/jacmp.v14i1.3931
- [4] Osipyan, Ye. O., & Mudunov, A. M. (2017). Komp'yuternaya i magnitno-rezonansnaya tomografiya v ocenke mestnoj rasprostranennosti opukholej polosti rta i rotoglotki kak osnovnoj faktor vybora taktiki lecheniya (obzor literatury) [Computed tomography and magnetic resonance imaging in assessment of the local advancement of oral and oropharyngeal cancer as the key factor of treatment selection (literature review)]. *Opukholi golovy i shei*, 7(4), 53–62. [in Russian]. doi: 10.17650/2222-1468-2017-7-4-53-62
- [5] Demina, E. A., Leont'eva, A. A., Tummyan, G. S., Ryabukhina, Yu. E., Medvedovskaya, E. G., Trofimova, O. P., et al. (2017). Znachenie pozitronno-e'missionnoj tomografii v optimizacii terapii rasprostranen-

- nykh stadij limfomy Hodzhkina s ispol'zovaniem intensivnoy programmy EACORR-14 [Relevance of Positron-Emission Therapy for Optimization of Treatment of Advanced Hodgkin's Lymphoma Using Intensive EACOPP-14 Program]. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika*, 10(2), 150–157. [in Russian]. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-150-157
- [6] Mehanna, H., McConkey, C. C., Rahman, J. K., Wong, W. L., Smith, A. F., Nutting, C., et al. (2017). PET-NECK: a multicentre randomised Phase III non-inferiority trial comparing a positron emission tomography-computerised tomography-guided watch-and-wait policy with planned neck dissection in the management of locally advanced (N2/N3) nodal metastases in patients with squamous cell head and neck cancer. *Health Technology Assessment*, 21(17), 1-122. doi: 10.3310/hta21170.
- [7] Cheng, N. M., Fang, Y. D., Tsan, D. L., Lee, L. Y., Chang, J. T., Wang, H. M., et al. (2018). Heterogeneity and irregularity of pretreatment 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography improved prognostic stratification of p16-negative high-risk squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Oral oncology*, 78, 156–162. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.01.030
- [8] Majdoub, M., Hoeben, B. A. W., Troost, E. G. C., Oyen, W. J. G., Kaanders, J. H. A. M., Le Rest, C. C., et al. (2017). Prognostic Value of Head and Neck Tumor Proliferative Sphericity From 3'-Deoxy-3'-[18 F] Fluorothymidine Positron Emission Tomography. *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, 2(1), 33–40. doi: 10.1109/TRPMS.2017.2777890
- [9] Sayan, A., Gonen, Z. B., & Ilankovan, V. (2017). Multiple metastases to bone from squamous cell carcinoma of the oropharynx: unusual findings on positron emission tomography-computed tomography. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 55(10), 1044–1045. doi: 10.1016/j.bjoms.2017.08.369
- [10] Kulikov, E. P., Zaharkina, T. V., Chevardov, N. I., Chernicyan, K. I., Redkin, A. N., & Ryzhih, O. V. (2015). Sovmeshennaya pozitronno-e'missionnaya i komp'yuternaya tomografiya v diagnostike pervichno-metastaticheskogo porazheniya limfaticeskikh uzlov shei [Combined positron emission and computer tomography in diagnostics of primary metastases in the lymph nodes of the neck]. *Rossiyskij onkologicheskij zhurnal*, 20(4), 6–8. [in Russian].
- [11] Disselhorst, J. A., Bezrukov, I., Kolb, A., Parl, C., & Pichler, B. J. (2014). Principles of PET/MR imaging. *J Nucl Med*, 55(Supplement 2), 2S–10S. doi: 10.2967/jnumed.113.129098
- [12] Stumpp, P., Purz, S., Sabri, O., & Kahn, T. (2016). Molekulare Bildgebung bei Kopf-Hals-Tumoren Molecular imaging of head and neck cancers. *Der Radiologe*, 56(7), 588–596. doi: 10.1007/s00117-016-0125-7
- [13] de Hevesy G. (2014). Biographical. *Nobelprize.org. Nobel Media AB*. Retrieved from [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1943/hevesy-bio.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1943/hevesy-bio.html).
- [14] Rödel, R., & Christiansen, H. (2012). CT-Untersuchung zur Lokalizierungsdiagnostik bei Plattenkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich. *Strahlentherapie und Onkologie*, 188(9), 839–840. doi: 10.1007/s00066-012-0137-9
- [15] Leijenaar, R. T., Nalbantov, G., Carvalho, S., Van Elmp, W. J., Troost, E. G., Boellaard, R., et al. (2015). The effect of SUV discretization in quantitative FDG-PET Radiomics: the need for standardized methodology in tumor texture analysis. *Scientific reports*, 5, 11075. doi: 10.1038/srep11075
- [16] Lell, M., Mantsopoulos, K., Uder, M., & Wuest, W. (2016). Bildgebung der Kopf-Hals-Region. *HNO*, 64(3), 189–210. doi: 10.1007/s00117-015-0065-7
- [17] Cappabianca, S., Porto, A., Petrillo, M., Greco, B., Reginelli, A., Ronza, F., et al. (2011). Preliminary study on the correlation between grading and histology of solitary pulmonary nodules and contrast enhancement and [18F] fluorodeoxyglucose standardised uptake value after evaluation by dynamic multiphase CT and PET/CT. *Journal of clinical pathology*, 64(2), 114–9. doi: 10.1136/jcp.2010.076562
- [18] (2018). Positron Emission Tomography (PET) Chillers. *Medical Chillers*. Retrieved from <http://www.medicalchillermfg.com/pet/>
- [19] Burkhardt, A., & Morgenroth, K. (2000). Oralpathologie. 3. Mundhöhle, angrenzendes Weichteil- und Knochengewebe. *Springer*, 3.
- [20] Petri, A., & Sabin, K. (2003). *Naglyadnaya statistika v medicine [Visual statistics in medicine]*. Moscow: Ge'otar-Med. [in Russian].
- [21] Casali, C., Cucca, M., Rossi, G., Barbieri, F., Iacuzio, L., Bagni, B., & Uliano, M. (2010). The variation of prognostic significance of Maximum Standardized Uptake Value of [18F]-fluoro-2-deoxy-glucose positron emission tomography in different histological subtypes and pathological stages of surgically resected Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Lung cancer*, 69(2), 187–93. doi: 10.1016/j.lungcan.2009.10.015
- [22] Konurbaev, T. R. (2014). Vliyanie metabolizma opukholej na standartirovannyj uroven' nakopleniya radiofarmpreparata 18 f-FDG (SUV) pri PE'T/KT issledovanij u bol'nykh rakom pishhevoda i zheludka [Influence tumor metabolism on a standardized level of accumulation of the radiopharmaceutical 18 F-FDG (SUV) for PET/CT studies in patients with esophageal cancer and stomach]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 1. Retrieved from <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11231> [in Russian].
- [23] Khodzhibekova, M. M. (2014). Rol' pozitronnoj e'missionnoj tomografii c 18F-FDG v opredelenii stepeni zlokachestvennosti nehodzhkinskih limfom [Role of Positron Emission Tomography with 18F-FDG in Predicting Malignancy Grade of non-Hodgkins Lymphoma]. *Radiologiya-praktika*, 1, 31–37. [in Russian].
- [24] Nakamura, K., Kodama, J., Okumura, Y., Hongo, A., Kanazawa, S., & Hiramatsu, Y. (2010). The SUVmax of 18F-FDG PET correlates with histological grade in endometrial cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, 20(1), 110–5. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181c3a288

## Метастатичне ураження кісток у чоловіків у поєднанні з підвищенням сироваткового PSA з погляду діагностики карцином невідомої первинної локалізації

О. В. Пославська\*<sup>A,C,D</sup>, І. С. Шпонька<sup>F</sup>, П. О. Гриценко<sup>E</sup>, М. Ю. Петрова<sup>B</sup>

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

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

У випадках «злякнісного новоутворення невідомого походження» в чоловіків із метастазами в кістках саме рівень сироваткового PSA може стати вирішальним для лікування. У фаховій літературі описані карциноми з метастазами в кістках і підвищенням простат-специфічного антигена, що були двічі спростовані біопсією простати, але мали позитивну динамку під час антиандрогенної терапії (bicalutamide) в поєднанні з хіміотерапією (zoledronic acid).

**Мета роботи** – для вдосконалення діагностичних алгоритмів дослідити комплекс морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних характеристик метастатичних вогнищ у кістках, що представлені аденокарциномами невідомої первинної локалізації, в чоловіків із підвищенням серологічного маркера PSA порівняно з первинними карциномами передміхурової залози.

**Матеріали та методи.** Виконали ретроспективний аналіз клінічних даних, гістологічних та імуногістохімічних характеристик 21 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів із первинною пухлиною карциномою передміхурової залози (група 1, чоловіки віком від 56 до 82 років, середнє –  $66,00 \pm 7,76$ ; медіана – 65) та біопсійного матеріалу 10 пацієнтів (чоловіків) із метастазами аденокарциноми в кістки без первинної локалізації та підвищенням сироваткового маркера PSA (група 2, вік – від 43 до 57 років, середнє –  $50,00 \pm 9,89$ ; медіана – 46,5) на базі морфологічного відділу діагностичного центру «Аптеки медичної академії» за період 2015–2017 рр.

**Результати.** У діагностиці карцином невідомої первинної локалізації в чоловіків із метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA визначили морфологічні, морфометричні та імуногістохімічні зміни, які пов'язані з набуттям агресивніших метастатичних властивостей порівняно з первинними карциномами передміхурової залози, що мають тенденцію до локального поширення, зокрема переважання низькодиференційованих гістологічних форм метастатичних аденокарцином, об'єктивне зменшення площі та периметра ядер ( $p = 0,00002$ ,  $p < 0,0001$  відповідно), можливість втрачання специфічних для ацинарних карцином передміхурової залози імуногістохімічних маркерів AMACR (p504s) та AR (андрогенні рецептори) ( $p = 0,008$ ).

**Висновки.** Використання мінімальних первинної (Cytokeratin, Pan AE1/AE3(+)/Vimentin(-)/CD45(-)/S100(-)) та вторинної (цитокератин 8(+)/PSA(+)/AMACR (p504s)(+)/AR (+/-)) імуногістохімічних панелей дасть змогу довести відповідність фенотипу карциноми невідомої первинної локалізації в чоловіків із метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA формі дисемінованої карциноми передміхурової залози з обґрунтуванням застосування відповідної терапії у випадках неінформативної біопсії простати.

### Ключові слова:

рак, рак простати, метастази в кістки, PSA.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 67–72

### DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166308

### \*E-mail:

alexandra.poslavskaya@gmail.com

## Метастатическое поражение костей у мужчин в сочетании с повышением сывороточного PSA с точки зрения диагностики карцином неизвестной первичной локализации

А. В. Пославская, И. С. Шпонька, П. А. Гриценко, М. Ю. Петрова

В случаях «злокачественного новообразования неизвестного происхождения» у мужчин с метастазами в костях именно уровень сывороточного PSA может стать решающим для лечения. В научной литературе описаны карциномы с метастазами в костях и повышением простат-специфического антигена, которые были дважды опровергнуты биопсией простаты, но имели положительную динамику во время антиандрогенной терапии (bicalutamide) в сочетании с химиотерапией (zoledronic acid).

**Цель работы** – для совершенствования диагностических алгоритмов исследовать комплекс морфологических, морфометрических и иммуногистохимических характеристик метастатических очагов в костях, которые представлены аденокарциномами неизвестной первичной локализации, у мужчин с повышением серологического маркера PSA по сравнению с первичными карциномами предстательной железы.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ клинических данных, гистологических и иммуногистохимических характеристик 21 наблюдения послеоперационного материала пациентов с первичной карциномой предстательной железы (группа 1, мужчины в возрасте от 56 до 82 лет, среднее –  $66,00 \pm 7,76$ ; медиана – 65) и биопсийного материала 10 пациентов с метастазами карциномы в кости без первичной локализации и повышением сывороточного маркера PSA (группа 2, мужчины в возрасте от 43 до 57 лет, среднее –  $50,00 \pm 9,89$ ; медиана – 46,5) на базе морфологического отдела диагностического центра «Аптеки медицинской академии» за период 2015–2017 гг.

### Ключевые слова:

рак, рак простаты, метастази в кости, PSA.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 67–72

**Результати.** В діагностиці карцином невідомої первинної локалізації у чоловіків з метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA визначені морфологічні, морфометричні та імуногістохімічні зміни, пов'язані з набуттям більш агресивних властивостей в порівнянні з первинними карциномами передміурної залози, які мають тенденцію до локального поширення, а саме переважання низкодиференційованих гістологічних форм метастатичних аденокарцином, об'єктивне зменшення площі та периметра ядер ( $p = 0,00002$ ,  $p < 0,0001$  відповідно), можлива втрата специфічних для ацинарних карцином передміурної залози імуногістохімічних маркерів AMACR (p504s) та AR (андрогенові рецептори) ( $p = 0,008$ ).

**Висновки.** Використання мінімальних первинної (Cytokeratin, Pan AE1/AE3(+)/Vimentin(-)/CD45(-)/S100(-)) та вторинної (цитокератин 8(+)/PSA(+)/AMACR (p504s)(+)/AR(+/-)) імуногістохімічних панелей дозволить довести відповідність фенотипу карциноми невідомої первинної локалізації у чоловіків з метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA формі дисемінованої карциноми передміурної залози з обґрунтуванням застосування відповідної терапії в разі неінформативної біопсії простати.

**Key words:**  
cancer, prostatic neoplasms, metastases, prostate-specific antigen.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 67–72

## Metastatic bone lesions of men in combination with an increase in serum PSA from the point of view of diagnosing carcinomas of unknown primary localization

O. V. Poslavskaya, I. S. Shponka, P. O. Hrytsenko, M. Yu. Petrova

In cases of "malignant neoplasm of unknown origin" of men with bone metastases, it is the serum PSA level that can be crucial for further treatment. The literature describes carcinomas with bone metastases and an increase in the prostate-specific antigen, which were twice refuted by a prostate biopsy but had a positive dynamic during anti-androgen therapy (bicalutamide) in combination with chemotherapy (zoledronic acid).

**The aim** of the work is to improve diagnostic algorithms, to investigate a complex of morphological, morphometric and immunohistochemical characteristics of metastatic foci in the bones, which are represented by adenocarcinomas of unknown primary localization in men with increased serological marker PSA, compared with primary carcinomas of the prostate gland.

**Materials and methods.** A retrospective analysis of clinical data, histological and immunohistochemical characteristics of 21 observations of biopsy material from patients with primary carcinoma of the prostate gland (group 1, men aged 56 to 82 years, average  $66.00 \pm 7.76$ ; median 65) and 10 patients with bone carcinoma metastases without primary localization and increased serum marker PSA (group 2, men aged 43 to 57 years, mean  $50.00 \pm 9.89$ ; median 46.5) on the basis of the morphological department of diagnostic center "Pharmacy of Medical Academy" for the period 2015–2017.

**Results.** Morphological, morphometric and immunohistochemical changes of carcinomas of unknown primary site in men with metastatic bone lesions and increased serum marker PSA associated with the acquisition of more aggressive properties were identified in comparison with the primary carcinomas of the prostate gland, which tend to local distribution. There were prevalence of poorly differentiated histological forms of metastatic adenocarcinomas, an objective reduction in the area and perimeter of nuclei ( $P = 0.00002$ ,  $P < 0.0001$ , respectively), possible loss of immunohistochemical markers AMACR (p504s) and AR (androgen receptors) specific for acinar prostate carcinomas ( $P = 0.008$ ).

**Conclusion.** The use of minimal primary immunohistochemical panel from cytokeratin, Pan AE1/AE3 (+)/Vimentin(-)/CD45(-)/S100(-) and secondary – cytokeratin 8(+)/PSA(+)/AMACR (p504s)(+) panels /AR(+/-) will allow to prove the conformity of the carcinoma phenotype with unknown primary site in men with metastatic bone lesions and an increase in the PSA serological marker to the form of disseminated prostate carcinoma with justification for the use of appropriate therapy in cases of non-informative prostate biopsy.

За даними фахової літератури, метастази пухлин невідомої первинної походження виникають у 3–4 % пацієнтів з онкологічними захворюваннями, і 10–15 % із них мають ураження скелета. Кістки є третім найбільш поширеним місцем метастатичного раку невідомої первинної локалізації (РНПЛ) після лімфатичних вузлів і легенів. Зазвичай аденокарцинома є основним гістологічним типом, що становить 70 % усіх випадків, недиференційована карцинома становить 15 %, а колоректальний фенотип – до 10 % [2]. Біологія РНПЛ погано зрозуміла, його виникнення пов'язане з коротким анамнезом симптомів та ознак, має раннє поширення зі здебільшого агресивним перебігом (залучені три і більше органів) і часто має непередбачувані метастатичні закономірності [1–3].

Непередбачуваний метастатичний перебіг належить до відмінностей у частоті метастатичних ділянок між відомими та невідомими первинними карциномами, наприклад, рак підшлункової залози, котрий має

перебіг як РНПЛ, дає вчетверо більше метастазування в кістки та на 30 % більше метастазів у легені порівняно з відомим первинним раком підшлункової залози. З 2003 р. розрізняють дві групи РНПЛ: сприятливі (20 %) і несприятливі (80 %) фенотипи. Сприятливими є ті суб'єкти, які реагують на місцеві та/або системні процедури та мають більші відсотки виживання. До таких належать і чоловіки з метастазами аденокарциноми в кістки та підвищенням сироваткового маркера PSA без відомої первинної локалізації пухлини, фенотип яких вказує на можливий первинний рак передміурової залози [5,6].

Рівень сироваткового простат-специфічного антигена (PSA) широко використовується в онкологічній практиці для скринінгу раку простати. У випадках злякостного новоутворення невідомої походження чоловіків із метастазами в кістках саме рівень сироваткового PSA може стати вирішальним для лікування [1–5]. У фаховій літературі описані карциноми з мета-

стазами в кістках і підвищенням простат-специфічного антигена, що були двічі спростовані біопсією простати, але мали позитивну динаміку під час антиандрогенної терапії (bicalutamide) в поєднанні з хіміотерапією (zoledronic acid) [1,5–7]. Саме завдяки можливості підвищити рівень виживаності пацієнтів із таким фенотипом раку невідомої первинної локалізації останній належить до сприятливого за прогнозом варіанту перебігу дисемінованих метастатичних карцином [8,9].

## Мета роботи

Для вдосконалення діагностичних алгоритмів дослідити комплекс морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних характеристик метастатичних вогнищ у кістках, які представлені аденокарциномами невідомої первинної локалізації, в чоловіків із підвищенням серологічного маркера PSA порівняно з первинними карциномами передміхурової залози.

## Матеріали і методи дослідження

Виконали ретроспективний аналіз клінічних даних, гістологічних та імуногістологічних характеристик 21 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів із первинною пухлиною – карциномою передміхурової залози (група 1, чоловіки віком від 56 до 82 років, середнє – 66,00 ± 7,76; медіана – 65); та біопсійного матеріалу 10 пацієнтів із метастазами аденокарциноми в кістки без первинної локалізації та підвищенням сироваткового маркера PSA (група 2, чоловіки віком від 43 до 57 років, середнє – 50,00 ± 9,89; медіана – 46,5) на базі морфологічного відділу діагностичного центру «Аптеки медичної академії» за період 2015–2017 рр.

**Морфометричний метод.** Камерою для мікроскопа Zeiss Primo Star – AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition інформативні поля зору зафіксовані в форматі .jpg та оброблені в програмі ImageJ з визначенням периметра, площі та круглості ядер за методикою, що описана попередніх публікаціях [10,11]. Показники розмірів площин, периметрів і коефіцієнта круглості клітин зазнавали статистичної обробки в програмах ImageJ і Microsoft Excel із розрахунком мінімального, максимального, медіани, середнього арифметичного ( $\chi$ ) та стандартного відхилення (SD).

**Імуногістохімічний метод.** Імуногістохімічне дослідження (ІГХ) виконали за 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 наведені в таблиці 1.

Статистичний аналіз виконали у програмі R version 3.4.1 (2017-06-30) – «Single Candle» Copyright (C) 2017; The R Foundation for Statistical Computing Platform: x86\_64-w64-mingw32/x64 (64-bit). Оскільки тест Шапіро–Вілка на нормальність розподілу для показника «площа» показав  $W1 = 0,9103$ ,  $p1 = 0,1851$ ;  $W2 = 0,8966$ ,  $p2 = 0,0356$ , значення  $p$  для групи 2 менше ніж критичний 0,05, розподіл відрізняється від

**Таблиця 1.** Моноклональні антитіла первинної та вторинної імуногістохімічної панелі

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
PSA	EP1588Y(1:200)	Цитоплазма
CK 8/18	Ab-2(K8.8+DC10) (1:100)	Цитоплазма
CK7	OV-TL12/30 (RTU)	Цитоплазма
CK HMW	Ab-3 (34bE12) (1:50)	Цитоплазма
AR	RB-9030-PO (1:100)	Ядро
AMACR (p504s)	13H4 (1:100)	Мембрана

нормального, то для перевірки вірогідності різниці середніх значень використали критерій Манна–Уїтні; для показника «периметр» ( $W1 = 0,9102$ ,  $p1 = 0,1848$ ;  $W2 = 0,9131$ ,  $p2 = 0,0732$ ) розподіл не суттєво відрізняється від нормального; F-тест на рівність дисперсій ( $F = 2,0325$ ,  $p = 0,1616$ ),  $p$  для F-тесту більше ніж критичний рівень значущості 0,05, що свідчить про відсутність суттєвої різниці між дисперсіями двох наборів даних, тому для перевірки істотності різниці середніх значень використано t-критерій Стюдента; для показника «круглість ядер» ( $W1 = 0,9115$ ,  $p1 = 0,1921$ ;  $W2 = 0,9602$ ,  $p2 = 0,5485$ ) розподіл не суттєво відрізняється від нормального, F-тест на рівність дисперсій  $F = 0,6352$ ,  $p = 0,4243$ , тому для перевірки вірогідності різниці середніх значень використали t-критерій Стюдента (табл. 2). Розподіл спостережень груп за напівкількісною шкалою експресії андрогенних рецепторів проведений точним тестом Фішера (табл. 3)

## Результати

Аналіз гістологічних форм метастатичних карцином кісток із підвищенням сироваткового PSA показав перевагу аденокарцином (АК) низькодиференційованої будови на відміну від первинних карцином передміхурової залози, з них 12 (57,14 %) були ацинарними АК помірного ступеня диференціювання, 8 (38,09 %) – ацинарними низькодиференційованими АК, 1 (4,76 %) – недиференційованим раком. Показники морфометричного дослідження у програмі ImageJ продемонстрували значне зменшення площі та периметра ядер ( $p < 0,05$ ), вірогідно пов'язані з втраченою диференціюванням зразками метастатичних АК і зміну показника «круглість ядер» із набуттям більшого поліморфізму та атипії ядер (табл. 2).

Усі відібрані спостереження первинних і метастатичних пухлин проаналізували за патернами гістологічної будови та відповідали «епітеліоїдній» морфології, фенотипу карциноми Cytokeratin, Pan AE1/AE3(+)/Vimentin(-)/CD45(-)/S100(-) первинної діагностичної ІГХ панелі антитіл. Імуногістохімічний профіль після другої панелі первинних пухлин передміхурової залози найбільш специфічними маркерами визначив цитокератин 8 (СК8), PSA, AMACR (p504s), AR (андрогенові рецептори), що в усіх спостереженнях хоча б частково були позитивними; але певну варіативність в експресії інших – СК20 (2 із 21 (9,52 %) мали позитивний статус,

**Таблиця 2.** Показники морфометричного дослідження спостережень метастатичних карцином кісток чоловіків із підвищенням сироваткового PSA та первинних аденокарцином передміхурової залози у програмі ImageJ,  $\chi \pm SD$

Тип аденокарциноми	Середні показники		
	Площа (мкм <sup>2</sup> ) $\chi \pm SD$	Периметр (мкм) $\chi \pm SD$	Коефіцієнт «круглості» (параметр ImageJ) $\chi \pm SD$
Група 1 первинна АК передміхурової залози	49,803 ± 9,930	27,582 ± 2,970	0,767 ± 0,117
Група 2 метастатична АК з ураженням кісток і підвищенням сироваткового PSA	16,346 ± 3,432	16,005 ± 2,083	0,672 ± 0,147
Манна-Уїтні (W)	W = 260, p = 0,00002*	–	–
t-критерій Стюдента (t)	–	t = 13,129, p < 0,0001*	t = 1,9544, p = 0,0597*

$\chi \pm SD$ : середнє значення ± стандартне відхилення, АК: аденокарцинома;  
\*: різницю вважали вірогідною при  $p < 0,05$ .

**Таблиця 3.** Розподіл спостережень метастатичних карцином кісток чоловіків із підвищенням сироваткового PSA та первинних аденокарцином передміхурової залози за напівкількісною шкалою експресії андрогенних рецепторів, p

Напівкількісна шкала визначення андрогенних рецепторів (AR)	Тип аденокарциноми			p*
	Первинна АК передміхурової залози	Метастатична АК з ураженням кісток і підвищенням сироваткового PSA		
AR(-)	0	3		p = 0,008
AR(+)	5	5		
AR(2+)	12	2		
AR(3+)	4	0		
Всього	21	10		

АК: аденокарцинома; \*: рівень значущості за точним тестом Фішера  $p < 0,05$ .

що відповідало 2 низькодиференційованим ацинарним АК) і СК7 (3 із 21 (14,28 %) мали позитивний статус, що відповідало 1 недиференційованому раку, 2 низькодиференційованим ацинарним АК, один із яких експресував також цитокератини плоских епітеліїв СКНМВ+, що в інших спостереженнях первинних карцином передміхурової залози були негативними разом із базальноклітинним маркером р63).

У групі з метастатичними АК маркери цитокератин 8 (СК8) і PSA були позитивними в усіх випадках, але частково позитивними на АМАСР (p504s) виявились 2 спостереження, третина (3 із 10) набула негативного статусу за андрогенними рецепторами (AR-), що, можливо, пов'язано з втратою диференціації або складністю отримання репрезентативного матеріалу з метастазів кісток. У зв'язку з нерівномірною експресією андрогенних рецепторів в обох підгрупах порівняли сукупності за якісними ознаками (гормональним статусом) точним тестом Фішера (табл. 3). Виявили вірогідну різницю розподілу випадків у групах дослідження ( $p < 0,05$ ).

## Обговорення

Рак передміхурової залози (РП) – найпоширеніша злоякісна пухлина в західних чоловіків. Метастатична дисемінація може проявлятися різними способа-

ми, як правило, РП поширюється на регіональні або віддалені лімфатичні вузли та кістки [1–4]. У фаховій літературі описані приклади метастазування РП у кістки навіть без виявлення первинної пухлини, що з погляду діагностики раку невідомого походження потребує клінічної та морфологічної диференційної діагностики. Hiromichi Iwamura et al. (2014) акцентують увагу на проблемі подвійної негативної біопсії простати в пацієнта з метастазами в кістках і високим рівнем сироваткового простатичного антигена (PSA), орієнтуючись на який, вони превентивно почали терапію депривації андрогенів та хіміотерапію і отримали регрес клінічних симптомів [1]. Подібні відомості дають інші дослідники [4,7,8]. Отже, автори доводять, що сироватковий простатичний антиген у випадках ізольованих метастазів РП набуває не прогностичне, а диференціально-діагностичне значення. Але дослідження Ganeshan Dh. et al. (2016) 101 випадку РП із метастазами в кістки ( $n = 83$ ) та без ( $n = 18$ ) продемонстрували, що 23 пацієнти із 83 з метастазами в кістках мали рівень сироваткового PSA в межах норми, що спростовує його діагностичне значення [6].

У нашому дослідженні крім підвищення сироваткового простатичного антигена враховували імуногістохімічний профіль метастазів РП у кістки, що передбачав як маркери виключення Vimentin (мезенхімальні пухлини), S100 (меланома), CD45 (лімфопрولیферативні стани), СК7 і СК НМВ (карциноми інших локалізацій), так і маркери підтвердження епітеліального походження метастазу Cytokeratin, Pan поряд з органоспецифічними – PSA, СК 8/18, AR, АМАСР (p504s). Такий широкий спектр діагностичних маркерів для метастазів РП без первинної локалізації показав себе необхідним через втрату диференціювання і був підтверджений роботами інших дослідників. Наприклад, E. A. Szwed et al. (2015) показали 3 випадки вторинних метастатичних пухлин у кістках на тлі хіміотерапевтичного лікування первинного ПР, що без імуногістохімічного дослідження розцінені як його метастази [3]. Piccioli A. et al. (2015), розглядаючи спектр карцином без первинної локалізації, підкреслюють діагностичну важливість цитокератинів (Cytokeratin, Pan, СК7, СК8/18, СК19, СК НМВ та СК20) для верифікації джерела походження метастатичної карциноми [2]. У нашому дослідженні виявили неспецифічну для РП експресію СК7, СК20, СК НМВ в окремих низькодиференційованих метастазах кісток, що дало можливість враховувати це у практичній роботі та звертати більшу увагу на позитивність органоспецифічних – PSA, СК 8/18, AR, АМАСР (p504s), та їхнє співвідношення в сумнівних випадках.

Треба наголосити, що така нечітка позиція щодо експресії цитокератинів або органоспецифічних андрогенних рецепторів метастазами РП зумовлює пошук нових діагностичних критеріїв. Нещодавно здійснили дослідження та встановили низку додаткових біомаркерів для РП. Так, Li D. et al. (2018), які досліджували алкалінову фосфатазу (serum alkaline phosphatase – ALP), свідчать про її великий потенціал у прогнозі РП. З їхньої роботи видно, що рівень ALP у сироватці крові – широко використовуваний показник

для захворювань печінки, ураження кісток та ефектів лікування [9].

Завдання покращити критерії верифікації метастазів РП у кістки з погляду діагностики раків без первинної локалізації в нашому дослідженні вирішено шляхом морфометричного дослідження пухлинних клітин на предмет розмірів площі, периметра та круглості ядер у програмі ImageJ. Це дало змогу за наявності подібних імуногістохімічних фенотипів метастатичних і первинних РП об'єктивно продемонструвати зменшення ядер клітин метастатичних РП до розмірів лімфопроліферативних захворювань, що часто призводить до діагностичних помилок без використання ІГХ і відповідного анамнезу при рутинному морфологічному забарвленні гематоксиліном-еозинном. ImageJ як програма вільного доступу для аналізу цифрових зображень має безліч переваг і використовується в багатьох сучасних дослідженнях для вимірювання морфологічних об'єктів або навіть будовання 3D моделей [10,11], але щодо порівняння розмірів ядер метастатичних і первинних карцином простати використана вперше.

## Висновки

1. У діагностиці карцином невідомої первинної локалізації в чоловіків із метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA треба враховувати морфологічні, морфометричні та імуногістохімічні зміни, що пов'язані з набуттям агресивніших метастатичних властивостей порівняно з первинними карциномами передміхурової залози, що мають тенденцію до локального поширення, як-от переважання низькодиференційованих гістологічних форм метастатичних аденокарцином, об'єктивне зменшення площі та периметра ядер ( $p = 0,00002$ ,  $p < 0,0001$  відповідно), можлива втрата специфічних для ацинарних карцином передміхурової залози імуногістохімічних маркерів AMACR (p504s) та AR (андрогенові рецептори) ( $p = 0,008$ ).

2. Використання мінімальних первинної (Cytokeratin, Pan AE1/AE3(+)/Vimentin(-)/CD45(-)/S100(-)) та вторинної (цитокератин 8(+)/PSA(+)/AMACR (p504s)(+)/AR (+/-)) імуногістохімічних панелей дасть змогу довести відповідність фенотипу карциноми невідомої первинної локалізації в чоловіків із метастатичним ураженням кісток і підвищенням серологічного маркера PSA формі дисемінованої карциноми передміхурової залози з обґрунтуванням застосування відповідної терапії у випадках неінформативної біопсії простати.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні клініко-морфологічних та імуногістохімічних прогностичних факторів різних фенотипів раків без встановленої первинної локалізації.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» № держреєстрації 0116U002827 (2016–2018).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 18.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 08.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 14.02.2019

## 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.

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

Петрова М. Ю., студентка, 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.

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

Петрова М. Ю., студентка 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.

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

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

Petrova M. Yu., Student, State Establishment

"Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

## Список літератури

- [1] A case of metastatic cancer with markedly elevated PSA level that was not detected by repeat prostate biopsy / H. Iwamura, S. Hatakeyama, Y. Tanaka, et al. // BMC Res Notes. – 2014. – Vol. 7. – P. 64.
- [2] Bone metastases of unknown origin: epidemiology and principles of management / A. Piccioli, G. Maccauro, M.S. Spinelli, et al. // J Orthopaed Traumatol. – 2015. – Vol. 16. – Issue 2. – P. 81–86.
- [3] New primary malignancy masquerading as metastatic prostate adenocarcinoma / E.A. Szwed, S. Silesoraitis, Th.-C. Nguyen, et al. // Oncological Medicine. – 2015. – Vol. 2015. – P. 358572.
- [4] Bone metastasis in prostate cancer: Molecular and cellular mechanisms (Review) / L. Ye, H.G. Kynaston, W.G. Jiang // International journal of molecular medicine. – 2007. – Vol. 20. – Issue 1. – P. 103–111.
- [5] Moul J.W. Hormone naive prostate cancer: predicting and maximizing response intervals / J.W. Moul // Asian Journal of Andrology. – 2015. – Vol. 17. – Issue 6. – P. 929–935.
- [6] Pattern and distribution of distant metastases in anaplastic prostate carcinoma: a single-institute experience with 101 patients / Dh. Ganeshan, A.M. Aparicio, A. Morani, V. Kundra // AJR Am J Roentgenol. – 2017. – Vol. 209. – Issue 6. – P. 327–332.
- [7] Prognostic factors for hormone sensitive metastatic prostate cancer: impact of disease volume / A.M. Alhanafy, F. Zanaty, R. Ibrahim, S. Omar // Asian Pac J Cancer Prev. – 2018. – Vol. 19. – Issue 4. – P. 1113–1118.

- [8] Body J.-J. Targeting bone metastases in prostate cancer: improving clinical outcome / J.-J. Body, S. Casimiro, L. Costa // *Nat. Rev. Urol.* – 2015. – Vol. 12. – Issue 6. – P. 340–356.
- [9] Prognostic value of serum alkaline phosphatase in the survival of prostate cancer: evidence from a meta-analysis / D. Li, H. Lv, X. Hao, et al. // *Cancer Management and Research.* – 2018. – Vol. 10. – P. 3125–3139.
- [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.
- [11] Морфометричний аналіз панцитокератин-негативних непластичних ушкоджень лімфатичних вузлів шиї / О.В. Пославська, І.С. Шпонька, П.О. Гриценко, О.А. Алексеєнко // *Медичні перспективи.* – 2018. – Т. 23. – №1. – С. 30–37.

## References

- [1] Iwamura, H., Hatakeyama, S., Tanaka, Y., Tanaka, T., Tokui, N., Yamamoto, H., et al. (2014) A case of metastatic cancer with markedly elevated PSA level that was not detected by repeat prostate biopsy. *BMC Res Notes*, 7, 64. doi: 10.1186/1756-0500-7-64
- [2] Piccioli, A., Maccauro, G., Spinelli, M. S., Biagini, R., & Rossi, B. (2015) Bone metastases of unknown origin: epidemiology and principles of management. *J Orthopaed Traumatol*, 16(2), 81–86. doi: 10.1007/s10195-015-0344-0
- [3] Szwed, E. A., Sliesoraitis, S., Nguyen, Th-C., Nguyen, M-N., Moreb, J. S., Zlotecki, R. A., et al. (2015) New Primary Malignancy Masquerading as Metastatic Prostate Adenocarcinoma. *Oncological Medicine*, 2015, 358572. doi: 10.1155/2015/358572
- [4] Ye, L., Kynaston, H. G., & Jiang, W. G. (2007) Bone metastasis in prostate cancer: Molecular and cellular mechanisms (Review). *International journal of molecular medicine*, 20(1), 103–111. doi: 10.3892/ijmm.20.1.103
- [5] Moul, J. W. (2015) Hormone naïve prostate cancer: predicting and maximizing response intervals. *Asian Journal of Andrology*, 17(6), 929–35. doi: 10.4103/1008-682X.152821
- [6] Ganeshan, Dh., Aparicio, A. M., Morani, A., & Kundra, V. (2017) Pattern and distribution of distant metastases in anaplastic prostate carcinoma: a single-institute experience with 101 patients. *AJR Am J Roentgenol*, 209(2), 327–332. doi: 10.2214/AJR.16.17214
- [7] Alhanafy, A. M., Zanaty, F., Ibrahim, R., & Omar, S. (2018) Prognostic factors for hormone sensitive metastatic prostate cancer: impact of disease volume. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 19(4), 1113–1118. doi: 10.22034/APJCP.2018.19.4.1113
- [8] Body, J.-J., Casimiro, S., & Costa, L. (2015) Targeting bone metastases in prostate cancer: improving clinical outcome. *Nat. Rev. Urol.* 12(6), 340–356. doi: 10.1038/nrurol.2015.90
- [9] Li, D., Lv, H., Hao, X., Hu, B., & Song, Y. (2018) Prognostic value of serum alkaline phosphatase in the survival of prostate cancer: evidence from a meta-analysis. *Cancer Management and Research*, 10, 3125–3139. doi: 10.2147/CMAR.S174237
- [10] Poslavskaya, O. V. (2016) Vyznachennia liniinykh rozmiriv ta ploshch okremykh morfolohichnykh ob'ektiv na mikrofotohrafiiakh za dopomohoiu prohramy ImageJ [Determination of linear dimensions and square surfaces areas of morphological objects on micrographs using ImageJ software]. *Morphologia*. 10(3), 377-81. [in Ukrainian].
- [11] Poslavska, O. V., Shponka, I. S., Hritsenko, P. A., & Alekseenko, O. A. (2016) Morfometrychnyi analiz pantsytokeratyn-nehatyvnykh neplastychnykh ushkodzen limfatychnykh vuzliv shyi [Morphometric analysis of "pancitokeratin-positive" neoplastic lesions of the lymph nodes of the neck]. *Medychni perspektyvy*, 23(1), 30–37. [in Ukrainian]. doi: 10.14739/2310-1237.2017.3.118730



## MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: характеристика иммуногистохимической экспрессии в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника

М. А. Шишкин

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

**Цель работы** – изучить особенности иммуногистохимической экспрессии MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника.

**Материалы и методы.** Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала 30 пациентов, прошедших колоноскопию с полипэктомией, а также операционного материала 30 больных, прооперированных по поводу аденокарциномы дистальных отделов толстого кишечника.

**Результаты.** Установлено, что полипы дистальных отделов толстого кишечника отличаются повышенной экспрессией MUC-1 в сравнении с неизменной слизистой оболочкой. Максимальные показатели экспрессии маркера отмечены в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии MUC-1. Медиана экспрессии MUC-1 в аденокарциноме больше таковой в неизменной слизистой, однако меньше таковой в полипах. Сравнительный анализ данных, полученных при изучении экспрессии MUC2, указывает, что максимальные показатели экспрессии маркера характерны для неизменной слизистой оболочки. Полипы отличаются меньшими показателями экспрессии MUC2, среди них наибольшие показатели экспрессии отмечены в гиперпластических полипах, меньшие – в зубчатых аденомах и аденомах. Карцинома дистальных отделов отличается крайне низкой медианой экспрессии MUC2. Наибольшие показатели экспрессии MUC4 установлены в гиперпластических полипах, несколько меньшие – в неизменной слизистой оболочке. Зубчатые аденомы, аденомы и аденокарцинома отличаются меньшими показателями экспрессии MUC4. Минимальный уровень экспрессии маркера наблюдали в зубчатых аденомах. В полипах показатели экспрессии MUC5AC больше, чем в аденокарциноме. В неизменной слизистой оболочке экспрессия данного маркера не обнаружена. Максимальная медиана экспрессии MUC5AC установлена в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии маркера, несколько меньшая – в аденомах, еще меньшая – в гиперпластических полипах. Высокий уровень экспрессии Cdx-2 характеризует зубчатые аденомы и аденокарциному. Средний уровень экспрессии Cdx-2 – аденоматозные полипы, гиперпластические полипы и неизменную слизистую оболочку, и экспрессия маркера снижается в указанной последовательности.

**Выводы.** Полипы дистальных отделов толстого кишечника характеризуются повышением уровней экспрессии MUC1 и Cdx-2 при параллельном снижении экспрессии MUC2 и aberrантной экспрессии MUC5AC. Зубчатые аденомы отличаются наибольшими отклонениями показателей экспрессии изученных маркеров от таковых для неизменной слизистой. Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с полипами характеризуется снижением уровней экспрессии MUC1, MUC2 и MUC5AC.

**Ключевые слова:** новообразования кишечника, полипы, колоректальный рак, муцины, Cdx-2.

**Патология.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 73–80

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.2019.1.166313

**E-mail:**  
Shishkin.stomat@gmail.com

## MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: характеристика імуногістохімічної експресії в поліпах та аденокарциномі дистальних відділів товстої кишки

М. А. Шишкін

**Мета роботи** – вивчити особливості імуногістохімічної експресії MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в поліпах та аденокарциномі дистальних відділів товстої кишки.

**Матеріали та методи.** Виконали патоморфологічне та імуногістохімічне дослідження біопсійного матеріалу 30 пацієнтів, які пройшли колоноскопію з поліпектомією, а також операційного матеріалу 30 хворих, яких прооперували з приводу аденокарциноми дистальних відділів товстої кишки.

**Результати.** Встановили, що поліпи дистальних відділів товстого кишечника відрізняються підвищеною експресією MUC-1 порівняно з незмінною слизовою оболочкою. Максимальні показники експресії маркера визначили в зубчастих аденомах, що характеризуються високим рівнем експресії MUC-1. Медиана експресії MUC-1 в аденокарциномі більше такої в незмінній слизовій, однак менше такої в поліпах. Порівняльний аналіз даних, що отримані під час вивчення експресії MUC2, вказує: максимальні показники експресії маркера характерні для незмінної слизової оболонки. Полипы відрізняються меншими показниками експресії MUC2, серед них найбільші показники експресії спостерігали в гіперпластичних поліпах, менші – в зубчастих аденомах та аденомах. Карцинома дистальних відділів відрізняється вкрай низькою медіаною експресії MUC2. Найбільші показники експресії MUC4 виявили в гіперпластичних поліпах, дещо менші – в незмінній слизовій оболонці. Зубчасті аденоми, аденоми й аденокарцинома відрізняються меншими показниками експресії MUC4. Мінімальний рівень експресії маркера встановили в зубчастих аденомах. У поліпах показники експресії MUC5AC більші, ніж в аденокарциномі. У незмінній слизовій оболонці експресія цього маркера не виявлена. Максимальну медіану експресії MUC5AC спостерігали в зубчастих аденомах, що характеризуються високим рівнем експресії маркера, дещо меншу – в аденомах, ще меншу – в гіперпластичних поліпах. Високий рівень експресії Cdx-2 характеризує зубчасті аденоми й аденокарциному. Середній рівень експресії Cdx-2 – аденоматозні поліпи, гіперпластичні поліпи та незмінну слизову оболонку, причому експресія маркера знижується в наведеній послідовності.

**Ключові слова:** новоутворення кишечника, поліпи, колоректальний рак, муцини, Cdx-2.

**Патология.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 73–80

**Висновки.** Поліпи дистальних відділів товстого кишечника характеризуються підвищенням рівнів експресії MUC1 і Cdx-2 при паралельному зниженні експресії MUC2 й аберантній експресії MUC5AC. Зубчасті аденоми відрізняються найбільшими відхиленнями показників експресії маркерів, які вивчили, від таких для незміненої слизової. Аденокарцинома дистальних відділів товстого кишечника порівняно з поліпами характеризується зниженням рівнів експресії MUC1, MUC2 і MUC5AC.

**Key words:**  
intestinal  
neoplasms, polyps,  
colorectal cancer,  
Mucins, CDX2  
Transcription Factor.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 73–80

## MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2: immunohistochemical characteristics in polyps and adenocarcinoma of distal colon

M. A. Shyshkin

**Aim** – to study MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 immunohistochemical expression in polyps and adenocarcinoma of distal colon.

**Materials and methods.** Pathomorphological and immunohistochemical studies of biopsies from 30 patients, which underwent colonoscopy with polypectomy, and surgical material from 30 patients, which underwent surgery for colorectal adenocarcinoma, were carried out.

**Results.** Distal colonic polyps are different from unchanged mucosa by increased MUC-1 expression. Maximum expression levels of the marker are observed in serrated adenomas, which are characterized by high MUC-1 expression level. Median of MUC-1 expression in adenocarcinoma is greater than that in unchanged mucosa, however, less than in polyps. Comparative analysis of data of the study of MUC2 expression indicates that the maximum expression of the marker is characteristic of unchanged mucous membrane. Polyps are distinguished by lower MUC2 expression levels; among them, highest expression levels are observed in hyperplastic polyps, lesser – in serrated adenomas and adenomas. Distal colonic carcinoma has extremely low median of MUC2 expression. The highest levels of MUC4 expression are observed in adenomatous polyps, somewhat lower – in unchanged mucosa. Serrated adenomas, adenomas and adenocarcinomas differs by lower MUC4 expression levels. The minimum level of the marker expression is observed in serrated adenomas. In polyps MUC5AC expression levels are greater than in adenocarcinoma. Expression of this marker is not detected in unchanged mucosa. The maximum median of MUC5AC expression is observed in serrated adenomas, which are characterized by high level of the marker expression, somewhat lower – in adenomas, and more lower in hyperplastic polyps. High Cdx-2 expression level characterizes serrated adenomas and adenocarcinoma. The average Cdx-2 expression level is observed in adenomatous polyps, hyperplastic polyps, and unchanged mucosa, with the medians of the marked expression decreasing in that sequence.

**Conclusions.** Distal colon polyps are characterized by increased MUC1 and Cdx-2 expression levels, with parallel decrease of MUC2 expression level and aberrant MUC5AC expression. At the same time, serrated adenomas are distinguished by the greatest deviations of the studied markers expression levels. Adenocarcinoma of the distal colon, compared with polyps, is characterized by decrease of MUC1, MUC2 and MUC5AC expression levels.

Колоректальний рак (КРР) щороку діагностують у 1,3 млн чоловік, і відзначають стійку тенденцію до зростання показателя захворюваності. Згідно сучасним уявленням про етіологію КРР, всі випадки захворювання розділяють на спорадическі (70 %), успадковані (25 %) і вроджені (3–5 %) [1]. Розвитку спорадического КРР в більшості випадків передують доброякісні поліпи, які можуть зазнати злоякісної трансформації по аденоматозному або зубчатому шляху малигнізації [2].

Аденома передують КРР в 60–70 % випадків захворювання. Аденоми характеризуються диспластическими змінами епітелію, а також особливостями гістоархітектури, базуючись на яких виділяють тубулярні, вилязні і тубуло-вилязні аденоматозні поліпи. Надійсно відомо, що аденоматозний шлях малигнізації реалізується за рахунок мутацій гена *APC* в комбінації з мутаціями генів *KRAS*, *PIK3CA*, рідше інших генів, що призводить до надмірної стимуляції Wnt/ $\beta$ -катенинового сигнального шляху [3].

Приблизно 30–40 % випадків КРР передують зубчатим поліпам. Згідно актуальним даним, термін «зубчатий поліп» об'єднує гіперпластическі поліпи (ГП), традиційну зубчасту аденому (ТЗА) і сидячу зубчасту аденому (СЗА). Загальна риса для них – характерна зазубреність кишечних крипти,

в деяких випадках і епітеліальної вистилки. При цьому для ГП не характерні диспластическі зміни епітелію, які традиційно виявляють в ТЗА і СЗА. Однак, ГП, раніше вважалися потенційно не онкогенними, в нинішнє час також розцінюють як передшественники зубчатого шляху малигнізації. Найбільш характерною молекулярно-генетическою аномалією, що проявляється в ході зубчатого шляху, слугують мутації гена *BRAF* і/або *KRAS*, які призводять до постійної активації MAPK-сигнального каскаду. Мутації гена *BRAF* виявляють в 70–100 % малигнізованих зубчатих поліпів товстого кишечника [2,3].

Серед молекулярних альтерацій, спостережуваних в КРР, помітні якіснісні і кількіснісні зміни муцинів (MUCs) – високомолекулярні глікопротеїни, синтезовані багатьма епітеліоцитами. В траварильному тракті MUCs формують слизовий бар'єр, який захищає епітеліальний покрив від зовнішніх агресивних впливів (алкоголь, куріння, гостра їжа і т. д.), впливу ферментів, патогенних мікроорганізмів і інших несприятливих факторів [4]. Серед відомих на сьогодні 21 MUCs виділяють мембранно-асоційовані (MUC1, MUC4, MUC17), які крім протективної функції виконують також функцію передачі сигналів внутріклеточно, і секреторні

(MUC2, MUC5B, MUC5AC, and MUC6) муцины, формирующие основу полимерного геля, покрывающего слизистые оболочки [5].

Известно, что канцерогенез ассоциируется с изменением муцинового профиля данной локализации. То есть, возможна утрата экспрессии MUCs, характерных для органа, в котором локализуется первичная опухоль, а также экспрессия MUCs, которые в норме в данном органе не обнаруживают [6]. Кроме того, в недавних исследованиях приведены данные, указывающие на немаловажную роль MUCs в онкогенезе. По данным S. Nath, P. Mukherjee (2014), структурные изменения, которые претерпевают молекулы MUC1 в ходе опухолевого роста, приводят к перманентной активации MAPK, PI3K/Akt и Wnt-сигнальных путей [7]. В работе R. H. Fernandez, K. S. Lindén (2017) описана взаимосвязь между экспрессией MUC1 и эпителиально-мезенхимальным переходом [8]. Однако данные научной литературы, четко описывающие работу подобных механизмов в KPP, найдены не были. В ряде работ описано снижение экспрессии кишечного муцина MUC2 в KPP, а также ассоциация снижения экспрессии данного маркера с прогрессивными стадиями болезни и ухудшением прогноза для жизни пациентов. При этом механизмы этих ассоциаций до сих пор не известны [9,10]. MUC 4 предложен K. Shiv Ram et al. (2016) как маркер для выделения среди пациентов с полипами группы риска в отношении малигнизации [5]. Экспрессия MUC5AC характерна для слизистой оболочки желудка, и в условиях нормы не обнаруживается в слизистой кишечника. KPP отличается высокими показателями экспрессии данного маркера, что служит ярким примером смены муцинового профиля в ходе опухолевой прогрессии [12].

Cdx2 – кишечный фактор транскрипции, который в норме экспрессируется энтероцитами. Это еще один фенотипический маркер, который, как правило, включают в панель для изучения муцинового профиля неоплазий пищеварительного тракта [13]. В ряде работ показано, что Cdx-2 обладает опухолевыми свойствами: Cdx-2 связывается с  $\beta$ -катенином в ядре, разрушая  $\beta$ -катенин-TCF-протеиновые комплексы, что приводит к инактивации Wnt/ $\beta$ -катенинового сигнального пути; Cdx-2 способен стабилизировать p27Kip1, блокируя убиквитинирование данного протеина, ингибируя тем самым cyclinE и «останавливая» раковые клетки в G0 фазе [14]. KPP отличаются высокими уровнями экспрессии маркера Cdx-2 [13–16], что входит в резонанс с приведенными данными.

Таким образом, существует множество нерешенных вопросов касательно характеристик и роли иммуногистохимической экспрессии MUCs и Cdx-2 в KPP. Значительный интерес вызывает возможность выделения потенциально онкогенных полипов толстого кишечника с использованием данных маркеров.

## Цель работы

Изучить особенности иммуногистохимической экспрессии MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, Cdx2 в полипах и аденокарциноме дистальных отделов толстого кишечника.

## Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного материала 30 пациентов, прошедших колоноскопию с полипэктомией, а также операционного материала 30 больных, прооперированных по поводу аденокарциномы дистальных отделов толстого кишечника. В группе исследования полипов выделили: аденоматозные (10 случаев), гиперпластические полипы (15 случаев) и зубчатые аденомы (5 случаев). Группу контроля сформировали 10 образцов неизменной слизистой оболочки толстого кишечника.

Микроструктуру образований оценивали в парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также при помощи ШИК-реакции. В депарафинированных срезах после температурной демаскировки и подавления активности эндогенной пероксидазы по стандартной методике проводили иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с использованием поликлональных антител MUC1 (Thermo Lab, USA), MUC4 (Thermo Lab, USA), моноклональных антител MUC2, Clone M53 (Thermo Lab, USA), MUC5AC, Clone 45M1 (Thermo Lab, USA), Cdx-2, Clone DAK-CKX2 (DAKO, USA), а также системы визуализации EnVision FLEX с диаминобензидином (DAKO, USA). Результаты ИГХ-исследования оценивали в микроскопе Axioplan-2 (Carl Zeiss, Germany) при увеличении  $\times 200$ . В каждом случае в 5 полях зрения определяли паттерн экспрессии маркеров, а также оценивали уровень их экспрессии методом фотоцифровой морфометрии [17]. Уровень экспрессии ИГХ-маркеров выражали в условных единицах оптической плотности (УЕОП) и градуировали: 0–20 УЕОП – негативная реакция, 21–50 УЕОП – низкий уровень экспрессии, 51–100 УЕОП – умеренный уровень экспрессии, более 100 УЕОП – высокий уровень экспрессии.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ); данные представляли в виде Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ); сравнительный анализ проводили при помощи критерия Краскела–Уоллиса (сравнение результатов, полученных в 3 и более группах наблюдений). Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

Неизменная слизистая оболочка дистальных отделов толстого кишечника характеризуется низким уровнем экспрессии мембранно-ассоциированного муцина первого типа MUC1 [32,92 (31,28; 38,11) УЕОП], средним уровнем экспрессии секреторного кишечного муцина второго типа MUC2 [80,10 (78,62; 82,48) УЕОП], средним уровнем мембранно-ассоциированного муцина четвертого типа MUC4 [62,24 (50,28; 65,23) УЕОП], отсутствием экспрессии секреторного желудочного муцина пятого типа MUC5AC, а также средним уровнем ядерной экспрессии кишечного фактора транскрипции Cdx-2 [59,64 (57,12; 61,14) УЕОП].

Гиперпластические полипы дистальных отделов толстого кишечника характеризуются средними уров-

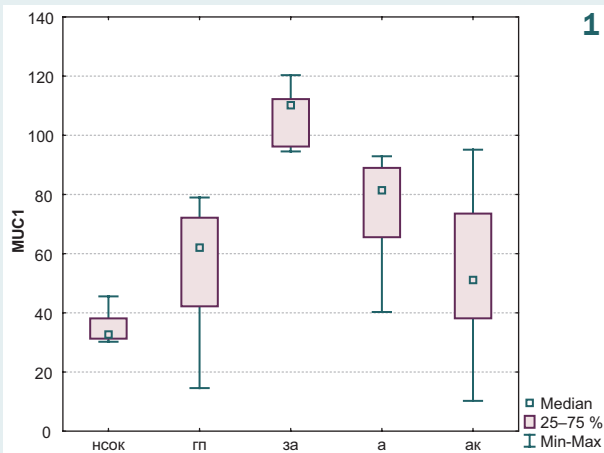


Рис. 1. Показатели экспрессии MUC1 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ( $p < 0,05$ ).

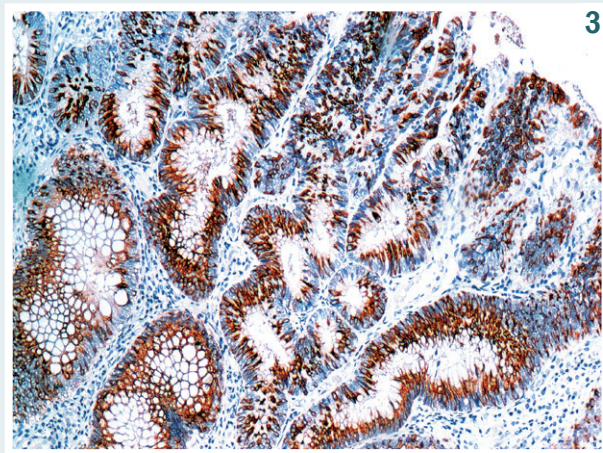


Рис. 3. Экспрессия MUC2 в гиперпластическом полипе. *Mo a Hu Mucin 2 (MUC2) Ab-2, Clone M53*. Ув.  $\times 100$ .

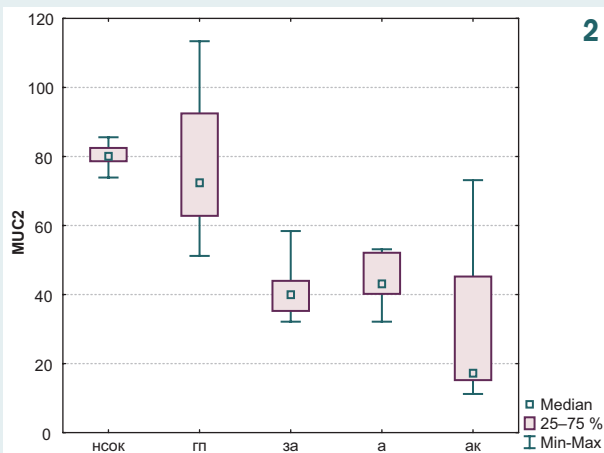


Рис. 2. Показатели экспрессии MUC2 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ( $p < 0,05$ ).

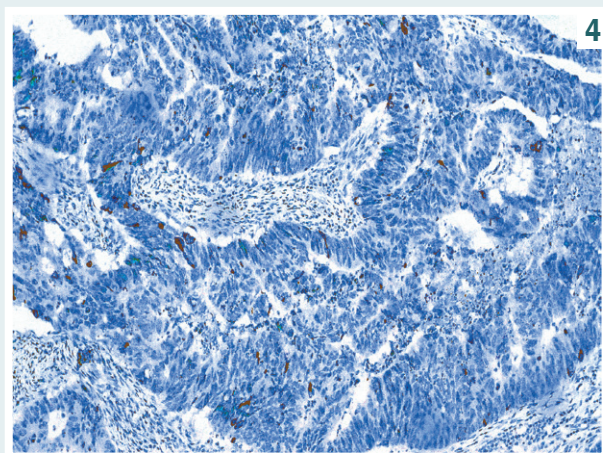


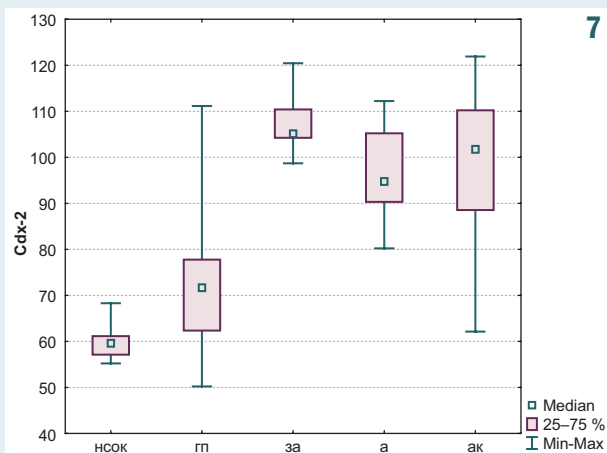
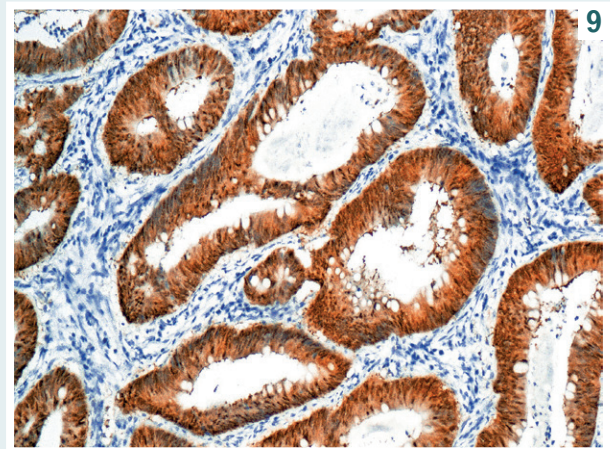
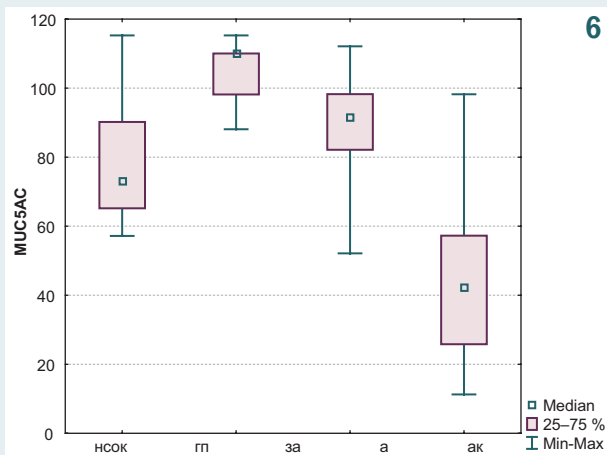
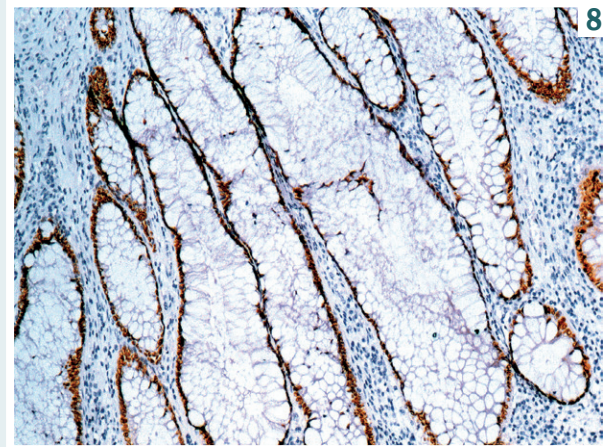
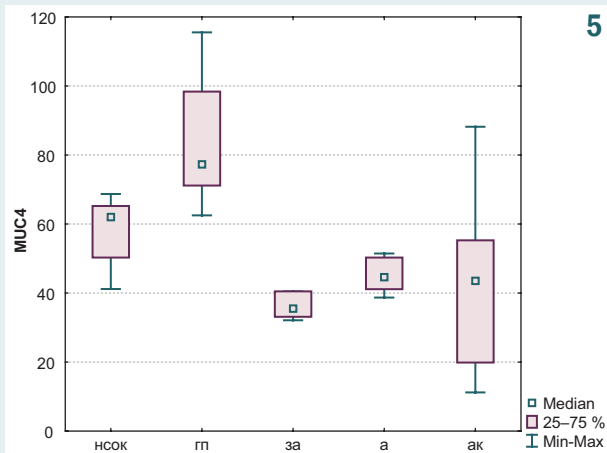
Рис. 4. Экспрессия MUC2 в карциноме. *Mo a Hu Mucin 2 (MUC2) Ab-2, Clone M53*. Ув.  $\times 100$ .

нями экспрессии MUC1 [62,13 (42,19; 72,15) УЕОП], MUC2 [72,63 (62,80; 92,48) УЕОП], MUC4 [77,52 (71,15; 98,37) УЕОП], MUC5AC [73,14 (65,19; 90,21) УЕОП] и Cdx-2 [71,81 (62,36; 77,77) УЕОП]. Зубчатые аденомы характеризуются высокими уровнями экспрессии MUC1 [110,24 (96,22; 112,24) УЕОП], MUC5AC [110,05 (98,17; 110,05) УЕОП] и Cdx-2 [105,22 (104,24; 110,41) УЕОП], а также низкими уровнями экспрессии MUC2 [40,21 (35,25; 43,98) УЕОП] и MUC4 [35,54 (33,12; 40,48) УЕОП]. Аденомы (тубулярные, ворсинчатые, тубуло-ворсинчатые) характеризуются средними уровнями экспрессии MUC1 [81,73 (65,56; 88,98) УЕОП], MUC4 [44,75 (41,12; 50,28) УЕОП], MUC5AC [91,68 (82,15; 98,27) УЕОП] и Cdx-2 [94,82 (90,32; 105,22) УЕОП], низким уровнем экспрессии MUC2 [43,18 (40,21; 52,12) УЕОП]. Сравнительный анализ с применением критерия Краскела–Уоллиса указывает на наличие статистически достоверной разницы ( $p < 0,05$ ) между результатами, полученными для каждого из маркеров в подгруппах исследования.

Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника характеризуется средним уровнем экс-

прессии MUC1 [51,20 (38,14; 73,54)], крайне низким уровнем экспрессии MUC2 [17,32 (15,21; 45,22)], низкими уровнями экспрессии MUC4 [43,61 (19,87; 55,28)] и MUC5AC [42,22 (25,82; 57,27)], а также высоким уровнем экспрессии Cdx-2 [101,86 (88,54; 110,21)].

Проведено сравнение данных, полученных для каждого маркера при исследовании неизменной слизистой, гиперпластических полипов, зубчатых аденом, аденоматозных полипов, а также карциномы дистальных отделов толстого кишечника. Установлено, что полипы дистальных отделов толстого кишечника отличаются более высокими показателями экспрессии MUC-1 в сравнении с неизменной слизистой оболочкой. Максимальные показатели экспрессии маркера отмечены в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии MUC-1 (для других групп наблюдения установлен средний уровень экспрессии маркера). Медиана экспрессии MUC-1 в аденокарциноме больше таковой в неизменной слизистой, однако меньше таковой в полипах дистальных отделов (рис. 1).



**Рис. 5.** Показатели экспрессии MUC4 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ( $p < 0,05$ ).

**Рис. 6.** Показатели экспрессии MUC5AC в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ( $p < 0,05$ ).

**Рис. 7.** Показатели экспрессии Cdx-2 в неизменной слизистой оболочке толстого кишечника (нсок), гиперпластических полипах (гп), зубчатых аденомах (за), аденомах (а), а также аденокарциноме (ак) дистальных отделов толстого кишечника ( $p < 0,05$ ).

**Рис. 8.** Экспрессия Cdx-2 в гиперпластическом полипе. *Mo a Hu CDX2, Clone DAK-CKX2*. Ув.  $\times 100$ .

**Рис. 9.** Экспрессия Cdx-2 в карциноме. *Mo a Hu CDX2, Clone DAK-CKX2*. Ув.  $\times 100$ .

Сравнительный анализ данных, полученных при изучении экспрессии MUC2 (рис. 2), указывает, что максимальные показатели экспрессии маркера характерны для неизменной слизистой оболочки. Полипы отличаются меньшими показателями экспрессии MUC2, среди них наибольшие показатели экспрессии отмечены в гиперпластических полипах (рис. 3), значительно меньше – в зубчатых аденомах и аденоматозных полипах. Установлено также, что карцинома дистальных отделов отличается крайне низкой медианой экспрессии MUC2 (рис. 4), которая,

согласно используемой градации, расценивается как негативное иммуноокрашивание (рис. 2).

Наибольшие показатели экспрессии MUC4 установлены в гиперпластических полипах, несколько меньше – в неизменной слизистой оболочке дистальных отделов толстого кишечника. Зубчатые аденомы, аденомы и аденокарцинома отличаются значительно меньшими показателями экспрессии MUC4. Минимальный уровень экспрессии маркера отмечен в зубчатых аденомах (рис. 5).

В полипах показатели экспрессии MUC5AC больше, чем в аденокарциноме дистальных отделов тол-

стого кишечника. В неизменной слизистой оболочке толстого кишечника экспрессию данного маркера не обнаружили. Максимальная медиана экспрессии MUC5AC установлена в зубчатых аденомах, которые характеризуются высоким уровнем экспрессии маркера, несколько меньшая – в аденомах (средний уровень экспрессии), еще меньшая – в гиперпластических полипах (средний уровень экспрессии) (рис. 6).

Высокий уровень экспрессии Cdx-2 характеризует зубчатые аденомы и аденокарциному дистальных отделов толстого кишечника. Средний уровень экспрессии Cdx-2 – аденоматозные полипы, гиперпластические полипы и неизменную слизистую оболочку; медианы экспрессии маркера снижаются в указанной последовательности (рис. 7–9).

## Обсуждение

MUC1 – трансмембранный гликопротеин, состоящий из двух доменов. Экстрацеллюлярный домен MUC1 выполняет протективную функцию, защищая эпителиоциты от внешних негативных воздействий (кислоты, щелочи, бактерии и др.). Интрацеллюлярный домен обеспечивает передачу сигналов извне к ядру клеток. Уровни экспрессии данного муцина в пищеварительном тракте варьируют: для слизистой желудка характерны высокие уровни экспрессии MUC1, для слизистой кишечника – низкие и средние [7]. Согласно полученным результатам, неизменная слизистая дистальных отделов толстого кишечника характеризуется низким уровнем экспрессии MUC1, что согласуется с данными специализированной литературы.

Кроме того, по данным научной литературы, экспрессия MUC1 в слизистой кишечника возрастает при хронических воспалительных заболеваниях, в полипах и КРР. При этом данные об уровнях экспрессии MUC1 в полипах и КРР варьируют в широком диапазоне: высокий уровень экспрессии определен в 19–76 % аденом, в 30–100 % карцином данной локализации [4–10]. В ряде работ показано, что высокий уровень экспрессии MUC1 в КРР напрямую коррелирует с глубиной инвазии опухоли, наличием метастазов, а также ухудшением прогноза для жизни пациентов [9].

Согласно полученным данным, уровень экспрессии MUC1 в полипах превышает таковой в неизменной слизистой. При этом максимальные его значения характеризуют зубчатые аденомы. Известно, что интрацеллюлярный домен MUC1 обладает способностью связываться с белком hsp90 в структуре митохондриальных мембран. Это запускает фосфорилирование цитоплазматического хвоста MUC1 и блокирует митохондриальные пути апоптоза [5]. Можно предположить, что экспрессия MUC1 в полипах ассоциируется с угнетением апоптоза эпителиоцитов и избыточной их пролиферацией, создавая тем самым условия для прогрессии неоплазии. Согласно полученным данным, медиана экспрессии MUC1 в карциноме меньше таковой в полипах, однако больше таковой в неизменной слизистой. Вероятно, угнетение апоптоза имеет меньшую значимость при прогрессии карциномы, когда большую роль приобретают другие механизмы. В

научной литературе описана перманентная активация Wnt/ $\beta$ -катенинового сигнального каскада, обусловленная посттрансляционной модификацией экстрацеллюлярного домена MUC1 в раке молочной железы, а также в протоковой карциноме поджелудочной железы. Структурные изменения экстрацеллюлярного домена MUC1 делают возможным его взаимодействие с Fz-рецепторами, запускающими Wnt-сигнальный каскад [7]. Для решения вопроса о работе данного механизма в КРР необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования.

MUC2 – секреторный муцин, экспрессия которого в норме характеризует слизистую оболочку толстого кишечника. MUC2 синтезируется колоноцитами и бокаловидными клетками, формируя основу слизистого слоя [4]. Согласно полученным результатам, неизменная слизистая дистальных отделов толстого кишечника характеризуется средним уровнем экспрессии MUC2, что согласуется с данными научной литературы.

Известно, что экспрессия MUC2 снижается в последовательности «аденома – карцинома» колоректальной локализации [5]. В исследовании S. R. Krishn et al. (2017) показано, что уровень экспрессии MUC2 вместе с уровнями экспрессии ряда других фенотипических маркеров может быть использован для дифференциальной диагностики зубчатых аденом и аденоматозных полипов [11]. По данным M. V. Kesari et al. (2015), MUC2 может быть использован для выделения полипов с большим риском малигнизации [9]. В этих работах показано, что снижение экспрессии MUC2 неблагоприятно в прогностическом плане. Согласно результатам проведенного исследования, экспрессия MUC2 снижается в последовательности «неизменная слизистая – гиперпластический полип – аденома – зубчатая аденома», что согласуется с литературными данными.

Установлено, что медиана экспрессии MUC2 в колоректальной карциноме меньше таковой для полипов, а также неизменной слизистой. В специализированной литературе описаны случаи как снижения, так и повышения уровня экспрессии MUC2 в КРР; и большинство авторов указывают, что для данной карциномы характерен низкий уровень экспрессии MUC2 [4–6, 10–11, 13]. По данным J. Betge et al. (2016), снижение уровня экспрессии MUC2 в КРР ассоциировано с мутациями генов *CIMP*, *V600E* и *BRAF* [6]. Среди изученных полипов наименьшие показатели экспрессии MUC2 установлены в зубчатых аденомах, в 40–60 % которых обнаруживают мутации гена *BRAF* [2,3]. По данным A. Kasprzak et al. (2018), снижение экспрессии MUC2 в КРР прямо коррелирует со снижением экспрессии мРНК одноименного гена, что указывает на «поломку» на уровне транскрипции, либо же на структурные аномалии кодирующего гена [10].

MUC4 – трансмембранный гликопротеин, секретруемый энтероцитами в норме [5]. Согласно полученным данным, неизменная слизистая оболочка дистальных отделов толстой кишки характеризуется средним уровнем экспрессии MUC4.

По данным S. R. Krishn et al. (2016), экспрессия MUC4 снижается в гиперпластических полипах, в еще большей мере – в зубчатых аденомах. Авто-

ры предложили использовать данный маркер для дифференциальной диагностики этих полипов [5]. В дальнейшей работе S. R. Krishn et al. (2017) предложили использовать MUC4 в комплексе с другими маркерами: снижение экспрессии MUC4, ассоциированное с увеличением экспрессии MUC5AC и MUC17, позволяет выделить полипы с повышенным риском малигнизации [11]. Согласно полученным данным, экспрессия MUC4 в гиперпластических полипах достоверно больше таковой в неизменной слизистой, а в зубчатых аденомах и аденоматозных полипах – значимо меньше таковой в неизменной слизистой. Эти данные указывают на значимо меньший злокачественный потенциал гиперпластических полипов в сравнении с аденоматозными полипами и зубчатыми аденомами. Известно также, что экспрессия MUC4 снижается в последовательности «аденома – карцинома» колоректальной локализации [11]. Согласно полученным данным, медиана экспрессии MUC4 в KPP меньше таковой в полипах, а также неизменной слизистой. При этом молекулярные основы снижения экспрессии этого маркера в полипах и KPP остаются не изученными, требуют дальнейших молекулярно-генетических исследований. Крайне противоречивы результаты, касающиеся прогностической ценности данного маркера для больных KPP [4–5,11].

MUC5AC – секреторный муцин, который в норме не синтезируется энтероцитами. В нормальных условиях его экспрессию обнаруживают в слизистой оболочке дыхательных путей, желудка, а также репродуктивных органов [12]. Согласно полученным данным, экспрессия MUC5AC в неизменной слизистой оболочке кишечника не отмечена.

Дисрегуляция MUC5AC описана для ряда патологий, включая хронические воспалительные заболевания и неоплазии кишечника, – в условиях патологического процесса устанавливают экспрессию MUC5AC [9]. Согласно полученным данным, гиперпластические и аденоматозные полипы характеризуют средний уровень экспрессии MUC5AC, зубчатые аденомы – высокий уровень экспрессии маркера. По данным M. Khaidakov et al. (2016), гиперэкспрессия MUC5AC в полипах толстого кишечника обусловлена гипометилированием промотора кодирующего гена, которое, в свою очередь, ассоциировано с мутациями гена *BRAF* (ранее уже отмечена высокая частота их встречаемости в зубчатых аденомах), а также с микросателлитной нестабильностью [12].

Установлено, что KPP характеризуется средним уровнем экспрессии MUC5AC. Медиана экспрессии MUC5AC в карциноме достоверно ниже таковой в полипах. По данным научной литературы, экспрессия этого маркера в KPP обусловлена перманентной активацией MAPK-сигнального каскада, в результате которой активируется функция ряда факторов транскрипции. Среди последних – E2F/DP – фактор, регулирующий транскрипцию ряда генов, среди которых и MUC5AC [13].

Cdx-2 – фактор транскрипции, регулирующий пролиферацию и дифференцировку энтероцитов. Экспрессируется клетками слизистой оболочки кишечника на всем протяжении – от двенадцатиперстной

до прямой кишки. Это высокоспецифичный маркер кишечной дифференцировки эпителиоцитов, который используют для верификации толстокишечного происхождения метастатических карцином [18].

Установлено, что неизменная слизистая оболочка характеризуется средним уровнем экспрессии Cdx-2. Средний уровень экспрессии маркера также характеризует гиперпластические и аденоматозные полипы, высокий – зубчатые полипы и KPP. Ранее уже приведены данные о том, что Cdx-2 обладает опухолю-супрессивными свойствами – возрастающая активность этого фактора транскрипции может приводить к инактивации Wnt/ $\beta$ -катенинового сигнального пути, а также «останавливать» раковые клетки в G0 фазе [14]. Данные работ, в которых была изучена прогностическая ценность Cdx-2, указывают, что высокие уровни экспрессии маркера ассоциированы с риском малигнизации полипов, а также со снижением выживаемости больных KPP [14–16,18]. Таким образом, открытым остается вопрос о том, почему экспрессия протеина, обладающего опухолю-супрессорными свойствами, возрастает в полипах с риском малигнизации, в еще большей мере – в карциноме. Возможно, функции Cdx-2 искажаются в ходе онкогенеза или экспрессия Cdx-2 возрастает в ответ на малигнизацию, не справляясь при этом с задачей угнетения опухолевого роста, что может быть обусловлено другими, более «мощными» молекулярно-генетическими аномалиями.

## Выводы

1. Полипы дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с неизменной слизистой оболочкой характеризуются повышением уровней экспрессии трансмембранного муцина 1 типа MUC1 и кишечного фактора транскрипции Cdx-2 при параллельном снижении экспрессии секреторного муцина 2 типа MUC2, а также аберрантной экспрессии секреторного муцина 5 типа MUC5AC. Кроме того, отмечают повышение экспрессии MUC4 в гиперпластических полипах, а также снижение экспрессии данного маркера в зубчатых аденомах и аденомах относительно неизменной слизистой.

2. Зубчатые аденомы отличаются наибольшими отклонениями показателей экспрессии изученных маркеров от таковых для неизменной слизистой: характерны высокие уровни экспрессии MUC1, MUC5AC и Cdx-2, а также низкие уровни экспрессии MUC2 и MUC4. Эти наблюдения позволяют сделать вывод, что зубчатые аденомы накапливают наибольшее количество молекулярно-генетических аномалий, меняющих их фенотип, в сравнении с другими изученными полипами.

3. Аденокарцинома дистальных отделов толстого кишечника в сравнении с полипами характеризуется снижением уровней экспрессии MUC1, MUC2 и MUC5AC. Наблюдают также снижение уровня экспрессии MUC4 относительно гиперпластических и аденоматозных полипов при повышении экспрессии этого маркера относительно зубчатых аденом, а также повышение уровня экспрессии Cdx-2 относительно гиперпластических и аденоматозных полипов при снижении экспрессии данного маркера относительно зубчатых аденом.

**Финансирование**

Исследование проведено в рамках НИР Запорожского государственного медицинского университета «Раннее молекулярно-генетическое и иммуногистохимическое прогнозирование склонности к прогрессии рака легких и органов пищеварения» № госрегистрации 0117U002580 (2017–2019).

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 25.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 06.03.2019

**Сведения об авторе:**

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Відомості про автора:**

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

**Information about author:**

Shyshkin M. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Список литературы**

- [1] Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer / I. Mármol, C. Sánchez-de-Diego, A. Pradilla Dieste, et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18. – Issue 1. – E197.
- [2] Colorectal serrated pathway cancers and precursors / M.J. O'Brien, Q. Zhao, S. Yang // *Histopathology*. – 2015. – Vol. 66. – Issue 1. – P. 49–65.
- [3] Demographic and histopathological characteristics of colorectal polyps: a descriptive study based on samples obtained from symptomatic patients / G. Cekodhima, A. Cekodhima, A. Beqiri, et al. // *Zdravstveno varstvo*. – 2016. – Vol. 55. – Issue 2. – P. 108–113.
- [4] Mucin expression patterns in histological grades of colonic cancers in Ghanaian population / K.O. Danquah, E. Adjei, S. Ouayson, et al. // *PanAfrican Medical Journal*. – 2017. – Vol. 27. – P. 267–272.
- [5] Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer / S.R. Krishn, S. Kaur, L.M. Smith, et al. // *Cancer Letters*. – 2016. – Vol. 374. – Issue 2. – P. 304–314.
- [6] MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance / J. Betge, N.I. Schneider, L. Harbaum, et al. // *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. – 2016. – Vol. 469. – Issue 3. – P. 255–265.
- [7] Nath S. MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression / S. Nath, P. Mukherjee // *Trends in Molecular Medicine*. – 2014. – Vol. 20. – Issue 6. – P. 332–342.
- [8] Fernandez H.R. The aspirin metabolite salicylate inhibits lysine acetyltransferases and MUC1 induced epithelial to mesenchymal transition / H.R. Fernandez, S.K. Linden // *Nature*. – 2017. – Vol. 7. – Issue 1. – P. 5626–5638.
- [9] Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature / M.V. Kesari, V.L. Gaopande, A.R. Joshi, et al. // *Indian Journal of Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 34. – Issue 1. – P. 63–67.
- [10] Kasprzak A. Differential expression of mucin 1 and mucin 2 in colorectal cancer / A. Kasprzak, E. Siodla, M. Andrzejewska // *World Journal of Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 24. – Issue 36. – P. 4164–4177.
- [11] Mucins and associated O-glycans based immunoprofile for stratification of colorectal polyps: clinical implication for improved colon surveillance / S.R. Krishn, S. Kaur, Y.M. Sheinin, et al. // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – P. 7025–7038.
- [12] Gastric Proteins MUC5AC and TFF1 as Potential Diagnostic Markers of Colonic Sessile Serrated Adenomas/Polyps / M. Khaidakov, K.K. Lai, D. Roudachevski, et al. // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2016. – Vol. 146. – Issue 5. – P. 530–537.
- [13] Predictive Gene Signatures: Molecular Markers Distinguishing Colon Adenomatous Polyp and Carcinoma / J.E. Drew, A.J. Farquharson, C.D. Mayer, et al. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – Issue 11. – e113071.
- [14] Cdx1 and Cdx2 Function as Tumor Suppressors / A. Hryniuk, S. Grainger, J.G.A. Savury, D. Lohnes // *Journal of Biological Chemistry*. – 2014. – Vol. 289. – Issue 48. – P. 33343–33354.

- [15] Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients / J.M. Bae, T.H. Lee, N.Y. Cho, et al. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 21. – Issue 5. – P. 1457–1467.
- [16] CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer / P. Dalerba, D. Sahoo, S. Paik, et al. // *The New England Journal of Medicine*. – 2016. – Vol. 374. – Issue 3. – P. 211–222.
- [17] Патент 99314 Україна, МПК 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко; заявник і патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т; заявл. 29.12.14.; опубл. 25.05.15 // *Бюлетень*. – 2015. – №10.
- [18] Expression of CDX-2 and Ki-67 in different grades of colorectal adenocarcinomas / A. Sen, S. Mitra, R.N. Das, et al. // *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. – 2015. – Vol. 58. – Issue 2. – P. 158–162.

**References**

- [1] Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E., & Rodríguez Yoldi, M. J. (2017) Colorectal Carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), E197. doi: 10.3390/ijms18010197
- [2] O'Brien, M. J., Zhao, Q., & Yang, S. (2015) Colorectal serrated pathway cancers and precursors. *Histopathology*, 66(1), 49–65. doi: 10.1111/his.12564
- [3] Cekodhima, G., Cekodhima, A., Beqiri, A., Alimehmeti, M., & Sulo, G. (2016) Demographic and histopathological characteristics of colorectal polyps: a descriptive study based on samples obtained from symptomatic patients. *Zdravstveno varstvo*, 55(2), 118–123. doi: 10.1515/sjph-2016-0016
- [4] Danquah, K. O., Adjei, E., Ouayson, S., Adankwah, E., Gyamfi, D., Sam-pene Ossei, P. P., et al. (2017) Mucin expression patterns in histological grades of colonic cancers in Ghanaian population. *PanAfrican Medical Journal*, 27, 267–272. doi: 10.11604/pamj.2017.27.267.9793
- [5] Krishn, S. R., Kaur, S., Smith, L. M., Johansson, S. L., Jain, M., Patel, A., et al. (2016) Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Letters*, 374(2), 304–14. doi: 10.1016/j.canlet.2016.02.016
- [6] Betge, J., Schneider, N. I., Harbaum, L., Pollheimer, M. J., Lindtner, R. A., Komprat, P., et al. (2016) MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 in colorectal cancer: expression profiles and clinical significance. *Virchows Archiv: an international journal of pathology*, 469(3), 255–65. doi: 10.1007/s00428-016-1970-5
- [7] Nath, S., & Mukherjee, P. (2014) MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression. *Trends in Molecular Medicine*, 20(6), 332–42. doi: 10.1016/j.molmed.2014.02.007
- [8] Fernandez, H. R., & Linden, S. K. (2017) The aspirin metabolite salicylate inhibits lysine acetyltransferases and MUC1 induced epithelial to mesenchymal transition. *Nature*, 7(1), 5626–5638. doi: 10.1038/s41598-017-06149-4
- [9] Kesari, M. V., Gaopande, V. L., Joshi, A. R., Babanagare, S. V., Gogate, B. P., & Khadilkar, A. V. (2015) Immunohistochemical study of MUC1, MUC2 and MUC5AC in colorectal carcinoma and review of literature. *Indian Journal of Gastroenterology*, 34(1), 63–7. doi: 10.1007/s12664-015-0534-y
- [10] Kasprzak, A., Siodla, E., Andrzejewska, M., Szmeja, J., Seraszek-Jaros, A., Cofta, S., & Szafarski W. (2018) Differential expression of mucin 1 and mucin 2 in colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 24(36), 4164–4177. doi: 10.3748/wjg.v24.i36.4164
- [11] Krishn, S. R., Kaur, S., Sheinin, Y. M., Smith, L. M., Gautam, S. K., Patel, A., et al. (2017) Mucins and associated O-glycans based immunoprofile for stratification of colorectal polyps: clinical implication for improved colon surveillance. *Oncotarget*, 8(4), 7025–7038. doi: 10.18632/oncotarget.12347
- [12] Khaidakov, M., Lai, K. K., Roudachevski, D., Sargsyan, J., Goyné, H. E., Pai, R. K., et al. (2016) Gastric Proteins MUC5AC and TFF1 as Potential Diagnostic Markers of Colonic Sessile Serrated Adenomas/Polyps. *American Journal of Clinical Pathology*, 146(5), 530–537. doi: 10.1093/ajcp/aqw142
- [13] Drew, J. E., Farquharson, A. J., Mayer, C. D., Vase, H. F., Coates, P. J., Steele, R. J., & Carey, F. A. (2014) Predictive Gene Signatures: Molecular Markers Distinguishing Colon Adenomatous Polyp and Carcinoma. *PLoS One*, 9(11), e113071. doi: 10.1371/journal.pone.0113071
- [14] Hryniuk, A., Grainger, S., Savury, J. G. A., & Lohnes, D. Cdx1 and Cdx2 Function as Tumor Suppressors. *Journal of Biological Chemistry*, 289(48), 33343–54. doi: 10.1074/jbc.M114.583823
- [15] Bae, J. M., Lee, T. H., & Cho, N. Y. (2015) Loss of CDX2 expression is associated with poor prognosis in colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*, 21(5), 1457–1467. doi: 10.3748/wjg.v21.i5.1457
- [16] Dalerba, P., Sahoo, D., Paik, S., Guo, X., Yothers, G., Song, N., et al. (2016) CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Colon Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 374(3), 211–222. doi: 10.1056/NEJMoA1506597
- [17] Tumanyskyi, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., & Zubko, M. D. (patentee) (2015) Patent 99314 Україна, МПК 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів [Patent of Ukraine 99314, IPC 2015.01 G01N 21/00 G06K 9/00 The technique of digital morphometry of immunohistochemical slides]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
- [18] Sen, A., Mitra, S., Das, R. N., Dasgupta, S., Saha, K., Chatterjee, U., et al. (2015) Expression of CDX-2 and Ki-67 in different grades of colorectal adenocarcinomas. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 58(2), 158–62. doi: 10.4103/0377-4929.155304



# Influence of industrial atmospheric pollution on the development of pathology of respiratory organs

M. P. Hrebniak<sup>A-F</sup>, R. A. Fedorchenko<sup>\*,A-F</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Due to the technogenic load, first of all, the quality of the air basin is disturbed. More than 80 % of diseases depend to some extent on its quality, but in an industrial city, atmospheric pollution determines the priority of pathology of respiratory organs.

**The purpose** of the work was to study the peculiarities of the development of pathological conditions of the respiratory organs in the population living in conditions of significant atmospheric pollution.

**Materials and methods.** Industrial emissions into the air basin from enterprises of the metallurgical industry were investigated. The type of violations of ventilation functions (obstruction, restriction, obstruction on the background of restriction) was determined from the “flow – volume” curve of the forced expiration. The incidence was studied according to the statistical materials of hospitals.

**Results.** The residents of the industrial city have a complex of ecotoxicants, which leads to a dangerous degree of pollution and a very contaminated level. In 53.8 % of the city's residents there are deviations in the ventilation function (by the method of the flow - volume curve analysis) due to the development of obstructive changes in the bronchopulmonary apparatus of the upper respiratory tract. After 49 years of living in such conditions, nearly in all the population prenosological conditions are registered (91.7–93.9 %). With prolonged residence in conditions of contamination, obstruction significantly increases against the background of restriction. The incidence of respiratory diseases in adults is higher with a high level of use of production capacity.

**Conclusions.** In 53.8 % of the inhabitants of the industrial city, there are deviations in the ventilation function due to the development of obstructive changes in the broncho-pulmonary apparatus of the upper respiratory tract (obstruction combined with a restriction and obstruction).

With age, the proportion of persons with prenosological conditions of respiratory function increases, especially at the age of 30–39 and 40–49 years. A high degree correlation exists between air pollution and population morbidity. Thus, the correlation coefficient between the total city air pollution indexes and respiratory diseases is 0.72 ( $P < 0.01$ ) in adults and 0.66 ( $P < 0.05$ ) in children.

The morbidity of the adult population of the megapolis with diseases of the respiratory organs has waved in the last years. The trend of its dynamics was  $y = 3343.2 - 47.97x$ , with a coefficient of multiple correlation of 0.78 ( $P < 0.05$ ). The regularities of long-term chromodynamics of respiratory organs incidence among children is almost the same as at high and at a moderate level of industrial production - dynamics tendency has a look of equation  $y = 10190.3 - 41.2x$  and  $y = 8813.9 - 76.3x$  with a coefficient of multiple correlation 0.59–0.64 ( $P < 0.05$ ).

## Key words:

air pollution, respiratory tract diseases, hygienic prenosological diagnostics.

## Pathologia

2019; 16 (1), 81–86

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166314

## \*E-mail:

ruslanafedorchenko2016@gmail.com

## Вплив індустріальних атмосферних забруднень на розвиток патології органів дихання

М. П. Гребняк, Р. А. Федорченко

Унаслідок техногенного навантаження передусім порушується якість повітряного басейну. Понад 80 % захворювань так чи інакше залежать від його якості, але у промисловому місті атмосферні забруднення зумовлюють пріоритетне місце патології органів дихання.

**Мета роботи** – вивчити особливості розвитку патологічних станів органів дихання в населення, що проживає в умовах істотних атмосферних забруднень.

**Матеріали та методи.** Дослідили промислові викиди в повітряний басейн від підприємств металургійної галузі. За кривою «потік – об'єм» форсованого видиху визначали тип порушень вентиляційної функції (обструкція, рестрикція, обструкція на тлі рестрикції). Захворюваність вивчали за статистичними матеріалами лікарень.

**Результати.** На жителів промислового міста діє комплекс екоотоксикантів, що зумовлює небезпечний ступінь забруднення та дуже забруднений рівень. У 53,8 % містян є відхилення вентиляційної функції (за методом кривої «потік – об'єм») внаслідок розвитку обструктивних змін бронхолегеневого апарату верхніх дихальних шляхів. Після 49 років проживання в таких умовах майже в усього населення реєструють донозологічні стани (91,7–93,9 %). При тривалому проживанні в умовах забруднення вірогідно збільшується обструкція на тлі рестрикції. Захворюваність на патології органів дихання серед дорослих вища при високому рівні використання потужностей виробництва.

**Висновки.** У 53,8 % жителів промислового міста є відхилення вентиляційної функції внаслідок розвитку переважно обструктивних змін бронхолегеневого апарату верхніх дихальних шляхів (обструкції на тлі рестрикції та обструкції).

## Ключові слова:

повітря забруднення, хвороби органів дихання, гігієнічна донозологічна діагностика.

## Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 81–86

Залежно від віку зростає питома вага осіб із донозологічними станами функції зовнішнього дихання, найбільше – у віці 30–39 і 40–49 років. Результати свідчать, що між забрудненням атмосферного повітря та захворюваністю населення є кореляційний зв'язок високого ступеня. Так, коефіцієнт кореляції між показником сумарного забруднення повітря міста та хворобами органів дихання становить 0,72 ( $p < 0,01$ ) у дорослих та 0,66 ( $p < 0,05$ ) у дітей.

Захворюваність дорослого населення мегаполісу на патології органів дихання останніми роками хвилеподібно зменшувалась. Тренд її динаміки мав вигляд  $y = 3343,2 - 47,97x$  при коефіцієнті множинної кореляції 0,78 ( $p < 0,05$ ). Особливо значно захворюваність зменшилася в дослідній групі внаслідок зниження рівня використання потужностей виробництва. Закономірністю захворюваності дитячого населення на хвороби органів дихання є майже однакова лінія тренду як при високому, так і при помірному рівні використання потужностей виробництва – тренд динаміки мав вигляд рівняння  $y = 10190,3 - 41,2x$  та  $y = 8813,9 - 76,3x$  при коефіцієнті множинної кореляції 0,59–0,64 ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** воздуха загрязнения, болезни органов дыхания, гигиеническая донозологическая диагностика.

**Патологія.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 81–86

## Влияние индустриальных атмосферных загрязнений на развитие патологии органов дыхания

Н. П. Гребняк, Р. А. Федорченко

Вследствие техногенной нагрузки в первую очередь нарушается качество воздушного бассейна. Более 80 % заболеваний в той или иной степени зависят от его качества, но особую приоритетность атмосферные загрязнения имеют для патологии органов дыхания.

**Цель работы** – изучить особенности развития патологических состояний органов дыхания у населения, проживающего в условиях значительных атмосферных загрязнений.

**Материалы и методы.** Исследованы промышленные выбросы в воздушный бассейн от предприятий металлургической отрасли. По кривой «поток – объем» форсированного выдоха определяли тип нарушений вентиляционных функций (обструкция, рестрикция, обструкция на фоне рестрикции). Заболеваемость изучали по статистическим материалам больниц.

**Результаты.** На жителей промышленного города действует комплекс экотоксикантов, что приводит к опасной степени загрязнения и опасному уровню загрязнения атмосферного воздуха. У 53,8 % жителей города установлены отклонения вентиляционной функции (по методу анализа кривой «поток – объем») вследствие развития обструктивных изменений бронхолегочного аппарата верхних дыхательных путей. После 49 лет проживания в таких условиях практически у всего населения регистрируют донозологические состояния (91,7–93,9 %). При длительном проживании в условиях загрязнения достоверно возрастает обструкция на фоне рестрикции. Заболеваемость болезнями органов дыхания у взрослых выше при высоком уровне использования мощностей производства.

**Выводы.** У 53,8 % жителей промышленного города отмечены отклонения вентиляционной функции вследствие развития преимущественно обструктивных изменений бронхолегочного аппарата верхних дыхательных путей (обструкции на фоне рестрикции и обструкции). В зависимости от возраста растет удельный вес лиц с донозологическими состояниями функции внешнего дыхания, наибольший – в возрасте 30–39 и 40–49 лет. Результаты свидетельствуют, что между загрязнением атмосферного воздуха и заболеваемостью населения есть корреляционная связь высокой степени. Так, коэффициент корреляции между показателями суммарного загрязнения воздуха города и болезнями органов дыхания составляет 0,72 ( $p < 0,01$ ) у взрослых и 0,66 ( $p < 0,05$ ) у детей.

Заболеваемость взрослого населения мегаполиса болезнями органов дыхания в последние годы волнообразно уменьшалась. Тренд ее динамики имел вид  $y = 3343,2 - 47,97x$  при коэффициенте множественной корреляции 0,78 ( $p < 0,05$ ). Особенно значительно заболеваемость уменьшилась в опытной группе вследствие снижения уровня использования мощностей производства. Закономностью динамики заболеваемости детского населения болезнями органов дыхания была практически одинакова линия тренда как при высоком, так и при умеренном уровне использования мощностей производства – тренд динамики описывается уравнениями  $y = 10190,3 - 41,2x$  и  $y = 8813,9 - 76,3x$  при коэффициенте множественной корреляции 0,59–0,64 ( $p < 0,05$ ).

Primarily, the quality of air is violated because of anthropogenic impact. Public health is one of the leading criteria of environmental quality. Atmosphere pollution in the industrial city determines the priority of respiratory organs pathology [1]. According to World Health Organization (WHO), atmosphere pollution belongs to the priority risk factors for public health, more than 80 % of diseases depend on the air quality in varying degrees [2].

At the same time, the development of industrial production and the growth of volumes of use of chemicals against the backdrop of intensive urban urbanization are conditioned by constant qualitative and quantitative changes in the impact of industrial emissions and greatly complicate the problem of sanitary protection of the air basin. The negative impact on the health of atmospheric

air pollution remains incompletely studied due to the extraordinary complexity of such studies in the city [3].

It has been determined that the safety and optimal condition of the environment and health of industrial cities largely depend on the nature and extent of the harmful emissions on the organism. The real threat to public health is aggravated by the simultaneous pollution of the environment by a large number of harmful chemicals from stationary and mobile sources [4].

At the same time, in the professional literature sources, the questions about peculiarities of the development of pathological conditions under the influence of numerical ecotoxicants, the substantiation of the criteria for the early manifestations of pathological changes, which are the precursors for the clinical forms of diseases, remain unclear.

## The purpose

The purpose of the work is to study the peculiarities of the development of pathological states of respiratory organs in the population living in conditions of significant atmospheric pollution.

## Materials and methods

The industrial emissions into the air from the metallurgical enterprises were studied during 1990–2014. The volume of emission studies for priority pollutants was 7248 analyzes. By means of electronic spiroanalyzers RID-124-D and SPIROCOM HAI-Medica are a medical screening of 377 conditionally healthy residents of Zaporizhzhia, aged from 19 to 80 years without complaints about the respiratory system and who have never been under medical supervision due to respiratory organ diseases (asthma, tuberculosis, pneumonia, bronchiectasis, cystic fibrosis, tumors, goiter, polyps, allergic rhinitis). These were the patients of the clinic, who went to medical institutions for other diseases (traumatic, gynecological, urological, otolaryngologic, gastroenterological, ophthalmologic and infectious pathology) and did not have professional contacts with the harmful factors of the production environment. At the time of the survey, all investigated residents did not have a bad habit like smoking.

Spirometric studies are performed according to international standards [5,6]. According to spirometric indicators, the presence of violations of the ventilation function was identified and their type (obstruction, restriction or obstruction against the background of restriction) was determined. The obstructive type was defined as the decrease in peak volume (volume of excited exhalation velocity), volume exhalation velocity in the range of 25–75 % of FVC and volume of forced exhalation for 1 second without corresponding reduction in lung capacity. Restrictive type of violation was characterized by a predominant decrease in the lung capacity, volume of forced exhalation for 1 second against the background of normal or increased its correlation with the forced vital capacity of the lungs. The curve of the loop has a narrower shape due to a decrease in the volume of the lungs. The mixed type criterion (obstruction against the background of restriction) was the simultaneous reduction of the volume of forced exhalation for 1 sec, lung capacity and their ratio. In this case, the volume of forced inspiration is greater than exhalation. The degree of obstruction is determined by the specific spirographic sign (volume of forced exhalation for 1 sec). For the obstruction of large and medium bronchi, a specific displacement of the point of a voluminous forced speed in the range of 50 % FVC. The obstruction of small bronchi and bronchioles is characterized by a decrease in the volume of forced velocity in the range of 75 % FVC.

For the analysis of the morbidity and prevalence of respiratory diseases, the statistical materials of the treatment and prophylactic institutions of Zaporizhzhia were used (9680 primary medical documents were processed). Hygienic, analytical-synthetic, physiological and statistical methods are used.

On the basis of the parameters of air pollution: the total pollution index ( $\Sigma$ TPI), the maximum allowable

contamination (MAC), the multiplicity of excess of the total indicator of the maximum permissible level of pollution ( $\Sigma$ TPI/MAC), two groups of supervision have been formed. The control group included Dniprovskiy and Khortytskyi districts, where the value of the indicator  $\Sigma$ TPI/MAC was  $1.9 \pm 0.1$ ; the research group – Zavodskiy, Oleksandrivskiy, Voznesenskiy and Komunarskiy (industrial) districts where the value of the indicator  $\Sigma$ TPI/MAC was  $10.0 \pm 0.2$ . The data is presented in the form of averages and standard mean error. The significance of differences was estimated using Student's t-criterion for independent and dependent samples at  $P < 0.05$ .

The correlation-regression method determined the relationship between the volume of emissions of harmful compounds in the air and the level of pollution with harmful substances of atmospheric air in the city of Zaporizhzhia. The pathological impact of air pollution contamination is established by a regression analysis of the relationship between the total level of air pollution and the incidence of diseases of the respiratory system with the subsequent justification of the regression equations. For regression analysis, the criterion indicators of industrial emissions and concentrations of harmful chemicals in the atmospheric air of the metropolis are used.

Statistical processing: the results of the performed researches were processed by the method of variation statistics using the package of the license program Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J).

## Results

The dominating factor that causes respiratory diseases among the population of the steel-industry city is the high level of aerogenic pollution. During last decade, the total level of air pollution exceeded 5,6 times hygiene regulations. According to existing standards, such a degree of air pollution is defined as dangerous, and the level of pollution – very dirty.

The industrial city residents are influenced by whole complex of harmful substances. The most important for air pollution among them are the emissions from petrol (341.80 tons/year), manganese dioxide (338.04 tons/year), calcium oxide (258.60 tons/year), chlorine (228.9 tons/year), ammonium (149.10 tons/year), xylol (141.80 tons/year). The maximum permissible concentration (MPC) of dust is exceeded in half of all air samples and aerosols and vapor – in more than one third. The atmospheric air of industrial city has properties of dynamic environment in qualitative and quantitative points. Particularly, fluctuations of gross emissions (94.3–222.3 tons/year), emissions of solids (9.4–50.7 tons/year) and gas (100.2–171.6 tons/year).

Among the 377 surveyed residents of Zaporizhzhia, there were 163 men and 214 women. According to the results of the spirometry, 92 men and 109 women had respiratory failure (Table 1). The main gender difference is the higher proportion of obstructive males (6.1 %) and obstruction against the background of restriction (10.4 %), but they were characterized by a tendency ( $P < 0.1$ ).

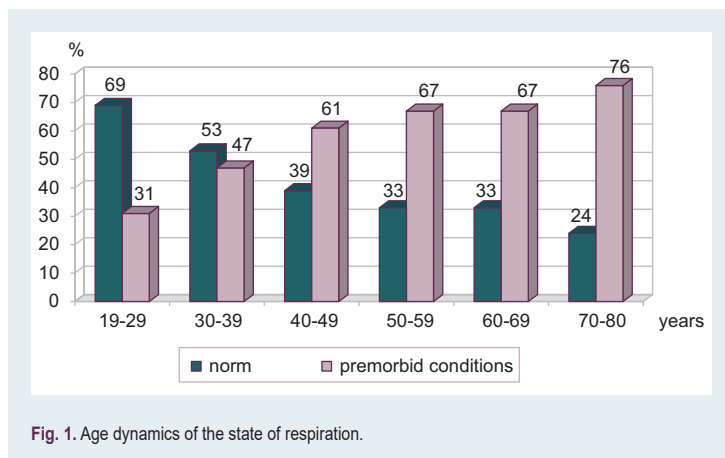
While analyzing of respiratory function age dynamics in the industrial city population, an increase in the proportion of people with prenosological states was established (Fig. 1).

**Table 1.** Gender characteristics of the prenosophical state (%)

Prenosophical state	Men n = 92	Women n = 109
Obstruction	44.6	38.5
Restriction	6.5	23.0
Obstruction combined with a restriction	48.9	38.5

**Table 2.** Distribution of obstruction, restriction and obstruction combined with a restriction in different age groups (n, %)

Age, full years	Types of violations		
	obstruction, n = 84	restriction, n = 32	obstruction combined with a restriction, n = 85
19–29	17 (53.1)	11 (34.4)	4 (12.5)
30–39	8 (42.1)	1 (31.5)	10 (26.4)
40–49	19 (46.3)	5 (18.5)	13 (35.2)
50–59	17 (35.4)	8 (16.7)	23 (47.9)
60–69	14 (35.0)	5 (12.5)	21 (52.5)
70–80	9 (36.0)	2 (8.1)	14 (55.9)

**Fig. 1.** Age dynamics of the state of respiration.

But mostly, the age-related changes had character of a tendency. A statistically significant increase was detected only at the age of 30–39 and 40–49, in which prenosophical states respectively increased by 16.5 % ( $P < 0.05$ ) and 13.2 % ( $P < 0.05$ ).

The age dynamics of different types of respiratory function prenosophical states had more diverse character (Table 2). Thus, proportion of people with obstruction after relative stability at the age of 19–29 years (50.1–53.1 %) was further decreasing. Especially significant decrease was at the age of 30–39 years (by 11.0 %,  $P < 0.05$ ) and 50–59 years (by 10.9 %,  $P < 0.05$ ).

Because of restriction, a dynamics of prenosophical states had a similar character: after relative stability at the age of 19–39 years (31.5–34.4 %), proportion of individuals decreased to 8.1 % at the age of 70–80 years. However, the feasible reduction was only at the age of 40–49 years (13.0 %,  $P < 0.05$ ).

The specific features of prenosophical states of respiratory organs caused by obstruction combined with a restriction had increase of their share after 29 years from 12.5 to 55.9 %. But, in general, they had character of a tendency, excluding 30–39 years (increase by 13.9 %,  $P < 0.05$ ) and 50–59 years (by 12.7 %,  $P < 0.05$ ). It should also be mentioned about statistical significant decrease in

the number of people with this condition of prenosophical state in group of 19–29 years old (by 11.9 %,  $P < 0.05$ ).

The established nature of formation of the prenosophical states (reduction of obstruction and the background of the restriction of stability) suggests that the formation of more complex pathology is due to the "injection" of persons with obstruction in it. This is probably indicative of the low effectiveness of their treatment.

A high degree correlation exists between air pollution and population morbidity. Thus, the correlation coefficient between the total city air pollution indexes and respiratory diseases is 0.72 ( $P < 0.01$ ) in adults and 0.66 ( $P < 0.05$ ) in children.

The regularities of long-term chromodynamics of respiratory organs incidence among children is almost the same as at high and at a moderate level of industrial production – dynamics tendency has a look of equation  $y = 10190.3 - 41.2x$  and  $y = 8813.9 - 76.3x$  with a coefficient of multiple correlation 0.59–0.64 ( $P < 0.05$ ).

The results of study found that incidence of respiratory organ diseases among adults with moderate level of industrial production significantly decreased by 1.8 times ( $P < 0.01$ ) and was  $1558.4 \pm 24.1$  cases / 10 thousand, compared to  $2773.2 \pm 154/2$  cases / 10 thousand at high level of industrial production. On an average, incidence of respiratory diseases among residents of Zaporizhzhia city declined by 4 % annually. After decrease in power production level of use, the incidence on ARVI among adults significantly decreased by 1.5 times ( $P < 0.01$ ), mean value of which at moderate level of IP was  $1031.3 \pm 28.1$  cases against  $1577.0 \pm 73.3$  cases / 10 thousand at high level of IP. Thus, on the background of reduced air pollution at a moderate level of IP the incidence of ARVI in adults significantly decreased, the percentage of which was 43.3 % to 47.3 % at high level of IP. The incidence of industrial city adults on such diseases as chronic laryngitis and laryngotracheitis, chronic pharyngitis, bronchitis and chronic pneumonia at moderate level did not change significantly. At the same time, among adult city inhabitants incidence of asthma increased by 2.9 times ( $P < 0.001$ ) with a mean value of  $3.8 \pm 0.3$  cases/10 thousand to  $1.3 \pm 0.1$  cases/10 thousand at a high level of IP.

At moderate level of IP, the incidence on respiratory organs diseases among children significantly increased by 1.1 times ( $P < 0.05$ ). Its level was  $11121.8 \pm 149.2$  cases /10 thousand at moderate level of IP against  $9947.9 \pm 126.5$  cases/10 thousand at high level of IP. At moderate level of IP, indexes of morbidity on ARVI increased by 1.3 times ( $P < 0.01$ ), and were  $8984.1 \pm 193.3$  cases/10 thousand against  $7340.1 \pm 344.1$  cases /10 thousand at high level of IP. The proportion of ARVI increased significantly from 52.8 % to 56.7 %. In this period, the incidence of tonsils chronic diseases among children population increased significantly by more than 2.2 times ( $P < 0.001$ ), with average values of  $117.6 \pm 9.4$  cases/10 thousand against  $53.9 \pm 6.7$  cases/10 thousand ( $P < 0.05$ ).

## Discussion

The spirometry with analysis of the curve "flow – volume" is referred to the priority methods of early diagnosis of

broncho-obstructive changes [5,7–9]. Electronic spirometry is widely used as a screening tool for early diagnosis of COPD [10]. The identification of deviation types from the normal functioning of respiratory organs, that are influenced by atmospheric pollution, makes it possible to obtain necessary understanding of the nature, strength, determination of their effect on vital signs of the body, on the one hand and on the other – to determine the possibility of the number of factors eliminating, reducing the force of impact. This also allows to justify, optimize and implement rational methods of medical and physiological rehabilitation and treatment-prophylaxis measures of the prevention of environmental factors harmful effects on the body.

Thus, the basis of establishment of the pre-nosological states of respiratory organs are specific pathophysiological mechanisms of influence of aerogenic contaminations on the body. In particular, obstructive deviations are caused by reflex spasm of the smooth muscles of the trachea and bronchi or by the swelling of the airway walls as well as various inflammatory reactions [7]. The determinants of this action are harmful chemicals, dust particles that are in the air of the working zone. Aggravation of the phenotypes of professional COPD is selectively associated with the action of chemicals and dust [11]. The determinants of this action are harmful chemicals, dust particles that are in the air. In patients with bronchial asthma, compared with healthy, resistance of small bronchuses is 7 times higher than with normal parameters of pulmonary function [12]. In the industrial metropolis, the prevalence of restriction is much higher than in occupational risk groups. Thus, in the railway industry workers with occupational hazards in the form of dust pollutants, the restriction was detected only in 6.1 % [13]. Other researchers also noted the difference in spirographic parameters and the severity of general symptoms in patients with occupational risk [7].

The prevalence of restriction and its relative stability indicate a significant resistance to pulmonary volume in an industrial city. Perhaps this is due to the greater stability of the inspiratory and expiratory respiratory muscles to ecotoxicants, as well as due to the stability of the elastic traction of the lungs. Significant prevalence of bronchoobstructive disorders is due to structural remodeling of the bronchopulmonary tree. Along with this factor for obstruction of bronchi and chemical disfiguring the COPD phenotypes is the increase of viscous respiratory oppression due to hypersecretion of mucus and changes in bronchoconstriction and chronic inflammation [7].

The analysis of professional literature has shown that scientists from different countries have determined the correlation dependence indicators of morbidity of the population on diseases of respiratory organs from specific pollutants [2,4,14]. In particular, direct strong connections were found between the incidence rates of children and adults in respiratory diseases ( $r = 0.7$ ,  $P < 0.05$  in children and  $r = 0.6$ ,  $P < 0.05$  in adults) and concentrations of suspended substances, sulfur and nitrogen oxides, while the very weighed substances possess properties related to the accumulation of toxic gaseous compounds with the formation of pyrogenous compositions whose biological effects are characterized

by increased toxicity and activation of the formation of immunopathological processes, a decrease in the level of antioxidant protection, etc.

Other studies also indicate a significant relationship between contamination and diseases. In particular, the direct correlation coefficient  $r = 0.6$  ( $P < 0.05$ ) is established between the frequency of acute upper respiratory infections in younger schoolchildren who have long lived in the areas of the metallurgical industry and the level of air pollution [14]. In the industrialized city, the incidence of diseases of the upper respiratory tract in children who lived in the contaminated area was 1.8 times more likely and 1.4 times – to other respiratory diseases. The correlation coefficient between the level of atmospheric air pollution and the disease was  $r = 0.81$  ( $P < 0.01$ ), in the second –  $r = 0.78$  ( $P < 0.01$ ) [14].

A direct correlation between the incidence of acute respiratory infections (ARI) and atmospheric air pollution by dust, carbon monoxide, fluorides and fluoride hydrogen was established. This gave rise to the conclusion about the significant contribution of the above-mentioned chemical contamination to the formation of respiratory system diseases in the level of 41.8 % among all officially registered ARI.

In chronic obstructive pulmonary diseases, comorbidity is more common. In particular, the concomitant diseases are often recorded: arterial hypertension, depression and anxiety, ischemic heart disease, and osteoporosis [8,15]. At the same time, the prevalence of comorbid diseases increased with the severity of COPD.

Consequently, the results and materials of other researchers obtained by us to testify the advantage of using electronic spirometry in order to diagnose early pathological conditions while simultaneously analyzing the incidence [5,7,16].

Therefore, a key element in the prevention of adverse effects of atmospheric pollution on the body is hygiene prenosological diagnostics, which means assess of the body states that precede nosological forms or their risk factors.

## Conclusions

1. According to spirographic survey by method of curve “flow – volume” analysis, 53.8 % of inhabitants of industrial cities have deviations in ventilation function due to progress of obstructive changes in bronchopulmonary apparatus of upper respiratory tract (obstruction combined with a restriction and obstruction). With age, the proportion of people with prenosological states of respiratory function increases, especially among those 30–39 and 40–49 age groups. The dynamics of different types of prenosology states of respiratory function had age-related features: after relative stability at the age of 19–29 years, the proportion of people with obstruction further decreased, especially at the age of 30–39 years.

2. A high degree correlation exists between air pollution and population morbidity. Thus, the correlation coefficient between the total city air pollution indexes and respiratory diseases is 0.72 ( $P < 0.01$ ) in adults and 0.66 ( $P < 0.05$ ) in children.

3. The incidence on respiratory diseases among metropolis adult population was wavelike decreasing. The tendency of its dynamics looked like  $y = 3343.2 - 47.97x$ , with a coefficient of multiple correlation 0.78 ( $P < 0.05$ ). Among children dynamics tendency has a look of equation  $y = 10190.3 - 41.2x$  and  $y = 8813.9 - 76.3x$  with a coefficient of multiple correlation 0.59–0.64 ( $P < 0.05$ ). Especially, the incidence decreased significantly in the experimental group due to the decrease of power production level. The pattern of the dynamics of the incidence on respiratory diseases among children is almost the same trend line at high and at a moderate power production levels. The incidence on respiratory diseases among adults is significantly higher at high level of production both in group of study and control group. Among adults of ecologically polluted areas the prevalence of respiratory diseases is significantly higher both at high and moderate level of production. Among children, prevalence of respiratory diseases is significantly higher in ecologically unfavorable areas.

**Prospects of further research** are the establishment of prognostically significant risk factors for respiratory organs of industrial cities at the prenosological level and the substantiation of preventive measures to reduce the harmful effects of atmospheric pollution.

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

Надійшла до редакції / Received: 22.03.2018  
Після доопрацювання / Revised: 28.11.2018  
Прийнято до друку / Accepted: 06.12.2018

#### Information about authors:

Hrebniak M. P., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of General Hygiene and Ecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Fedorchenko R. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Hygiene and Ecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

#### Відомості про авторів:

Гребняк М. П., д-р мед. наук, професор каф. загальної гігієни та екології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Федорченко Р. А., канд. мед. наук, доцент каф. загальної гігієни та екології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Сведения об авторах:

Гребняк Н. П., д-р мед. наук, профессор каф. общей гигиены и экологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федорченко Р. А., канд. мед. наук, доцент каф. общей гигиены и экологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### References

- [1] (2013) Zdorov'e – 2020: Osnovy Evropejskoj politiki i strategii dlya XXI veka [The foundations of European policy and strategy for the 21st century]. *Kopengagen*. [in Russian].
- [2] (2014) Air quality and health. WHO Information Bulletin № 313. Retrieved from: <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs313/ru/>
- [3] Petrosian, A. A. (2015) Do pytannia rozrobky metodychnykh pidkhodiv shchodo otsinky yakosti povitria ta zberezhenia hromadskoho zdorovia [Use risk assessment to air quality management and preservation of public health]. *Hihiiena naselenykh mists*, 66, 47–52. [in Ukrainian].

- [4] Turos, O. I., Ananyeva, O. V., & Petrosian, A. A. (2014) Vdoskonalennia pidkhodiv do kilkisnoi otsinky zabrudnennia atmosferneho povitria vykydamy avtomobilnykh transportnykh zasobiv [Development of an improved approach to quantitative assessment of transport-related air pollution]. *Hihiiena naselenykh mists*, 63, 22–31. [in Ukrainian].
- [5] Tashmetova, G. (2015) Early phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *European Respiratory Journal*, 46(60), 3662. doi: 10.1183/13993003
- [6] Pedone, C., Di Marco Berardino, A., Pistelli, R., Forastiere, F., Bellia, V., & Antonelli Incaizi, R. (2016) Can the New Global Lung Initiative Equations better stratify the risk of death in elderly people with chronic obstructive pulmonary disease? *Respiration*, 92, 16–24. doi: 10.1159/000447246
- [7] Tahanovich, A., & Kadushkin, A. (2016) Different changes in plasma concentrations of cytokines and chemokines in patients with COPD associated with smoking and occupational exposures. *European Respiratory Journal*, 48(60), 394. doi: 10.1183/13993003
- [8] Stallberg, B., Janson, C., Larsson, K., Johansson, G., Kostikas, K., Gruenberger, J.-B., et al. (2016). Comorbidities in Swedish COPD and non-COPD patients: ARCTIC study. *European Respiratory Journal*, 48(60), 870. doi: 10.1183/13993003
- [9] Hrebniak, N. P., & Fedorchenko, R. A. (2017) Hihiienichna donozolohichna diahnozyka vplyvu atmosfernykh zabrudnen na orhany dykhannia [Hygienic prenosological diagnosis of the influence of the atmospheric pollution on the respiration organs]. *Dovkilla ta zdorovia*, 1(81), 15–18. [in Ukrainian].
- [10] Gomez-Bastero Fernandez, A., RomeroMuñoz, C., Guerrero Zamora, P., Almadana Pacheco, V., Montemayor Rubio, Teodoro (2016) The questionnaire chronic obstructive pulmonary disease-population screener (COPD-PS) as a screening of the chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in a quitting smoke medical practice. *European Respiratory Journal*, 48(60), 4317. doi: 10.1183/13993003
- [11] Shpagina, L., Kotova, O., Shpagin, I., & Gerasimenko, O. (2017) Clinical and inflammatory features of exacerbations of occupational chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 50(61), 416. doi: 10.1183/13993003
- [12] Sokolov, E. V., & Razzhivina, I. M. (2013) Individual'no-tipologicheskie osobennosti sostoyaniya ventilacionnoj funkicii legkikh i biomekhanicheskikh faktorov dykhaniya u detej 9–13 let v zavisimosti ot sostoyaniya zdorov'ya [Individual and typological features of the state of ventilation function of lung and biomechanical respiratory factors in children 9–13 years old depending on the state of health]. *Novye issledovaniya*, 1(34), 79–101. [in Russian].
- [13] Stepashkin, K. N., & Demko, I. M. (2012) Vzaimosvyaz' respiratornykh simptomov i dannykh issledovaniya funkicii vneshnego dykhaniya u rabotnikov zheleznodorozhnogo transporta [Correlation of respiratory symptoms and lung function study data in railway workers]. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*, 45, 38–43. [in Russian].
- [14] Kiku, P. F., Izmaylova, O. A., Gorborukova, T. V., & Ananov, V. Yu. (2012) Vliyanie e'kologo-gigienicheskikh faktorov sredi obitaniya na rasprostranenie boleznij organov dykhaniya u naseleniya Primorskogo kraja [The influence of ecological hygiene environmental factors on the distribution of respiratory diseases in population of Primorsky kraj]. *Gigiena i sanitariya*, 91(5), 25–29. [in Russian].
- [15] Kajba, S. (2015) The prevalence of co-morbidities and exacerbations in COPD patients in Slovenia. *European Respiratory Journal*, 46(59), 1122. doi: 10.1183/13993003
- [16] Ravi Shekhar Jha (2016) Role of vitamin D supplementation in lung function testing and exercise capacity. *European Respiratory Journal*, 48(60), 4141. doi: 10.1183/13993003

# Specific aspects of the radiographic morphometric and densitometric characteristics of mandible of the rats with experimental diabetes mellitus after tooth extraction

A. V. Abramov<sup>A</sup>, K. S. Hanchev<sup>\*,B-D,F</sup>, Ye. V. Kadzharian<sup>E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Diabetes mellitus is regarded today as a metabolic disease, which is considered to be a modulator of endodontic infections, is responsible for altering the immune and inflammatory responses, impedes the healing process, and contributes to damage of organs and tissues of the body, including tooth pulp and periapical tissues.

**The aim of the work** is to study the radiographic characteristics of the dental septum of the alveolar crest of the mandible, crown and root of the low molars of rats with experimental streptozotocin diabetes at different times of the post-extraction period (the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> day).

**Materials and methods.** Studies were conducted on 120 male Wistar rats, 8–10 months old, divided into eight groups of 15 animals each. The experimental diabetes mellitus was modelled in 45 animals by a single administration of streptozotocin interperitoneally (SIGMA Chemical, the USA) at a dose of 50 mg/kg, diluted in 0.5 ml of 0.1 M citrate buffer (pH 4.5) ex tempore, on the 21<sup>st</sup> day after its induction the level of fasting glucose was determined (by the glucose oxidase method using standard test strips Test Strip II, glucometer Glucocard, Japan), which was  $24.7 \pm 2.2$  mM/l. The extraction of the first low molar of the right mandible was realised using thiopental anaesthesia (40 mg / kg dose) with additional local infiltration anaesthesia with Ubistesine (3M Deutschland GmbH, Germany). On the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, and 14<sup>th</sup> day, dates that correspond to the experiment after the extraction of the tooth, the rats were decapitated using thiopental anaesthesia (dose 40 mg/kg). The visigraphy of the mandible was performed using a computerized 3D CBCT tomograph Panoura 18S Panoramic 3D. With the help of digital image analysis the radiographic density of tissues of the alveolar socket of the removed 1<sup>st</sup> molar, crown of the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars, their root and dental septum of the alveolar crest were determined.

**The results.** Radiological density of the interalveolar and interradicular septa between the 1<sup>st</sup>–3<sup>rd</sup> molar and the 1<sup>st</sup> molar root, which is the most traumatized and loaded rats' tooth, is decreased in the rats with experimental diabetes mellitus. Tooth extraction in the rats with diabetes mellitus results in the increase (not in the decrease as it is observed in control group) of radiological density a day after in the alveolar socket and the adjacent 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars, that may be caused by significant infiltration related to the secondary alteration. The final stage of the local inflammatory reaction resorptive phase that corresponds to the 7<sup>th</sup> day of post-extraction period is characterized by almost complete restoration of the alveolar socket radiological density in the control rats, whereas in the rats with diabetes mellitus radiological density of the studied sites decreases and this process continues on the 14<sup>th</sup> day.

**Conclusions.** In the work it was found out that the extraction of a tooth in rats with normal carbohydrate metabolism is accompanied by dynamic changes in radiological density not only in the extraction area of the 1<sup>st</sup> molar (it decreases on the 1<sup>st</sup> day in the area of the root more than 2.7 times and by 65 % in the area of interalveolar and interradicular septa with its restore to the 14<sup>th</sup> day), the inflammatory process affects the adjacent 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars, leading to its decrease on the 1<sup>st</sup> day in the area of interalveolar and interradicular septa of the 2<sup>nd</sup> molar by 24.4 % and 3<sup>rd</sup> molar – by 16.8 % with its restore to the 7<sup>th</sup> day. It was revealed that the pre-existing early resorptive phase of the local inflammatory reaction ends by the 7<sup>th</sup> day of the post-extraction period, changing to the reparative by the 14<sup>th</sup> day. The development of experimental diabetes mellitus in rats leads to an increase in resorptive processes in the mandible bone tissue, which is manifested by a decrease in radiological density in the area of the 1<sup>st</sup> molar root by 2.27 times along with its increase in the interalveolar and interradicular septa area of all three low molars by 22.0 %, 21.8 % and 18.3 %, respectively. Experimental diabetes contributes to the particular course of the wound process after tooth extraction. At the same time, it is an important pathogenetic link for the formation of complications due to the disturbance of the resorption-reparative relationship in the area of the alveolar socket and the adjacent molars.

## Key words:

diabetes mellitus, tooth extraction, radiography, mandible, rats.

## Pathologia

2019; 16 (1), 87–93

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166326

## \*E-mail:

gancheva@zsmu.pp.ua

## Особливості радіографічних морфоденситометричних характеристик мандибули щурів з експериментальним цукровим діабетом після екстракції зуба

А. В. Абрамов, К. С. Ганчев, Є. В. Каджарян

Цукровий діабет є метаболічним захворюванням, яке вважають модулятором ендодонтитичних інфекцій, зумовлює зміну імунної та запальної відповіді, порушує процес загоєння, спричиняє пошкодження органів і тканин організму, включаючи пульпу зуба й періапикальні тканини.

**Мета роботи** – вивчити радіографічні характеристики кісткових перетинків альвеолярного гребеня мандибули, коронки й кореня нижніх молярів у щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом у різні терміни постекстракційного періоду (1, 7 та 14 доба).

## Ключові слова:

цукровий діабет, екстракція зуба, радіографія, мандибула, щури.

## Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 87–93

**Матеріали та методи.** Дослідження виконали на 120 щурах-самцях лінії Wistar віком 8–10 місяців, яких поділили на 8 груп по 15 тварин у кожній. Експериментальний цукровий діабет моделювали 45 тваринам одноразовим введенням внутрішньочеревно стрептозотоцину (SIGMA Chemical, США) в дозі 50 мг/кг, розведеного в 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (pH 4,5) *ex tempore*; на 21 день після його індукції рівень глюкози натще (глюкозооксидазним методом, використовуючи стандартні тест-смужки TestStrip II, глюкометр Glucocard, Японія) становив  $24,7 \pm 2,2$  мМ/л. Видалення перших нижніх молярів правої мандибули виконали під тиопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг) з додатковою місцевою інфільтраційною анестезією «Убістезин» (ЗМДойчландГмбХ, ФРН). На 1, 7 та 14 добу, відповідні експерименту терміни після екстракції зуба, щурів декапітували під тиопенталовим наркозом (доза 40 мг/кг). Візіографію мандибули виконали за допомогою комп'ютерного 3D томографа для проведення конусно-променевої томографії Panoura 18S Panoramic 3D. За допомогою цифрового аналізу зображення визначали радіографічну щільність тканин альвеолярної лунки видаленого 1 моляра, коронки 1, 2 і 3 молярів, їхніх коренів і кісткових перетинок альвеолярного гребеня.

**Результати.** Встановили, що у щурів з експериментальним цукровим діабетом спостерігають зниження радіологічної щільності кореня зуба 1 моляра як найбільш травмованого через навантаження зуба в щурів, а також інтеральвеолярно-радикулярних перетинок у регіоні 1–3 молярів. Видалення зуба на тлі цукрового діабету призводить до підвищення, а не зниження показника радіологічної щільності на 1 добу в області альвеолярної лунки та поруч розташованих 2 і 3 молярів, що може бути наслідком значної інфільтрації, яка пов'язана з розвитком вторинної альтерації. Завершальний етап резорбтивної фази місцевої запальної реакції, якому відповідає 7 доба постекстракційного періоду, в контрольних щурів характеризується майже повним відновленням радіологічної щільності кісткової тканини, а на тлі цукрового діабету радіологічна щільність вивчених ділянок знижується, і цей процес триває і на 14 добу.

**Висновки.** Видалення зуба щурам із нормальними показниками вуглеводного обміну супроводжується динамічними змінами радіологічної щільності не тільки в області екстракції 1 моляра (на 1 добу її зниженням в області кореня видаленого зуба більш ніж у 2,7 раза та на 65 % в області інтеральвеолярно-радикулярних перетинок із відновленням до 14 доби), запальний процес включає і 2, 3 моляри, призводячи до зниження її на 1 добу в області інтеральвеолярно-радикулярних перетинок 2 моляри на 24,4 %, 3 – на 16,8 % з відновленням показника на 7 добу. Виявлено, що рання резорбтивна фаза місцевої запальної реакції закінчується до 7 доби постекстракційного періоду, змінюючись до 14 доби на репаративну. Розвиток експериментального цукрового діабету в щурів призводить до посилення резорбтивних процесів у кістковій тканині мандибули, що виявляється зниженням радіологічної щільності в області кореня 1 моляра у 2,27 раза, але підвищенням в області інтеральвеолярно-радикулярних перетинок усіх 3 нижніх молярів на 22,0 %, 21,8 % та 18,3 % відповідно. Експериментальний цукровий діабет впливає і на особливості перебігу ранового процесу після видалення зуба. Він є важливою патогенетичною ланкою формування ускладнень через порушення резорбційно-репаративних зв'язків в області альвеолярної лунки та прилеглих молярів.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, экстракция зуба, радиография, мандибула, крысы.

**Патология.** – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 87–93

## Особенности радиографических морфоденситометрических характеристик мандибулы крыс с экспериментальным сахарным диабетом после экстракции зуба

**А. В. Абрамов, К. С. Ганчев, Е. В. Каджарян**

Сахарный диабет – метаболическое заболевание, которое считают модулятором эндодонтической инфекции, способствует повреждению органов и тканей организма, включая пульпу зуба и периапикальные ткани.

**Цель работы** – изучить радиографические характеристики костных перегородок альвеолярного гребня мандибулы, коронки и корня нижних моляров у крыс с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом в разные сроки постэкстракционного периода (1, 7 и 14 сутки).

**Материалы и методы.** Исследования проведены на 120 крысах-самцах линии Wistar, возрастом 8–10 месяцев, распределенных на 8 групп по 15 животных в каждой. Экспериментальный сахарный диабет моделировали 45 животным однократным введением внутрибрюшинно стрептозотоцина (SIGMA Chemical, США) в дозе 50 мг/кг, разведенного в 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (pH 4,5) *ex tempore*, на 21 день после его индукции уровень тощачковой глюкозы (глюкозооксидазным методом с использованием стандартных тест-полосок TestStrip II, глюкометр Glucocard, Япония) составил  $24,7 \pm 2,2$  мМ/л. Удаление первого нижнего моляра правой мандибулы проводили под тиопенталовым наркозом (доза 40 мг/кг) с дополнительной местной инфильтрационной анестезией «Убистезином» (ЗМ Дойчланд ГмбХ, ФРГ). На 1, 7 и 14 сутки, соответствующие эксперименту сроки после экстракции зуба, крыс декапитировали под тиопенталовым наркозом (доза 40 мг/кг). Визиографию мандибулы проводили с помощью компьютерного 3D томографа для проведения конусно-лучевой томографии Panoura 18S Panoramic 3D. С помощью цифрового анализа изображения определения радиографическую плотность тканей альвеолярной лунки удаленного 1 моляра, коронки 1, 2 и 3 моляров их корня и костных перегородок альвеолярного гребня.

**Результаты.** Установлено, что у крыс с экспериментальным сахарным диабетом наблюдают снижение радиографической плотности корня зуба 1 моляра как наиболее травмируемого и нагружаемого зуба у крыс, а также интеральвеолярно-радикулярных перегородок в регионе 1–3 моляров. Удаление зуба на фоне сахарного диабета приводит к повышению, а не снижению показателя радиографической плотности на 1 сутки в области альвеолярной лунки и рядом стоящих 2 и 3 моляров, что может быть следствием значительной инфильтрации, связанной с развитием выраженной вторичной альтерации. Завершающий этап резорбтивной фазы местной воспалительной реакции, которому соответствуют 7 сутки постэкстракционного периода, у контрольных крыс характеризуется практически полным восстановлением радиографической плотности костной ткани, а на фоне сахарного диабета радиографическая плотность изученных участков снижается, и этот процесс продолжается на 14 сутки.

**Выводы.** Удаление зуба крысам с нормальными показателями углеводного обмена сопровождается динамичными



изменениями радиологической плотности не только в области экстракции 1 моляра (на 1 сутки ее снижением в области корня удаленного зуба более чем в 2,7 раза и на 65 % в области интеральвеолярно-радикулярных перегородок с восстановлением к 14 дню), воспалительный процесс затрагивает рядом стоящие 2 и 3 моляры, приводя к ее снижению на 1 сутки в области интеральвеолярно-радикулярных перегородок 2 моляра на 24,4 %, 3 – на 16,8 % с восстановлением показателя на 7 день. Установлено, что ранняя резорбтивная фаза местной воспалительной реакции заканчивается к 7 суткам постэкстракционного периода, сменяясь к 14 дню репаративной. Развитие экспериментального сахарного диабета у крыс приводит к усилению резорбтивных процессов в костной ткани мандибулы, что проявляется снижением радиологической плотности в области корня 1 моляра в 2,27 раза, но повышением в области интеральвеолярно-радикулярных перегородок всех трех нижних моляров на 22,0 %, 21,8 % и 18,3 % соответственно. Экспериментальный сахарный диабет вносит свой вклад в особенности течения раневого процесса после удаления зуба. Он является важным патогенетическим звеном формирования осложнений из-за нарушения резорбционно-репаративных взаимоотношений в области альвеолярной лунки и прилежащих моляров.

Diabetes mellitus (DM) is regarded today as a metabolic disease, which is considered to be a modulator of endodontic infections [1], is responsible for altering the immune and inflammatory responses, impedes the healing process, contributes to damage of organs and tissues of the body, including tooth pulp and periapical tissues [2,3]. Moreover, numerous clinical observations have shown that DM can not only affect the pathogenesis of dental nosologies, but the bidirectional mutually confounding connection between apical periodontitis, periostitis, gingivitis and the systemic diabetes effects has been also proven. It has been established that in case of DM patients, on the background of an infectious process in the maxillofacial area were noted to have more evident resorption of the bone and hard tissues of the tooth, sluggish inflammatory processes in the periapical area and periodontal [1–6].

A cross-sectional study realized among the patients with diabetes showed that the worst periapical status correlated with a higher level of glycated hemoglobin (HbA1c), and each further examination after endodontic treatment was increasing the level of HbA1c [7]. In addition, the presence of DM in a patient was connected with a decrease of the successful therapy results [8]. There are reports of cases that mark a sudden increase of glucose level in the blood of patients during exacerbation of a combined endodontic-periodontal lesion [17].

## The aim

The aim of the work is to study the radiographic characteristics of the dental septum of the alveolar crest of the mandible, crown and root of the low molars of rats with experimental streptozotocin diabetes at different times of the post-extraction period (the 1st, 7th and 14th day).

## Materials and methods

The experimental part of the research was carried out in accordance with the national "Common Ethical Principles of Animal Experiments" (Ukraine, 2001), which are coordinated with Council Directive 2010/63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The study protocol is agreed with the local ethics committee. Studies were conducted on 120 male Wistar rats, 8–10 months old, divided into eight groups of 15 animals each:

- the 1<sup>st</sup> group – rats that did not have the extraction of a tooth (Control-0);
- the 2<sup>nd</sup> group – rats that were removed from the experiment a day after the extraction of the tooth (Control-1);

- the 3<sup>rd</sup> group – rats that were removed from the experiment 7 days after the extraction of the tooth (Control-7);

- the 4<sup>th</sup> group – rats that were removed from the experiment 14 days after the extraction of the tooth (Control-14);

- the 5<sup>th</sup> group – a group of rats with experimental streptozotocin diabetes that did not have the extraction of a tooth (Diabetes-0);

- the 6<sup>th</sup> group – a group of rats with experimental streptozotocin diabetes that were removed from the experiment a day after the extraction of the tooth (Diabetes-1);

- the 7<sup>th</sup> group – a group of rats with experimental streptozotocin diabetes that were removed from the experiment 7 days after the extraction of the tooth (Diabetes-7);

- the 8<sup>th</sup> group – a group of rats with experimental streptozotocin diabetes that were removed from the experiment 14 days after the extraction of the tooth (Diabetes-14).

In groups of rats with experimental diabetes mellitus (EDM), which was modelled by a single administration of streptozotocin interperitoneally (SIGMA Chemical, the USA) at a dose of 50 mg/kg, diluted in 0.5 ml of 0.1 M citrate buffer (pH 4.5) *ex tempore*, on the 21<sup>st</sup> day after its induction was determined the level of fasting glucose (by the glucose oxidise method using standard test strips Test Strip II, glucometer Glucocard, Japan), which was  $24.7 \pm 2.2$  mM/l.

In the morning at 10:00 AM the extraction of the first low molar of the right mandible of the rats was carried out in six groups of 45 control animals and 45 animals with simulated EDM using thiopental anaesthesia (40 mg/kg dose) with additional local infiltration anaesthesia with Ubistesine (3M Deutschland GmbH, Germany).

On the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, and 14<sup>th</sup> day, dates that correspond to the experiment after the extraction of the tooth, the rats were decapitated using thiopental anaesthesia (dose 40 mg/kg).

Radiographic images of the semi-mandibles of rats were taken after the removing of the animals from the experiment by single-step decapitation under thiopental anaesthesia (40 mg/kg body weight). The jaw bone was immediately separated from animal's head, soft tissues were removed and placed in a cold NaCl solution of 0.9 %. The visigraphy of the mandible was performed no later than 2-3 hours after the release of the gross specimen. Images of the semi-mandibles were obtained using a computerized 3D CBCT tomograph Panoura 18S Panoramic 3D.

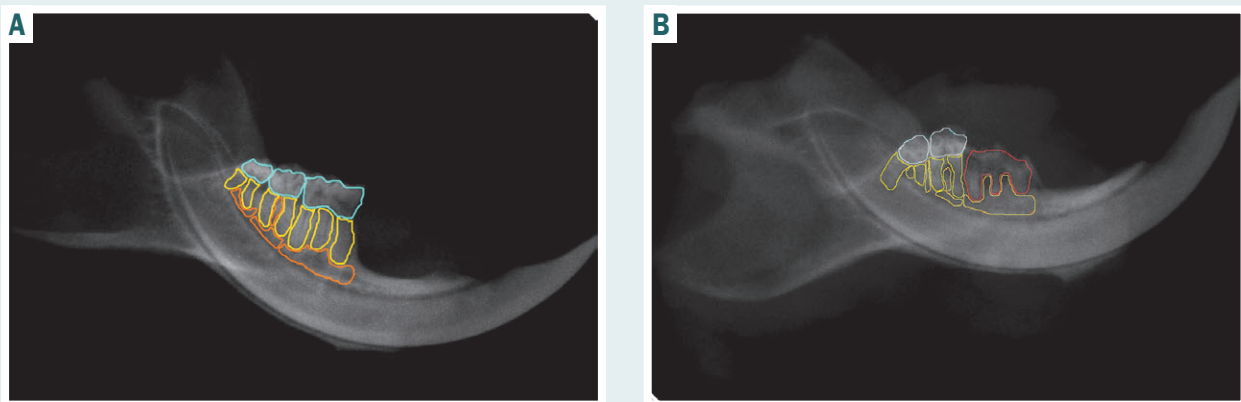


Fig. 1. Radiographic images of semi-mandibles of rats. Without tooth extraction (A). After extraction of the tooth (B).

The colour designations of the "areas of interest" for digital analysis of the radiographic density of the parameters under study (the crown of the tooth – blue, the root of the tooth – yellow, the interalveolar and interradicular septa – orange, the area of alveolar socket – red).

For digital image analysis and determination of the radiographic density of the mandible tissues in the obtained images in an interactive mode the "areas of interest" were distinguished, which corresponds to the alveolar socket of the removed 1<sup>st</sup> molar, crown of the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars, their root and dental septum of the alveolar crest (interalveolar and interradicular septa (IIS)) (Fig. 1).

The prepared images were calculated using software Axio Vision 4.8.2 (Carl Zeiss, Germany) and Excel 7.0.

Radiographic density (RD) was calculated using the formula:

$$RD = | \lg_{10} (BG / AOI) |,$$

where RD is the radiographic density of the mandible tissues;

AOI – "area of interest";

BG is the radiographic density of the "background area" of the selected area of the mandible soft tissues without bone formations.

Statistical calculations were performed in Microsoft Excel 2016 spreadsheet (Microsoft Corp., USA). For all the indicators the value of the arithmetic mean of the sample (M), its dispersions, and the mean error (m) were calculated. To identify the significance of differences in the results of research in the experimental and control groups of rats, the Student's coefficient (t) was calculated, and after that the probability of the difference in samples (P) and the confidence interval of the average as per the Student's tables of distribution were determined. The differences of values for which Pst < 0.05 were considered valid [9,10].

## Results

Extraction of the 1<sup>st</sup> low molar from the rats of the control group on the 1<sup>st</sup> day of the post-extraction period led to a significant decrease in RD for more than 2.7 times in the root area of the extracted tooth and 65 % in the IIS area, which is connected not only with the extraction of tooth bone tissue, but also with an active inflammatory process, leading to bone tissue resorption (Table 1).

On the 7<sup>th</sup> day after the extraction, the RD index in the area of the tooth root did not significantly differ from the values of the previous term group, whereas in the IIS area the RD values permitted to suggest a decrease in resorptive processes in the mandible bone tissue and a partial recovery of mineralization processes, that can be confirmed by the increase of RD by 44.1 % comparing to the 1<sup>st</sup> day of the post-extraction period (Table 1).

The 14<sup>th</sup> day of observation showed, comparing to the previous period, the 7<sup>th</sup> day, an increase in the RD index in the 1<sup>st</sup> molar root area by 53.8 % and the absence of significant differences in the IIS area. It should be noted that in this period of complete restoration of bone density to the indicators of the "Control-0" group did not occur, because RD in the area of the root remained less by 1.67 times, and in the area of IIS – by 11 %, which is an important evidence of the ongoing reconstructive processes in the area of the alveolar socket (Table 1).

It is known that tooth extraction is accompanied not only by local inflammatory processes in the area of the alveolar socket, the associated changes in nearby teeth, which are characterized by the presence of a pain component, the development of periapical periodontitis, the occurrence of pathological mobility, are proved [11].

The analysis of RD indices located near to the extracted tooth of the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars of the control group rats showed that its extraction could not but affect the state of the bone tissue of IIS. Already on the 1<sup>st</sup> day there was a decrease in radiological density of the IIS of the 2<sup>nd</sup> molar by 24.4 %, and on the 3<sup>rd</sup> by 16.8 %. Moreover, the RD of the crown of the 2<sup>nd</sup> molar showed its decrease by 21.9 %, which is most likely due to bone tissue resorption due to the activity of the inflammatory process, disruption of local trophism, changes in the pH of the oral fluid [12]. It should be noted that the identified process is reversible because already on the 7<sup>th</sup> day, a full recovery of the values up to the control indicators was observed, while the RD indicator on the 14<sup>th</sup> day of the post-extraction period did not have significant differences in the studied areas (Table 1).

A comparative analysis of the radiological density of the mandible tissues in the area of the 1<sup>st</sup>–3<sup>rd</sup> molars of the rats with experimental streptozotocin diabetes of

**Table 1.** Radiographic density of the mandible tissues after the tooth extraction of the rats from the control group (M ± m)

Formations under study		Radiographic density, rel.un			
		Without extraction, n = 15	The 1 <sup>st</sup> day after extraction, n = 15	The 7 <sup>th</sup> day after extraction, n = 15	The 14 <sup>th</sup> day after extraction, n = 15
The 1 <sup>st</sup> molar	Tooth crown	0.518 ± 0.011	alveolar socket of the 1 <sup>st</sup> molar		
	tooth root	0.469 ± 0.014	0.172 ± 0.006 <sup>1</sup>	0.182 ± 0.006 <sup>1</sup>	0.280 ± 0.006 <sup>1,2</sup>
	IIS	0.408 ± 0.012	0.247 ± 0.008 <sup>1</sup>	0.356 ± 0.012 <sup>1,2</sup>	0.367 ± 0.015 <sup>1</sup>
The 2 <sup>nd</sup> molar	Tooth crown	0.527 ± 0.018	0.432 ± 0.011 <sup>1</sup>	0.508 ± 0.012 <sup>2</sup>	0.522 ± 0.011
	Tooth root	0.481 ± 0.017	0.450 ± 0.012	0.463 ± 0.009	0.471 ± 0.013
	IIS	0.392 ± 0.016	0.315 ± 0.007 <sup>1</sup>	0.368 ± 0.009 <sup>2</sup>	0.370 ± 0.012
The 3 <sup>rd</sup> molar	Tooth crown	0.511 ± 0.016	0.484 ± 0.012	0.499 ± 0.014	0.492 ± 0.014
	Tooth root	0.474 ± 0.014	0.435 ± 0.015	0.455 ± 0.016	0.467 ± 0.009
	IIS	0.384 ± 0.014	0.341 ± 0.012 <sup>1</sup>	0.369 ± 0.014	0.397 ± 0.015

<sup>1</sup>: significant differences in the indices of groups after tooth extraction (Pst < 0.05) in relation to the group without extraction; <sup>2</sup>: significant differences in the indices of groups after tooth extraction (Pst < 0.05) in relation to the group of the previous term.

**Table 2.** Radiological density of the mandible tissues after the tooth extraction of the rats with the experimental diabetes mellitus (M ± m)

Formations under study		Radiographic density, rel.un			
		Without extraction, n = 15	The 1 <sup>st</sup> day after extraction, n = 15	The 7 <sup>th</sup> day after extraction, n = 15	The 14 <sup>th</sup> day after extraction, n = 15
The 1 <sup>st</sup> molar	Tooth crown	0.509 ± 0.008	alveolar socket of the 1 <sup>st</sup> molar		
	Tooth root	0.425 ± 0.009	0.187 ± 0.005 <sup>1</sup>	0.198 ± 0.007 <sup>1</sup>	0.154 ± 0.008 <sup>1,2</sup>
	IIS	0.320 ± 0.006	0.391 ± 0.016	0.387 ± 0.009 <sup>1,2</sup>	0.291 ± 0.009 <sup>1,2</sup>
The 2 <sup>nd</sup> molar	Tooth crown	0.515 ± 0.009	0.521 ± 0.008	0.496 ± 0.011 <sup>1,2</sup>	0.458 ± 0.008 <sup>2</sup>
	Tooth root	0.476 ± 0.015	0.485 ± 0.013	0.427 ± 0.012 <sup>1,2</sup>	0.356 ± 0.009 <sup>1,2</sup>
	IIS	0.325 ± 0.006	0.396 ± 0.007 <sup>1</sup>	0.318 ± 0.019	0.269 ± 0.007 <sup>1,2</sup>
The 3 <sup>rd</sup> molar	Tooth crown	0.491 ± 0.009	0.472 ± 0.017	0.469 ± 0.013	0.481 ± 0.008
	Tooth root	0.478 ± 0.013	0.453 ± 0.013	0.476 ± 0.011	0.411 ± 0.013 <sup>1,2</sup>
	IIS	0.316 ± 0.014	0.374 ± 0.015 <sup>1</sup>	0.275 ± 0.011 <sup>1,2</sup>	0.269 ± 0.011 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>: significant differences in the performance of groups after tooth extraction (Pst < 0.05) in relation to the group without extraction; <sup>2</sup>: significant differences in the performance of groups after tooth extraction (Pst < 0.05) in relation to the group of the previous term.

the group without extraction of the tooth showed that the formed hyperglycaemia leads to a significant decrease in RD in the area of IIS of all three molars: by 27.5 % for the 1<sup>st</sup>, 20.6 % for the 2<sup>nd</sup> and 21.5 % for the 3<sup>rd</sup>. Moreover, the RD index of the 1<sup>st</sup> molar root area was also 10.3 % lower than the values of the corresponding control and this allows suggesting their increased resorptive processes in the bone tissue (Tables 1, 2).

Extraction of the 1<sup>st</sup> molar of the rats with EDM on the 1<sup>st</sup> day led to the expected decrease in radiological density in the area of its root, but it increased in the IIS area by 22.0 %. A similar pattern was observed in the IIS area of the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars – the RD index was increased by 21.8 % and 18.3 %, respectively, which is a result of the development of the resorptive phase of the inflammatory reaction with tissue infiltration not only in the remote molar area, but also its considerable prevalence on the adjacent teeth (Table 2).

On the 7<sup>th</sup> day of the post-extraction period rats with EDM, in contrast to the indicators of the control rats of the corresponding age, had a decrease in radiographic density in the area of the IIS of the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars by 24.5 % and 36.0 %, respectively, with its decrease in the root area of the 2<sup>nd</sup> molar by 13.5 % (Tables 1, 2). The 14<sup>th</sup> day's observations showed that in this period there were significant structural changes in the studied areas, i.e. the inflammatory process did not end, but on the contrary, there was a decrease in the RD index in the alveolar socket and IIS of the 1<sup>st</sup> molar by 28.6 %

and 33.0 %, respectively. Obvious resorptive processes were revealed during the study of the radiological density of parts of the 2<sup>nd</sup> molar, with a decrease in RD in the crown area by 8.2 %, tooth root by 19.9 %, IIS – by 18.2 %. The resorptive processes also affected the 3<sup>rd</sup> molar, since a decrease in the RD of its root by 15.8 % was noted (Table 2).

## Discussion

During the realized study it was found that diabetes mellitus makes a significant contribution not only to the course of the wound process after tooth extraction, but also its role was shown in the pathogenesis of the complications formation due to violation of the resorption-reparative relationship in the area of the alveolar socket and adjacent molars.

It is important to note that the features of the course of the wound process on the background of diabetes mellitus have already been repeatedly discussed. Most researchers identify several key factors that are crucial in the formation of postoperative complications in patients with diabetes. Among them it is necessary to single out the pre-existing ones, which change the direction, duration and staging of the inflammatory reaction, and newly formed during tissue trauma associated with an imbalance of enzyme systems and local immune responses [13].

According to the results of numerous clinical observations and experimental studies, pathological changes

in bone tissue, significant microcirculatory disorders, and neurotrophic disorders were identified among the pre-existing adverse factors affecting the course of the post-operative period of patients with DM. At the same time, it is believed that osteopenia and osteoporosis, as the most frequent pathological changes in bone tissue, have the diffuse character, since both cancellous and tubular bones "suffer" [14]. Conducted histomorphometric studies have shown that in case of diabetes mellitus type 1 there is a reduced bone formation with a decrease in metabolic processes in it. In the experiment on rats, it was found out that with simulated streptozotocin diabetes in bone tissue, there is a decrease in the content of non-mineralized matrix and the number of osteoclasts [15].

In the study realized by us the indisputable confirmation of emerging osteoporosis with bone resorption was the decrease in the radiological density of the tooth root of the 1<sup>st</sup> molar, as the most traumatized and loaded rats' tooth, and IIS in the area of the 1<sup>st</sup>-3<sup>rd</sup> molars.

Another important fact that was stated in the work was the confirmation of the DM effect on the inflammatory process after tooth extraction. It was found out that persistent hyperglycaemia, a key pathogenetic factor of disease complication, significantly changes the nature of the wound process, which according to most researchers, is associated with impaired stages of inflammation phases, their duration and effectiveness. In particular in the works of O. E. Lutsevich et al. it was shown that the wound process on the background of diabetes mellitus is characterized by pronounced macro- and microcirculatory disorders, the presence of microthrombus, the formation of a sludge-phenomenon, dystrophic and necrotic processes, the predominance of the alterative component over the reparative, the inhibition of cell proliferation, the suppression of phagocyte activity of leukocytes, incomplete phagocytosis, decrease in general and local immunological reactivity [16].

Studied in the work features of the dynamics of changes in indicators of radiological bone tissues density of the mandible after tooth extraction on the background of DM in different periods of the post-extraction period were indirect confirmation of the above mentioned. Thus, an increase and not the decrease of the RD index on the 1<sup>st</sup> day in the alveolar socket area and the adjacent 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> molars may be a consequence of significant infiltration associated with the development of marked secondary alteration. The final stage of the resorptive phase of the local inflammatory reaction also had its own characteristics. Thus, in the control on the 7<sup>th</sup> day of the post-extraction period, that correspond to this phase [17], almost complete recovery of RD is observed, whereas on the background of diabetes mellitus, on the contrary, the radiological density of the studied areas decreased, and this process continued on the 14<sup>th</sup> day. The established fact indicates the progression of resorptive processes against the background of low proliferative activity. In addition to the identified features of the inflammatory process, the study showed the role of EDM in the formation of long-term complications in the form of increased mobility of adjacent teeth. This was evidenced by the decrease and not the increase of the RD index in the IIS area, which, being part of a tooth

support apparatus, normally not only ensures the stability of the tooth position in the bone, their trophic function has also been proven, due to abundant vascularisation and the large number of nerve endings [17].

## Conclusions

1. Tooth extraction from rats with normal indices of carbohydrate metabolism is accompanied by dynamic changes in radiological density not only in the extraction area of the 1<sup>st</sup> molar (it decreases on the 1<sup>st</sup> day in the area of the root by more than 2.7 times and by 65 % in the area of interalveolar and interradicular septa with its restore to the 14<sup>th</sup> day). It was established that the pre-existing early resorptive phase of the local inflammatory reaction ends by the 7<sup>th</sup> day of the post-extraction period, changing to the reparative by the 14<sup>th</sup> day.

2. The development of experimental diabetes mellitus in rats leads to an increase in resorptive processes in the mandible bone tissue, which is manifested by a decrease in RD in the area of the 1<sup>st</sup> molar root by 2.27 times along with its increase in the IIS area of all three low molars by 22.0 %, 21.8 % and 18.3 % respectively.

3. Experimental diabetes mellitus contributes to the particular course of the wound process after tooth extraction. At the same time, it is an important pathogenetic link for the formation of complications due to the disturbance of the resorption-reparative relationship in the area of the alveolar socket and the adjacent molars.

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

Надійшла до редакції / Received: 01.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 01.04.2019

## Information about authors:

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

Hanchev K. S., Assistant Professor of the Department of Propaedeutical and Surgical Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kadzharian Ye. V., MD, PhD, Senior Lecturer of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

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

Ганчев К. С., асистент каф. пропедевтичної та хірургічної стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Каджарян Є. В., канд. мед. наук, старший викладач каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

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

Ганчев К. С., ассистент каф. пропедевтической и хирургической стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Каджарян Е. В., канд. мед. наук, старший преподаватель  
каф. патологической физиологии, Запорожский  
государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Naumova, V. N., & Maslak, E. E. (2013). Sakharnyj diabet i stomatologicheskoe zdorov'ye: problemy diagnostiki i lecheniya pacientov stomatologicheskikh klinik [Diabetes mellitus and dental health: problems in diagnosis and treatment of dental clinics' patients]. *Prakticheskaya medicina*, 72(4), 10–14. [in Russian].
- [2] Goss, A., & Sambrook, P. (2013) Diabetes, Wound Healing and Complications: Authors' Reply. *Australian Dental Journal*, 58(4), 536–537. doi: 10.1111/adj.12117\_2
- [3] Mealey, B., & Oates, T. (2006) Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*, 77(8), 1289–1303. doi: 10.1902/jop.2006.050459
- [4] Kido, D., Mizutani, K., Takeda, K., Mikami, R., Matsuura, T., Iwasaki, K., & Izumi, Y. (2017) Impact of diabetes on gingival wound healing via oxidative stress. *PLOS ONE*. 12(12), e0189601. doi: 10.1371/journal.pone.0189601
- [5] Seshima, F., Nishina, M., Namba, T., & Saito, A. (2016) Periodontal Regenerative Therapy in Patient with Chronic Periodontitis and Type 2 Diabetes Mellitus: A Case Report. *Bull Tokyo Dent Coll.*, 57(2), 97–104. doi: 10.2209/tdcpublication.2015-0041
- [6] Faizullina, D. B., & Mingazov, G. G. (2009) Sostoyanie tkanej parodontu u bol'nykh sakharnym diabetom [State of parodontium tissues of diabetes mellitus patients]. *Meditsinskij vestnik Bashkortana*, 4(5), 69–74. [in Russian].
- [7] Udod, O., & Kulish, A. (2017). Analiz biofizychnykh vlastyivostei rotovoi ridyny u khvorykh na tsukrovyy diabet 1 typu [Analysis of biophysical properties of oral fluid in patients with type 1 diabetes mellitus]. *Ukrainskyi stomatohichnyi almanakh*, 4, 45–49. [in Ukrainian].
- [8] Fomichev, E. V., Poroytsky, S. V., Kirpichnikov, M. V., & Yarygina, E. N. (2014) Sovremennaya koncepciya lecheniya gnojno-vospalitel'nykh zabolevanij lica i shei u bol'nykh sakharnym diabetom [Modern conception of treating purulent inflammatory diseases of the face and neck region in patients with diabetes mellitus]. *Volgogradskio nauchno-meditsinskio zhurnal*, 3(43), 35–40. [in Russian].
- [9] Zajcev, V., Lifyandskij, V. G., & Marinkin, V. I. (2003) *Prikladnaya meditsinskaya statistika [Applied Medical Statistics]*. Saint Petersburg: Foliant. [in Russian].
- [10] Alekseeva, I., Volkov, A., Kulakov, A., & Gol'dshteyn, D. (2012). Kliniko-eksperimental'noe obosnovanie ispol'zovaniya kombinirovannogo kletochnogo transplantanta na osnove mul'tipotentnykh mezenkhimal'nykh stromal'nykh kletok zhirovoj tkani u pacientov s vyrazennym deficitom kostnoj tkani chelustej [Clinical and experimental rationale for the use of a combined cell graft based on multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue in patients with severe deficiency of jaw bone tissue]. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*, 7(1), 97–99. [in Russian].
- [11] Kushenkov, V. (2014). Rezul'taty citologicheskogo issledovaniya processa zashivleniya poste'kstrakcionnykh ran u bol'nykh s yazvennoj bolezn'yu zheludka i 12-perstnoj kishki v usloviyakh primeneniya lechebno-profilakticheskikh perevyazok [The results of cytological study of the healing process of post-extraction wounds in patients with gastric ulcer and 12 duodenal ulcer under the conditions of application of therapeutic and prophylactic dressings]. *Tavrisheskij mediko-biologicheskij vestnik*, 17(1), 77–80. [in Russian].
- [12] Fernandes, K. S., Glick, M., de Souza, M. S., Kokron, C. M., & Gallotini, M. (2015) Association between immunologic parameters, glycemic control, and postextraction complications in patients with type 2 diabetes. *JAmDentAssoc.*, 146(8), 592–599. doi: 10.1016/j.adaj.2015.02.014
- [13] Grechishkin, A. K., & Sveshnikov, A. A. (2009). Mineral'naya plotnost' kostnoj tkani u bol'nykh s diabeticheskimi porazheniyami nizhnikh konechostej (obzor literatury) [Bone mineral density in patients with diabetic lesions of the lower extremities (literature review)]. *Genij Ortopedii*, 1, 121–127. [in Russian].
- [14] Sun, J., Du, J., Feng, W., Lu, B., Liu, H., Guo, J., et al. (2017). Histological evidence that metformin reverses the adverse effects of diabetes on orthodontic tooth movement in rats. *Journal of molecular histology*, 48(2), 73–81. doi: 10.1007/s10735-016-9707-y
- [15] Lucevich, O., Tamrazova, O., & Shikunova, A. (2011). Sovremennyy vzglyad na patofiziologiyu i lechenie gnojnykh ran [Modern look at the pathophysiology and treatment of purulent wounds]. *Khirurgiya*, 5, 72–77. [in Russian].
- [16] Efimov, E., & Horoshkevich, A. (2015). Osobennosti ranevogo processa na fone sakharnogo diabeta. Rany i ranevye infekcii [Features of the wound process on the background of diabetes. Wounds and wound infections]. *Zhurnal im. prof. B.M. Kostiuhenka*, 3(2), 30–35. [in Russian].
- [17] Pavlenko, A., & Pavlenko, M. (2007). Root Replica – sovremennaya metodika preduprezhdeniya atrofial'veolarnogo otrostka chelustej posleoperacii udaleniya kornya zuba [Root Replica is a modern method of preventing atrophy of the alveolar process of the jaws after the operation of the extraction of the tooth root.]. *Stomatologicheskij zhurnal*, 1(8), 83–85. [in Russian].

## Сравнительная морфометрия пияльных сосудов при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях

В. А. Шаврин<sup>А,Е,Ф</sup>, Ю. Н. Авраменко<sup>\*В,С,Д</sup>

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

А – концепция и дизайн исследования; В – сбор данных; С – анализ и интерпретация данных; Д – написание статьи; Е – редактирование статьи; Ф – окончательное утверждение статьи

### Ключевые слова:

диабетическая энцефалопатия, дисциркуляторно-ишемическая энцефалопатия, морфометрия, пияльные сосуды.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 94–98

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166331

\*E-mail: juliya\_avramenko@ukr.net

**Цель работы** – определить особенности морфометрических показателей пияльных сосудов мозга при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях.

**Материалы и методы.** Проведено патогистологическое и морфометрическое исследование пияльных сосудов 30 секционных наблюдений. Первую группу составили 10 случаев смерти с дисциркуляторной энцефалопатией, вторую – 10 случаев диабетической энцефалопатии с когнитивными нарушениями в анамнезе при сахарном диабете 2 типа. В третью группу (контрольную) отобраны 10 случаев без сахарного диабета и без признаков церебральной сосудистой патологии.

**Результаты.** По сравнению с контрольными наблюдениями при диабетической и дисциркуляторно-ишемической энцефалопатиях увеличивается толщина стенок микрососудов. При диабетической энцефалопатии наружный диаметр увеличивается, а внутренний – уменьшается, уменьшаются показатели внутреннего и наружного факторов формы, существенно увеличиваются индексы Вогенворта и Керногана. При дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии уменьшается внутренний диаметр, уменьшаются показатели внутреннего фактора формы, увеличиваются индексы Вогенворта и Керногана. Утолщение стенок микрососудов по сравнению с нормой значительно более выражено при диабетической энцефалопатии, чем при дисциркуляторно-ишемической (на 43,55 % и 34,82 % соответственно), разница составляет 8,73 %. Утолщение сосудистых стенок сопровождается уменьшением диаметра просвета микрососудов по сравнению с нормой – на 1,87 % при диабетической, на 8,74 % при дисциркуляторно-ишемической. Внутренний диаметр сосудов при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии уменьшается в большей степени, чем при диабетической энцефалопатии. Уменьшение показателей внутреннего фактора формы сосудистых стенок по сравнению с нормой незначительно, и его степень не зависит от характера энцефалопатии. Увеличение индексов Вогенворта и Керногана по сравнению с нормой характерно для обеих энцефалопатий, но более выражено при диабетической, что свидетельствует о более тяжелом нарушении гемодинамики.

**Выводы.** При и дисциркуляторно-ишемической, и диабетической энцефалопатии в пияльных сосудах головного мозга закономерно появляется ряд признаков, характеризующих существенные патологические изменения пияльной циркуляции, более выражены при диабетической энцефалопатии, чем при дисциркуляторно-ишемической.

### Ключові слова:

діабетична енцефалопатія, дисциркуляторно-ішемічна енцефалопатія, морфометрія, пияльні судини.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 94–98

## Порівняльна морфометрія пияльних судин при дисциркуляторно-ішемічній і діабетичній енцефалопатії

В. О. Шаврін, Ю. М. Авраменко

**Мета роботи** – визначити особливості морфометричних показників пияльних судин мозку при дисциркуляторно-ішемічній і діабетичній енцефалопатіях.

**Матеріали та методи.** Здійснили патогістологічне та морфометричне дослідження пияльних судин 30 секційних спостережень. Перша група – 10 випадків смерті з дисциркуляторною енцефалопатією, друга – 10 випадків діабетичної енцефалопатії з когнітивними порушеннями в анамнезі при цукровому діабеті 2 типу. У третю групу (контрольну) відібрали 10 випадків без цукрового діабету, ознак церебральної судинної патології.

**Результати.** Порівняно з контрольними спостереженнями при діабетичній і дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатіях збільшується товщина стінок микросудин. При діабетичній енцефалопатії зовнішній діаметр збільшується, а внутрішній діаметр зменшується, зменшуються показники внутрішнього та зовнішнього факторів форми, істотно збільшуються індекси Вогенворта та Керногана. При дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії внутрішній діаметр зменшується, зменшуються показники внутрішнього фактора форми, збільшуються індекси Вогенворта й Керногана. Потовщення стінок микросудин порівняно з нормою значно більш виражене при діабетичній енцефалопатії, ніж при дисциркуляторно-ішемічній (на 43,55 % і 34,82 % відповідно), різниця становить 8,73 %. Потовщення судинних стінок супроводжується зменшенням діаметра просвіту микросудин порівняно з нормою – на 1,87 % при діабетичній, на 8,74 % при дисциркуляторно-ішемічній. Внутрішній діаметр судин при дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії зменшується більше, ніж при діабетичній енцефалопатії. Зменшення показників зовнішнього та внутрішнього факторів форми судинних стінок порівняно з нормою незначне, його ступінь не залежить від характеру енцефалопатії. Збільшення індексів Вогенворта та Керногана порівняно з нормою характерне для обох енцефалопатій, але більш виражене при діабетичній, що свідчить про тяжче порушення гемодинаміки.

**Висновки.** При дисциркуляторно-ішемічній і діабетичній енцефалопатії в пияльних судинах головного мозку закономерно з'являється низка ознак, що характеризують істотні патологічні зміни пияльної циркуляції, більш виражені при діабетичній енцефалопатії, ніж при дисциркуляторно-ішемічній.

## Comparative morphometry of pial vessels in dyscirculatory-ischemic and diabetic encephalopathy

V. O. Shavrin, Yu. M. Avramenko

**Aim** – to determine the features of the morphometric parameters of the pial vessels of the brain in dyscirculatory-ischemic and diabetic encephalopathy.

**Materials and methods.** A histopathological and morphometric study of pial vessels of 30 sectional observations was carried out. The first group consisted of 10 deaths with dyscirculatory encephalopathy, the second group – 10 cases of diabetic encephalopathy with cognitive impairment in the anamnesis of type 2 diabetes mellitus. The third group (control) selected 10 cases without diabetes mellitus and without signs of cerebral vascular pathology.

**Results.** Compared with the control observations in diabetic and dyscirculatory-ischemic encephalopathy the thickness of the walls of vessels increases. In diabetic encephalopathy, the outer diameter increases, and the inner diameter decreases, the indices of the internal and external shape factors decrease, and the Vogenworth index and the Kernogan index increase significantly. In case of dyscirculatory-ischemic encephalopathy, the inner diameter decreases, the indices of the internal form factors decrease, the Vogenworth index and the Kernogan index increase. Thickening of the walls of microvessels compared with the norm is much more pronounced in diabetic encephalopathy than in dyscirculatory-ischemic one (by 43.55 % and 34.82 %, respectively), the difference is 8.73 %. Thickening of the vascular walls is accompanied by a decrease in the diameter of the microvessel lumen compared with the norm: by 1.87 % for diabetic and by 8.74 % for dyscirculatory-ischemic. At the same time, the internal diameter of the vessels with dyscirculatory-ischemic encephalopathy decreases to a greater extent than with diabetic encephalopathy. The decrease in external and internal vascular wall shape factor is insignificant compared to the norm, and its degree does not depend on the nature of encephalopathy. An increase in the Wogenworth and Kernogan indices compared with the norm is characteristic for both encephalopathies, but more pronounced in diabetic one, which indicates a more severe impairment of blood circulation.

**Conclusions.** The data indicate that both in dyscirculatory-ischemic and diabetic encephalopathy a number of signs, that characterize significant pathological changes in the pial circulation, more pronounced in diabetic encephalopathy than in dyscirculatory-ischemic encephalopathy, regularly appear in the pial vessels of the brain.

**Key words:**  
encephalopathy,  
brain ischemia,  
morphometry,  
pial vessels.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 94–98

Сахарный диабет (СД) 2 типа приобрел характер неинфекционной эпидемии мирового масштаба [1]. Широко известно, что СД приводит к структурным изменениям сосудов различного калибра: макроангиопатии и микроангиопатии. Макроангиопатия выражается в более раннем и выраженном распространении атеросклеротического поражения крупных сосудов, обеспечивающих доставку и распределение потока крови по регионам и органам [2]. Микроангиопатия проявляется в изменении морфологии мелких сосудов, обеспечивающих микроциркуляцию и метаболический обмен [3,4].

Термин «диабетическая энцефалопатия» предложен R. De Jong в 1950 г. [5]. Истинно диабетической принято считать прогрессирующую на фоне нарушений углеводного обмена дисметаболическую энцефалопатию. Однако выделение «чистой» дисметаболической формы энцефалопатии при СД весьма проблематично, поскольку с течением заболевания присоединяются прогрессирующие церебральные сосудистые нарушения, обусловленные развитием диабетической ангиопатии, артериальной гипертензии и атеросклероза, поэтому следует говорить о смешанной форме энцефалопатии (дисметаболически-дисциркуляторной) [6,7].

Большой интерес вызывает изучение отличительных особенностей в состоянии различных сегментов микроциркуляторного русла при первичном преимущественном поражении сосудов крупного калибра (атеросклеротическая дисциркуляторно-ишемическая энцефалопатия), а также при диабетической энцефалопатии с преимущественным поражением мелких сосудов.

Так как основную роль в перераспределении крови головного мозга играет сосудистая сеть мягкой

мозговой оболочки, то, несомненно, важно оценить ее морфофункциональное состояние.

Пиальное артериальное русло состоит из артерий и артериол, а также межартериальных и межартериоллярных анастомозов [8]. От пиальных артерий и артериол отходят боковые ветви в виде прекартикальных резистивных сосудов, продолжающихся в так называемые радиальные артерии, пенетрирующие вещество головного мозга и доставляющие нервной ткани кислород и питательные вещества [8,9].

### Цель работы

Определить особенности морфометрических показателей пиальных сосудов мозга при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях.

### Материалы и методы исследования

В исследованиях использованы 30 секционных наблюдений. Первую группу составили 10 случаев смерти с дисциркуляторной энцефалопатией. Вторую группу – 10 случаев диабетической энцефалопатии с когнитивными нарушениями в анамнезе при сахарном диабете 2 типа. В третью группу (контрольную) отобраны 10 случаев без сахарного диабета и без клинических и морфологических признаков церебральной сосудистой патологии.

Кусочки для исследования брали фронтальными полосками из коры правой теменной области с пиальной оболочкой, фиксировали в 10 % забуференном формалине и заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование проводили с помощью микроскопа AxioPlan-2 и компьютерной системы

цифрового анализа KS 200. Измеряли следующие параметры: а) внешний d1 и внутренний d2 диаметр; б) внешний F1 и внутренний F2 факторы формы; в) площадь просвета; г) площадь стенки. Для определения толщины сосудистой стенки использовали формулу:  $T = (d1-d2)/2$  [10]. Для оценки функционального состояния сосудов вычисляли индекс Вогенворта (отношение площади стенки к площади просвета) [11], а также индекс Керногана (отношение толщины стенки к диаметру просвета сосуда) [12].

Для анализа морфометрических данных использован статистический пакет Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия №JPZ804I382130ARCN10-J). Вычисляли среднюю арифметическую величину (M), среднее квадратическое отклонение ( $\sigma$ ), стандартную ошибку средней арифметической (m). Достоверность отличий сравниваемых величин вычисляли с помощью критерия Стьюдента. Статистически значимыми различия считали при  $p < 0,05$ . Коэффициент вариации (Cv) оценивали по шкале: разнообразие признака слабое –  $Cv = 1-10\%$ ; разнообразие признака среднее –  $Cv = 10-20\%$ ; разнообразие признака высокое –  $Cv > 20\%$ .

## Результаты

При дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии толщина стенок пиальных сосудов увеличивается на 34,82 % с падением показателя разнообразия признака, но с сохранением его на высоком уровне (от Cv 25,84 до 25,02), т. е. в отличие от контрольных наблюдений при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии пиальные артерии выглядят более однообразно в отношении толщины сосудистой стенки.

Внутренний диаметр сосудов уменьшается (на 8,74 %), коэффициент вариации несколько увеличивается (от Cv 27,63 до 28,60), но с сохранением его на высоком уровне. Таким образом, при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии утолщение сосудистых стенок в пиальных артериях всегда сопряжено с уменьшением диаметра их внутреннего просвета и некоторого увеличения диапазона разнообразия данного показателя.

Наружный диаметр пиальных артерий несколько увеличивается, но не так значительно – на 2,69 % по сравнению с нормой, диапазон разнообразия показателя снижается, но с сохранением его на высоком уровне (от Cv 24,81 до 24,07).

При дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии наружный фактор формы не изменяется.

Внутренний фактор формы снижается на 3,7 % с увеличением коэффициента вариации, при этом коэффициент вариации остается на среднем уровне (от Cv 10,47 до 13,6). Эти показатели указывают на деформацию профилей пиальных артерий.

Расчет индексов Вогенворта и Керногана для пиальных сосудов группы контроля и группы дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии показал их значительное увеличение (в 1,21 и в 1,48 раза соответственно).

При сахарном диабете толщина стенок пиальных сосудов увеличивается еще в большей степени – в 1,44 раза (на 43,55 %) по сравнению с контрольным материалом, при этом уменьшается показатель разнообразия признака с сохранением его на высоком уровне (от Cv 25,84 до 20,5). Т. е. при СД пиальные сосуды имеют менее разнообразный вид в отношении толщины сосудистых стенок.

Внутренний диаметр сосудов уменьшается на 1,87 %, а наружный увеличивается на 10,02 %, таким образом, несмотря на более выраженное утолщение стенок пиальных артерий при диабетической энцефалопатии, просвет сосудистого русла на уровне пиальных артерий уменьшается значительно меньше, чем при дисциркуляторно-ишемической. Вместе с тем, индексы Вогенворта и Керногана увеличиваются в большей степени (в 1,45 и 1,56 раза соответственно).

Показатели наружного и внутреннего факторов формы при СД снижены по сравнению с нормой на 3,57 % и на 3,70 % соответственно, коэффициент вариации остается на низком уровне – увеличивается в сравнении с нормой для показателя наружного фактора формы (от Cv 7,58 до 7,86), но уменьшается для показателя внутреннего фактора формы (от Cv 10,47 до 8,16).

**Таблица 1.** Морфометрические параметры пиальных сосудов головного мозга при дисциркуляторно-ишемической и диабетической энцефалопатиях в сравнении с контрольными наблюдениями ( $M \pm m$ )

Параметры	Группы наблюдений		
	Дисциркуляторно-ишемическая энцефалопатия (10 наблюдений)	Диабетическая энцефалопатия (10 наблюдений)	Контроль (10 наблюдений)
Количество значений, n	50	50	50
Наружный диаметр, мкм	77,24 ± 2,63	82,76 ± 2,63*	75,22 ± 2,64
Коэфф. вариации (Cv), %	24,07	22,47	24,81
Внутренний диаметр, мкм	50,67 ± 2,05	54,48 ± 2,33	55,52 ± 2,17
Коэфф. вариации (Cv), %	28,60	30,24	27,63
Толщина стенки, мкм	13,28 ± 0,47*	14,14 ± 0,41*	9,85 ± 0,36
Коэфф. вариации (Cv), %	25,02	20,5	25,84
Наружный фактор формы	0,280 ± 0,003	0,270 ± 0,003*	0,280 ± 0,003
Коэфф. вариации (Cv), %	7,58	7,86	7,58
Внутренний фактор формы	0,260 ± 0,005	0,260 ± 0,003*	0,270 ± 0,004
Коэфф. вариации (Cv), %	13,6	8,16	10,47
Индекс Вогенворта, %	120,580 ± 0,056*	144,770 ± 0,093* <sup>^</sup>	99,970 ± 0,045
Индекс Керногана %	27,430 ± 0,009*	28,970 ± 0,013* <sup>^</sup>	18,580 ± 0,006

\*: достоверное отличие от группы контроля ( $p < 0,05$ ); <sup>^</sup>: достоверное отличие от группы дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии ( $p < 0,05$ ).



## Обсуждение

Данные свидетельствуют, что при и дисциркуляторно-ишемической, и диабетической энцефалопатиях в пиальных сосудах головного мозга закономерно появляется ряд признаков, характеризующих существенные изменения пиальной гемоциркуляции, более выраженные при диабетической, чем при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии.

Основываясь на полученных ранее (на том же клиническом материале) данных морфометрии артериолярного сегмента в толще коркового вещества головного мозга [13] и приведенных данных морфометрии пиальных сосудов, можно отметить следующее. В корковых артериолах в отличие от пиальных артерий сосудистые стенки при сахарном диабете утолщаются по сравнению с нормой намного значительнее, чем при атеросклерозе (на 110,2 % и на 67,8 % соответственно, разница составляет 42,4 %), но диаметр просвета артериол остается почти одинаковым, уменьшаясь по сравнению с нормой на 10,5 % и 10,0 % соответственно, то есть утолщение стенок существенно сказывается на наружном диаметре артериол и почти не сказывается на внутреннем [13]. Пиальные артерии ведут себя аналогично, однако утолщение сосудистых стенок по сравнению с нормой значительно менее выражено, чем в артериолах (на 43,55 % при диабете и на 34,82 % при атеросклерозе), разница составляет 8,73 %, то есть практически вдвое меньше, чем в аналогичной пропорции у артериол. Наиболее примечательно то, как отличаются изменения диаметров просвета сосудов – при диабете в пиальных артериях он уменьшается на 1,87 % по сравнению с нормой, а при атеросклерозе значительно интенсивнее – на 8,74 %, то есть при диабетической энцефалопатии просветы пиальных артерий существенно шире, чем при дисциркуляторно-ишемической. Это может свидетельствовать о существенной роли пиальных сосудов (как «сосудов распределения») в компенсаторно-приспособительной регуляции коркового кровотока в условиях диабетической микроангиопатии. Полученные результаты соотносятся с данными других исследователей, указывающих на значительные изменения сосудов головного мозга при диабетической энцефалопатии [14,15].

## Выводы

1. По сравнению с контрольными наблюдениями при диабетической и дисциркуляторно-ишемической энцефалопатиях увеличивается толщина стенок пиальных артерий. Утолщение стенок значительно более выражено при диабетической энцефалопатии, чем при дисциркуляторно-ишемической (на 43,55 % и на 34,82 % соответственно), разница составляет 8,73%.

2. Утолщение сосудистых стенок сопровождается уменьшением диаметра просвета пиальных артерий по сравнению с нормой – на 1,87 % при диабетической, на 8,74% при дисциркуляторно-ишемической. Внутренний диаметр сосудов при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии уменьшается в большей степени, чем при диабетической энцефалопатии.

3. Уменьшение показателей наружного и внутреннего факторов формы сосудистых стенок по сравнению с нормой незначительно, его степень не зависит от характера энцефалопатии.

4. Увеличение индексов Вогенворта и Керногана по сравнению с нормой характерно для обеих энцефалопатий, но более выражено при диабетической, что свидетельствует о более тяжелом нарушении гемоциркуляции.

### Перспективы дальнейших исследований.

Сравнительное изучение морфометрических параметров резистивных сосудов коры головного мозга для выяснения особенностей в характере изменений приточного кровоснабжения в зависимости от вида энцефалопатии.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках НИР Запорожского государственного университета «Закономерности формирования метаболических нарушений, нейроэндокринного и вегетативного дисбалансов в патогенезе экспериментальной артериальной гипертензии разного генеза» № госрегистрации 0114U000966.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

### Сведения об авторах:

Шаврин В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Авраменко Ю. Н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

### Відомості про авторів:

Шаврин В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Авраменко Ю. М., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

### Information about authors:

Shavryn V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.  
Avramenko Yu. M., MD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

### Список литературы

- [1] Касаткина С.Г. Значение дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 2 типа / С.Г. Касаткина, С.Н. Касаткин // Фундаментальные исследования. – 2011. – №7. – С. 248–252.
- [2] Diabetic macroangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches with focus on high glucose-mediated vascular damage / R. Madonna, D. Pieragostino, C.R. Balistreri, et al. // *Vascular Pharmacology*. – 2018. – February 2018.
- [3] Diabetic microangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches / R. Madonna, C.R. Balistreri, Y.-J. Geng, R. De Caterina // *Vascular Pharmacology*. – 2017. – Vol. 90. – P. 1–7.
- [4] Туманский В.А. Некоторые аспекты морфогенеза диабетической энцефалопатии / В.А. Туманский, Ю.Н. Авраменко // Запорожский медицинский журнал. – 2013. – №4(79). – С. 39–42.
- [5] De Jong R.N. The nervous system complications in diabetes mellitus with special reference to cerebrovascular changes / R.N. De Jong // *J. Nerv. Ment. Dis.* – 1950. – Vol. 3. – Issue 111. – P. 181–206.
- [6] Морозова О.Г. Метаболические аспекты патогенетической терапии церебральных осложнений сахарного диабета / О.Г. Морозова // *Ліки України. Діабет і серце*. – 2011. – №2(6). – С. 4–10.

- [7] Усманова Д.Д. Особенности патогенеза развития диабетической энцефалопатии (обзор) / Д.Д. Усманова, Х.Х. Хажикаев // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2016. – №2. – С. 366–370.
- [8] Лазаренко В.В. Морфологическая характеристика пияльного сосудистого русла некоторых функциональных зон коры большого мозга человека: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук : 14.00.02 «Анатомия человека» / В.В. Лазаренко. – Уфа, 2000. – 163 с.
- [9] Marilyn J.C. The Cerebral Circulation / J.C. Marilyn // Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function. – 2009. – Vol. 1. – Issue 1. – P. 1–59.
- [10] Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
- [11] Шкробот Л.В. Особливості ремоделювання та морфометрична характеристика судин печінки і нирок за умов реперфузії тонкої кишки після усунення її експериментальної непрохідності / Л.В. Шкробот // Тавричеський медико-біологічний вестник. – 2013. – Т. 16. – №1.– Ч. 2(61). – С. 232–237.
- [12] Шульгай А.Г. Морфометрическая оценка особенностей ремоделирования сосудистого русла терминального отдела подвздошной кишки при механической желтухе / А.Г. Шульгай, Я.М. Кицак // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – №2(42). – С. 39–42.
- [13] Шаврин В.А. Сравнительная морфометрия церебральных микрососудов при атеросклеротической и диабетической энцефалопатиях / В.А. Шаврин, Ю.Н. Авраменко // Морфология. – 2017. – Т. 11. – №1. – С. 58–61.
- [14] Саруханов Т.М. Особенности диабетической ангиопатии артерий головного мозга (клинико-морфологическое исследование) : автореф. диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.03.02 «Патологическая анатомия», 14.01.11 «Нервные болезни» / Т.М. Саруханов. – СПб., 2014. – 153 с.
- [15] Янишевский С.Н. Поражение головного мозга при сахарном диабете 2 типа (клинико-морфологическое исследование) : автореф. диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук : 14.01.11 «Нервные болезни» / С.Н. Янишевский. – СПб., 2014. – 243 с.
- [11] Shkrobot, L. V. (2013). Osoblyvosti remodeliuvannya ta morfometrychna kharakterystyka sudyn pechinky i nyrok za umov reperfuzii tonkoi kysky pislia usunennia yii eksperymentalnoi neprokhidnosti [Peculiarities of remodeling and morphometric characteristics of liver and kidney vessels under conditions of reperfusion of the small intestine after eliminating its experimental obstruction]. *Tavricheskij mediko-biologicheskij vestnik*. 16(1), 232–237. [in Ukrainian].
- [12] Shulhay, A. H., & Kitsak, Y. M. (2013). Morfometrycheskaya ocenka osobennostej remodelirovaniya sosudistogo rusla terminal'nogo otdela podvzdoshnoj kishki pri mekhanicheskoy zheltukhe [Morphometric assessment of the features of remodeling bloodstream of the terminal segment of ileum at mechanical jaundice]. *Zhurnal Grodenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2(42), 39–42. [in Russian].
- [13] Shavrin, V. A., & Avramenko, Yu. N. (2017). Sravnitel'naya morfometriya cerebral'nykh mikrososudov pri ateroskleroticheskoy i diabeticheskoy e'ncefalopatiyakh [Comparative morphometry of cerebral microvessels in atherosclerotic and diabetic encephalopathies]. *Morphologia*, 11(1), 58–61. [in Russian].
- [14] Sarukhanov, T. M. (2014). *Osobennosti diabeticheskoy angiopatii arteriy golovnogo mozga* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Features of diabetic angiopathy of cerebral arteries. (Extended abstract of candidate's thesis). Saint Petersburg. [in Russian].
- [15] Yanishevskij, S. N. (2014). *Parazhenie golovnogo mozga pri sakharnom diabete 2 tipa* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Brain affection in type 2 diabetes mellitus. (Extended abstract of candidate's thesis). Saint Petersburg. [in Russian].

## References

- [1] Kasatkina, S. G., & Kasatkin, S. N. (2011). Znacheniye disfunkcii e'ndoteliya u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa [The value of endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 7, 248–252. [in Russian].
- [2] Madonna, R., Pieragostino, D., Balistreri, C. R., Rossi, C., Geng, Y. J., Del Boccio, P., & De Caterina, R. (2018). Diabetic macroangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches with focus on high glucose-mediated vascular damage. *Vascular Pharmacology*. doi: 10.1016/j.vph.2018.01.009
- [3] Madonna, R., Balistreri, C. R., Geng, Y. J., & De Caterina, R. (2017). Diabetic microangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches. *Vascular Pharmacology*, 90, 1–7. doi: 10.1016/j.vph.2017.01.004
- [4] Tumansky, V. A., & Avramenko, Yu. N. (2013). Nekotorye aspekty morfogeneza diabeticheskoy e'ncefalopatii [Some aspects of morphogenesis of diabetic encephalopathy]. *Zaporozhye medical Journal*, 4(79), 39–42. [in Russian]. doi: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2013.4.16835>
- [5] De Jong, R. N. (1950). The nervous system complications of diabetes mellitus, with special reference to cerebrovascular changes. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, 3(111), 181–206.
- [6] Morozova, O. H. (2011). Metabolicheskie aspekty patogeneticheskoy terapii cerebral'nykh oslozhenij sakharnogo diabeta [Pathogenic Therapy of Cerebral Complications of Diabetes Mellitus: Metabolic Aspects]. *Liky Ukrainy. Diabet i sertse*, 2(6), 4–10. [in Ukrainian].
- [7] Usmanova, D. D., & Khajibakiev, Kh. Kh. (2016). Osobennosti patogeneza razvitiya diabeticheskoy e'ncefalopatii (obzor) [Features of the pathogenesis of the development of diabetic encephalopathy (review)]. *Vestnik Kazhskogo Nacional'nogo medicinskogo universiteta*, 2, 366–370. [in Russian].
- [8] Lazarenko, V. V. (2000). *Morfologicheskaya kharakteristika pial'nogo sosudistogo rusla nekotorykh funktsional'nykh zon kory bol'shogo mozga cheloveka* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Morphological characteristics of the pial vascular bed of some functional zones of the human cerebral cortex]. (Extended abstract of candidate's thesis). Ufa. [in Russian].
- [9] Marilyn, J. C. (2009). The Cerebral Circulation. *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function*. 1(1), 1–59. doi: 10.4199/c00005ed1v01y200912isp002
- [10] Avtandilov, G. G. (2002). *Osnovy kolichestvennoj patologicheskoy anatomii* [Fundamentals of quantitative pathological anatomy]. Moscow: Medicina. [in Russian].

# Адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы у детей с ревматическими заболеваниями и коморбидными состояниями

Н. С. Шевченко<sup>1,2,A</sup>, Л. Ф. Богмат<sup>1,2,C,E,F</sup>, Т. А. Головко<sup>\*2,B,C,D</sup>, М. В. Демьяненко<sup>1,B</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», г. Харьков, <sup>2</sup>Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина

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

**Цель работы** – изучение функционального состояния сердечно-сосудистой системы и ее адаптационных реакций у детей с ревматическими заболеваниями (РЗ) с учетом развития коморбидных состояний.

**Материалы и методы.** Обследовали 44 пациента с РЗ, 8 из них с системной красной волчанкой, 36 с ювенильным идиопатическим артритом. Средний возраст исследуемых составил  $13,39 \pm 0,82$  года. Для изучения толерантности к минимальной физической нагрузке и ее влияния на состояние сердечно-сосудистой системы (ССС) у детей проводили тест шестиминутной ходьбы (ТШХ). Для оценки функциональной напряженности ССС до и после ТШХ рассчитывали индекс Альговера, коэффициент выносливости по формуле А. Квааса, индекс Робинсона, коэффициент экономичности кровообращения. Для оценки влияния вегетативной нервной системы (ВНС) на показатели деятельности сердечно-сосудистой системы определяли вегетативный индекс Кердо (ВИК). В состоянии покоя определяли также индекс функциональных изменений системы кровообращения, или адаптационный потенциал (АП).

**Результаты.** У пациентов с РЗ отмечена сниженная толерантность к минимальной физической нагрузке с повышением функциональной напряженности ССС и активацией симпатического отдела ВНС. При анализе функциональной напряженности ССС у детей с РЗ с наличием коморбидной патологии установлены достоверно более высокие значения АП и индекса Альговера, что указывает на формирование нарушений в системе кровообращения на фоне срыва адаптационных механизмов ССС. Показатель ВИК свидетельствует об активации у них симпатического отдела ВНС и об усилении процессов катаболизма, характерного для напряженного функционирования с расходом энергетических резервов организма. При оценке данных показателей у детей без коморбидных состояний отрицательное значение ВИК указывает на активацию парасимпатического отдела ВНС, что свидетельствует о более благоприятном, анаболическом варианте сдвига и более экономном режиме функционирования систем организма.

**Выводы.** У детей с РЗ отмечено снижение толерантности к минимальной физической нагрузке в тесте шестиминутной ходьбы, о чем свидетельствует процент прироста ЧСС и пройденное расстояние. Также установлена напряженность в деятельности ССС и снижение ее функциональных возможностей, что подтверждается достоверным повышением индекса Робинсона, Альговера и коэффициента выносливости как до проведения ТШХ, так и после него. У детей с РЗ и наличием коморбидной патологии установлены более высокие значения адаптационного потенциала, индекса Альговера и вегетативного индекса Кердо, что свидетельствует о формировании нарушений в системе кровообращения на фоне срыва ее адаптационных возможностей.

## Ключевые слова:

сердечно-сосудистая система, дети, ревматические заболевания.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 99–105

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166395

\*E-mail: golovko@karazin.ua

## Адаптаційні можливості серцево-судинної системи в дітей із ревматичними захворюваннями та коморбідними станами

Н. С. Шевченко, Л. Ф. Богмат, Т. О. Головко, М. В. Дем'яненко

**Мета роботи** – вивчення функціонального стану серцево-судинної системи та її адаптаційних реакцій у дітей із ревматичними захворюваннями (РЗ), враховуючи розвиток коморбідних станів.

**Матеріали та методи.** Обстежили 44 пацієнти з РЗ: 8 хворих на системний червоний вовчак, 36 – на ювенільний ідіопатичний артрит. Середній вік обстежених –  $13,39 \pm 0,82$  року. Для вивчення толерантності до мінімального фізичного навантаження та її впливу на стан серцево-судинної системи (ССС) у дітей виконали тест шестихвилинної ходьби (ТШХ). Для оцінювання функціональної напруженості ССС до і після ТШХ розраховували індекс Альговера, коефіцієнт витривалості за формулою А. Квааса, індекс Робінсона, коефіцієнт економічності кровообігу. Для оцінювання впливу вегетативної нервової системи (ВНС) на показники діяльності серцево-судинної системи визначали вегетативний індекс Кердо (ВИК). У стані спокою визначили індекс функціональних змін системи кровообігу, або адаптаційний потенціал (АП).

**Результати.** У пацієнтів із РЗ визначили знижену толерантність до мінімального фізичного навантаження з підвищенням функціональної напруженості ССС та активацією симпатичного відділу ВНС. Аналізуючи функціональну напруженість ССС у дітей із РЗ з наявністю коморбідних станів, виявили вірогідно вищі значення адаптаційного потенціалу та індексу Альговера, що вказує на формування порушень у системі кровообігу на тлі зриву адаптаційних механізмів ССС. Показник ВИК свідчить про активацію у них симпатичного відділу ВНС і про посилення процесів катаболізму, характерного для напруженого функціонування з витрачанням енергетичних резервів організму. Під час оцінювання цих показників у дітей без коморбідних станів негативне значення ВИК вказує на активацію парасимпатичного відділу ВНС, що свідчить про сприятливіший, анаболічний варіант змін та економішій режим функціонування систем організму.

## Ключові слова:

серцево-судинна система, діти, ревматичні захворювання.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 99–105

**Висновки.** У дітей із РЗ встановили зниження толерантності до мінімального фізичного навантаження в ТШХ, про що свідчить відсоток збільшення ЧСС і відстань, яку пройшли під час тестування. Також виявили напруженість у діяльності серцево-судинної системи, зниження її функціональних можливостей, що підтверджується вірогідним підвищенням індексу Робінсона, Альговера та коефіцієнта витривалості як до проведення ТШХ, так і після нього. У дітей із РЗ і наявністю коморбідних станів встановили вищі значення адаптаційного потенціалу, індексу Альговера й вегетативного індексу Кердо, що свідчить про формування порушень у системі кровообігу на тлі зриву її адаптаційних можливостей.

**Key words:**  
cardiovascular  
system, children,  
rheumatic diseases.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 99–105

## Adaptive capacity of the cardiovascular system in children with rheumatic diseases and comorbid conditions

N. S. Shevchenko, L. F. Bohmat, T. O. Holovko, M. V. Demianenko

**Purpose:** to study the functional state of the cardiovascular system and its adaptive reactions in children with rheumatic diseases, taking into account the development of comorbid conditions.

**Materials and methods.** 44 patients with RD were examined, 8 of them with systemic lupus erythematosus, 36 with juvenile idiopathic arthritis. The average age of the children was  $13.39 \pm 0.82$  years. To study tolerance to the minimum physical activity and its influence on the state of the CVS in children, a six-minute walk test (SMWT) was conducted. To assess the functional intensity of the CVS, the following indices were calculated before and after the SMWT: Allgower index, endurance coefficient according to Kvas formula, Robinson index, coefficient of circulatory efficiency. To assess the influence of the vegetative nervous system (VNS) on the CVS activity, Kerdo vegetative index (KVI) was determined. At rest, the functional changes index (FCI) of the circulatory system, or the adaptation potential (AP), was also determined.

**Results.** In patients with RD, there is a reduced tolerance to minimal physical activity with an increase in the functional tension of the cardiovascular system and activation of the sympathetic division of the autonomic nervous system. When analyzing the functional stress of the cardiovascular system in children with RD and the presence of comorbid pathology, significantly higher values of the adaptation potential and Allgower index were revealed, which indicates the formation of disturbances in the circulatory system against the background of the breakdown of the adaptation mechanisms of the cardiovascular system. The KVI indicates activation of the sympathetic part of the autonomic nervous system in them and an increase in the catabolism processes characteristic for intense functioning with the expenditure of the body's energy reserves. When evaluating these indicators in children without comorbid conditions, the negative KVI value indicates activation of the parasympathetic division of the VNS, which indicates a more favorable, anabolic variant of the shift and more economical mode of functioning of the body systems.

**Conclusions.** Children with RD showed a decrease in tolerance to the minimum physical load in the SMWT, as evidenced by the percentage increase in heart rate and the distance traveled. Tension in the cardiovascular system's work and a decrease in its functional capabilities were also revealed, as evidenced by a significant increase in the Robinson index, Allgower index and the endurance coefficient both before and after the SMWT. In children with RD and the presence of comorbid pathology, higher values of adaptation potential, Allgower index and Kerdo vegetative index were established, which indicates the formation of disturbances in the circulatory system against the background of the breakdown of its adaptive capabilities.

По данным мировой медицинской статистики, за последние 25–30 лет одна из основных причин смерти больных ревматоидным артритом (РА) – развитие сердечно-сосудистой патологии [4,9].

Доказано, что при ревматических заболеваниях (РЗ) вследствие каскада иммуновоспалительных реакций происходит развитие системного поражения эндотелия сосудов, что является причиной повреждения различных органов и развития метаболических нарушений [1,5].

Функциональная напряженность сердечно-сосудистой системы (ССС) – одна из основных адаптационных реакций организма ребенка к меняющимся условиям внешней среды, росту и половому созреванию. Проблема контроля реакций ССС требует применения доступных, простых и информативных тестов для исключения гипердиагностики сердечно-сосудистых заболеваний и необходимости назначения адекватного лечения.

### Цель работы

Изучение функционального состояния сердечно-сосудистой системы и ее адаптационных реакций у детей с ревматическими заболеваниями с учетом развития коморбидных состояний.

### Материалы и методы исследования

Обследовали 44 пациента с РЗ, 8 из них с системной красной волчанкой (СКВ), 36 – с ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА). Группа с СКВ не была репрезентативной для самостоятельного анализа, а также не отличалась от группы ЮИА по клинико-физиологическим данным, что позволило их объединить при оценке результатов. Средний возраст исследуемых составил  $13,39 \pm 0,82$  года. По половой принадлежности в группу вошли 34 (77,3 %) девочки и 10 (22,7 %) мальчиков. Группу контроля составили 32 здоровых сверстника, средний возраст которых составлял  $15,78 \pm 0,42$  года; 9 (28,1 %) девочек и 23 (71,9 %) мальчика. Возрастно-половые различия как в основной, так и в группе контроля не установлены. Сравнение результатов между группами проводили без разделения по полу.

Клинические диагнозы установлены в соответствии с критериями, указанными в таких нормативных документах: рекомендации Американской Коллегии ревматологов (ACR) 1997 года, приказ Министерства здравоохранения Украины от 12.10.2006 года № 676 «Об утверждении протоколов оказания медицинской помощи по специальности «Ревматология», диагностические критерии системной красной волчанки

(Systemic Lupus International Collaborating Clinics SLICC, 2012) для диагностики СКВ, приказ Министерства здравоохранения Украины 22.10.2012 №832 «Унифицированный клинический протокол медицинской помощи детям с ювенильным артритом» для постановки диагноза ЮИА.

Диагностика коморбидных состояний включала наличие патологических изменений со стороны сердечно-сосудистой системы, почек, печени, легких, костной ткани, липидного спектра крови и системы коагуляции при длительности основного заболевания более 1 года. Частота коморбидных состояний составила при СКВ 57,9 %, при ЮИА – 60,8 %.

Для изучения толерантности к минимальной физической нагрузке и ее влияния на состояние ССС у детей проводили тест шестиминутной ходьбы (ТШХ). ТШХ проводили в первой половине дня в условиях коридора стационарного отделения. Тест проходил в индивидуальном максимально быстром темпе (избегая появления болевых ощущений, одышки, мышечной усталости или тяжести в ногах, головокружений, слабости), обеспечивающем прохождение пациентом максимальной дистанции в течение 6 минут. Пройденную дистанцию (6MWD) измеряли в метрах. Отслеживали динамику клинического состояния пациента исходно и после пробы, а также регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и артериальное давление (АД); по завершению теста рассчитывали процент прироста ЧСС при минимальной физической нагрузке (% прироста ЧСС). ЧСС подсчитывали в положении сидя в течении 15 секунд с использованием секундомера. АД также измеряли в положении сидя на левой верхней конечности по методу Короткова с использованием аппарата Microlife BP2B10. Исходные измерения проводили после трехминутного отдыха пациента в положении сидя. После пробы подсчет ЧСС и измерение АД проводили на первой восстановительной минуте [8,12].

Для оценки функциональной напряженности сердечно-сосудистой системы до и после ТШХ рассчитывали следующие вегетативные индексы: индекс Альговера, коэффициент выносливости по формуле А. Квааса, индекс Робинсона (или двойное произведение), коэффициент экономичности кровообращения [7,14].

Индекс Альговера (ИА) рассчитывали по формуле:  $IA = ЧСС / САД$ , где ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за минуту), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.). Он является главным прогностическим показателем кровообращения и в норме равен 0,5–0,7. Увеличение этого значения указывает на возникновение дефицита кровоснабжения за счет снижения систолического выброса.

Коэффициент выносливости (КВ) рассчитывали по формуле А. Квааса:  $KB = ЧСС / САД - ДАД$ , где ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за минуту), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.). Увеличение этого показателя свидетельствует об ослаблении,

снижение – об увеличении функциональных возможностей ССС.

Двойное произведение (ДП) определяли по формуле:  $ДП = ЧСС \times САД / 100$ , где ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за минуту), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.). Чем больше этот показатель, тем большую работу производит сердечная мышца.

Коэффициент экономичности кровообращения (КЭК) определяли по формуле:  $КЭК = (САД - ДАД) \times ЧСС$ , где ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за минуту), САД – систолическое артериальное давление (мм рт. ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.). Он характеризует затраты организма на передвижение крови в сосудистом русле. В норме КЭК = 2600. При повышении функционирования ССС данный показатель увеличивается [2].

Для оценки влияния вегетативной нервной системы (ВНС) на показатели деятельности ССС определяли вегетативный индекс Кердо (ВИК), основанный на сопоставлении величин диастолического артериального давления (ДАД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). Этот индекс рассчитывали по формуле:

$ВИК = (1 - ДАД / ЧСС) \times 100$ , где ДАД – диастолическое давление (мм рт. ст.), ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за 1 минуту).

При вегетативном равновесии в регуляции сердечно-сосудистой системы ВИК стремится к 0. Значения ВИК с положительным знаком говорит об усилении процессов катаболизма, характерного для напряженного функционирования с расходом энергетических резервов организма. ВИК с отрицательным знаком свидетельствует о более благоприятном, анаболическом варианте сдвига и более экономном режиме функционирования систем организма [3,10].

В состоянии покоя определяли индекс функциональных изменений (ИФИ) системы кровообращения, или адаптационный потенциал (АП). АП рассчитывают без проведения нагрузочных тестов, он позволяет давать предварительную количественную оценку уровня здоровья обследуемых. АП системы кровообращения определяли по формуле:

$$АП = 0,011 \times ЧСС + 0,014 \times САД + 0,008 \times ДАД + 0,009 \times МТ - 0,009 \times Р + 0,014 \times В - 0,27,$$

где ЧСС: частота сердечных сокращений в относительном покое (количество ударов за 1 минуту);

САД: систолическое артериальное давление (мм рт. ст.);

ДАД: диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.);

МТ: масса тела (кг);

Р: рост (см);

В: возраст (лет).

Его результаты оценивали так: менее или равно 2,10 – удовлетворительная адаптация, 2,11–3,20 – напряжение механизмов адаптации, 3,21–4,30 – неудовлетворительная адаптация, более 4,31 – срыв механизмов адаптации (по Р. М. Баевскому, 1979) [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ SPSS17 (лицензия 4a180844250981ae3dae-s/nSPSS17) на IBM PC/Pentium-4. На первом этапе рассчитывали среднюю арифметическую величину и стандартную к ней ошибку для всех показателей. Расхождения между средними в случае нормального распределения показателей оценивали параметрическими (критерий t Стьюдента, углового преобразования Фишера), а при отсутствии нормального распределения непараметрическими (Вилкоксона, Манна–Уитни) методами математической статистики. Для установления корреляционных взаимосвязей между показателями рассчитывали коэффициент парной корреляции и ранговой корреляции.

## Результаты

Перед проведением ТШХ у 10 пациентов (22,7 %) основной группы были жалобы на головную боль (2,30 %), боль в суставах (20,45 %) и их сочетание (2,30 %). Но все они согласились на проведение теста, только один остановился на пятой минуте проведения теста из-за усилившейся суставной боли, остальные (97,7 %) прошли тест в полном объеме.

При сравнении уровней ЧСС и АД у детей основной группы и группы контроля до проведения теста и после отмечено, что у пациентов с РЗ достоверно выше показатели как исходной ЧСС, так и после теста, сочетающиеся с более высокими цифрами ДАД. При этом процент прироста ЧСС и пройденное расстояние (6MWD) у пациентов основной группы были достоверно ниже, чем у детей из группы контроля (табл. 1).

При исследовании функциональной напряженности ССС у детей с РЗ установлено достоверное повышение показателей индекса Робинсона, индекса Альговера и коэффициента выносливости как до проведения ТШХ, так и после него, а также повышение коэффициента экономичности кровообращения до проведения теста (табл. 2).

При оценке адаптационного потенциала отмечено достоверное его повышение у детей основной группы за счет отчетливой активации симпатического отдела ВНС с усилением процессов катаболизма. Об этом свидетельствует значительное повышение вегетативного индекса Кердо, подтверждающее напряжение функционирования ВНС со значительным расходом энергетических резервов организма (табл. 2).

На втором этапе пациентов основной группы поделили на две подгруппы: с наличием коморбидных состояний (I подгруппа) – 26 пациентов, без коморбидных состояний (II подгруппа) – 18 детей. По возрасту и полу группы не отличались: средний возраст в первой подгруппе составил  $12,61 \pm 0,67$  года (4 мальчика (15,4 %) и 22 девочки (84,6 %)), во второй подгруппе средний возраст равен  $12,11 \pm 0,92$  года (6 мальчиков (33,3 %) и 12 девочек (66,7 %)).

При анализе жалоб у одного ребенка из I подгруппы отмечена головная боль, а у 7 – суставная боль перед проведением ТШХ. Во II подгруппе 3 пациента

жаловались на боль в суставах. После ТШХ в I подгруппе у двоих появилась одышка, у одного – боль в суставах. Во II подгруппе у одного пациента появились жалобы на усталость после ходьбы.

Исходный уровень ЧСС у детей II подгруппы был достоверно ниже, чем у детей I подгруппы. Расстояние, пройденное пациентами, как и прирост ЧСС на фоне физической нагрузки достоверно не отличались по выделенным подгруппам (табл. 3).

При анализе функциональной напряженности ССС у детей с РЗ с наличием коморбидной патологии установлены достоверно более высокие значения адаптационного потенциала и индекса Альговера (табл. 3).

Показатель ВИК свидетельствует об активации у них симпатического отдела вегетативной нервной системы и об усилении процессов катаболизма.

При оценке этих показателей у детей без коморбидных состояний отрицательное значение ВИК указывает на активацию парасимпатического отдела ВНС и более благоприятном, анаболическом варианте сдвига (табл. 3).

При проведении корреляционного анализа у детей из группы контроля установлена прямая корреляционная зависимость между уровнем прироста ЧСС и разницей между показателями индекса Альговера до ТШХ и после него ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,001$ ), между показателями коэффициента выносливости ( $r = 0,6$ ;  $p < 0,001$ ), показателями индекса Робинсона ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,001$ ) и коэффициента экономичности кровообращения ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ). Также установлена прямая корреляционная зависимость между показателями пройденного расстояния и индексом Робинсона ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ) и его разницей до ТШХ и после ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ), а также разницей между показателями коэффициента экономичности кровообращения ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ).

В отличие от них, у детей с РЗ (по группе в целом) между показателями пройденного расстояния и показателями функционирования ССС корреляционные взаимосвязи не установлены, но при этом между уровнем прироста ЧСС и показателем индекса Робинсона после ТШХ установлена прямая корреляционная зависимость ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ), а также прямая корреляционная связь между уровнем прироста ЧСС и показателями индекса Альговера ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,001$ ), показателями коэффициента выносливости ( $r = 0,5$ ;  $p < 0,001$ ) и индекса Робинсона ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,001$ ), а также показателями коэффициента экономичности кровообращения ( $r = 0,6$ ;  $p < 0,05$ ).

При этом у детей без коморбидных состояний прямая корреляционная зависимость установлена между приростом ЧСС после ТШХ и разницей индекса Альговера ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,05$ ), индекса Робинсона ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,001$ ) и коэффициента экономичности кровообращения ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,05$ ).

У детей с коморбидными состояниями отмечены несколько другие корреляционные взаимосвязи. Так, установлена прямая корреляционная зависимость между приростом ЧСС после ТШХ и разницей между показателями индекса Альговера ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,001$ ), коэффициентом выносливости ( $r = 0,6$ ;

**Таблица 1.** Показатели теста 6-минутной ходьбы у детей с ревматическими заболеваниями в сравнении с группой контроля ( $M \pm m$ )

Показатель, единицы измерения	Основная группа, n = 44		Группа контроля, n = 32	
	До теста	После теста	До теста	После теста
ЧСС, уд/мин	85,91 ± 1,61***	111,28 ± 2,03***	73,50 ± 2,14	99,44 ± 2,28
САД, мм рт. ст.	112,26 ± 2,29	116,67 ± 2,42	110,59 ± 2,61	114,5 ± 2,93
ДАД, мм рт. ст.	69,79 ± 1,74	69,49 ± 1,89*	66,19 ± 1,43	64,63 ± 1,45
% прироста ЧСС		29,65 ± 2,33*		37,46 ± 3,99
6MWD, м		492,12 ± 11,78*		519,03 ± 8,84

\*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*:  $p < 0,05$  при сравнении с аналогичными показателями группы контроля.

**Таблица 2.** Показатели функционирования сердечно-сосудистой системы у детей с ревматическими заболеваниями в сравнении с группой контроля ( $M \pm m$ )

Показатель	Основная группа, n = 44		Группа контроля, n = 32	
	До теста	После теста	До теста	После теста
Индекс Альговера	0,78 ± 0,02*	0,97 ± 0,03*	0,68 ± 0,02	0,88 ± 0,03
Коэффициент выносливости	2,16 ± 0,08***	2,46 ± 0,08*	1,78 ± 1,11	2,17 ± 0,12
Индекс Робинсона	96,20 ± 2,47***	130,02 ± 3,83***	81,40 ± 3,19	114,28 ± 4,64
Коэффициент экономичности кровообращения	3655,58 ± 136,66*	5259,56 ± 187,69	3286 ± 217,78	5016,88 ± 380,38
Индекс Кердо	+17,17 ± 2,76*		-7,19 ± 3,92	
Адаптационный потенциал	10,16 ± 0,30***		4,63 ± 0,14	

\*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*:  $p < 0,05$  при сравнении с аналогичными показателями группы контроля.

**Таблица 3.** Показатели теста 6-минутной ходьбы у детей с ревматическими заболеваниями с коморбидными состояниями и без них ( $M \pm m$ )

Показатель	Без коморбидных состояний, n = 18		С коморбидными состояниями, n = 26	
	До теста	После теста	До теста	После теста
ЧСС, уд/мин	81,33 ± 2,24	108,78 ± 3,72	89,31 ± 1,97*	114,42 ± 2,55
САД, мм рт.ст.	113,78 ± 4,03	119,28 ± 4,16	111,50 ± 2,63	115,39 ± 2,84
ДАД, мм рт.ст.	72,22 ± 3,26	71,83 ± 3,56	68,50 ± 1,82	68,27 ± 1,98
% прироста ЧСС		32,80 ± 3,62		28,49 ± 3,11
6MWD, м		487,39 ± 19,80		494,71 ± 14,17
Индекс Альговера	0,73 ± 0,04	0,81 ± 0,03*	0,93 ± 0,05	1,01 ± 0,03
Коэффициент выносливости	2,00 ± 0,09	2,34 ± 0,10	2,15 ± 0,09	2,52 ± 0,10
Индекс Робинсона	92,38 ± 3,97	99,39 ± 3,01	129,83 ± 6,51	132,54 ± 5,16
Коэффициент экономичности кровообращения	3372,22 ± 139,23	3852,69 ± 197,45	5178,44 ± 274,27	5398,04 ± 261,86
Индекс Кердо (ВИК)	-9,97 ± 4,57		+21,99 ± 3,04*	
Адаптационный потенциал	2,01 ± 0,09		9,82 ± 0,30***	

\*\*\*:  $p < 0,001$ ; \*:  $p < 0,05$  при сравнении пациентов без коморбидных состояний с аналогичными показателями пациентов с коморбидными состояниями.

$p < 0,05$ ) и показателями индекса Робинсона ( $r = 0,7$ ;  $p < 0,001$ ).

## Обсуждение

У пациентов с РЗ кардиоваскулярные заболевания – лидирующая причина смерти, при этом смертность от сердечно-сосудистых заболеваний на 50 % выше, чем среди населения в целом [15].

Известно, что ССС у этих пациентов вовлекается в патологический процесс вследствие системного воспаления, приводящего к сосудистому воспалению. Нарушение баланса между про- и противовоспалительными факторами приводит к формированию эндотелиальной дисфункции с последующим развитием сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. Однако долгосрочный риск сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с РЗ не ясен и четких указаний по его оценке нет [13,16].

Начальные этапы вовлечения ССС у пациентов с РЗ не сопровождаются клинически значимыми изменениями. Тем не менее, изменения реологических

свойств крови, ее компонентов, пристеночного тока, токсическое влияние проводимой терапии может быть причиной нарушения функциональной способности миокарда, вследствие чего развивается субклиническая сердечная недостаточность [16].

Как известно, одной из первых систем нейрогуморальной регуляции активируется симпатoadrenalовая система, вследствие чего отмечается тахикардия. Простой и широкодоступный метод исследования состояния вегетативной нервной системы – индекс Кердо, который при ее равновесии стремится к 0. При активации симпатического отдела ВНС этот показатель приобретает положительное значение и указывает на напряжение функционирования ССС с расходом энергетических резервов организма. В научной литературе описано применение индекса Кердо у пациентов с ортопедической патологией, с патологией ЖКТ [6,7]. У этих пациентов индекс имеет положительное значение, что свидетельствует об активации симпатического отдела ВНС.

Одно из ранних проявлений сердечной недостаточности на доклиническом этапе – снижение толе-

рантности организма к минимальным физическим нагрузкам и напряженность ССС с нарушением ее адаптационных возможностей.

В настоящее время для изучения толерантности организма к физическим нагрузкам широко используется тест шестиминутной ходьбы. Он нашел применение как у здоровых людей, так и у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями. У больных с кардиальной патологией в результате снижения функциональной способности миокарда отмечается уменьшение пройденного расстояния на фоне выраженной тахикардии [8, 11].

Для оценки функциональной напряженности ССС используют такие показатели, как индекс Альговера, коэффициент выносливости, индекс Робинсона, коэффициент экономичности кровообращения. Но в настоящее время чаще всего их используют для исследования ССС у взрослых с различными хроническими заболеваниями и у пациентов пожилого возраста с ортопедической патологией (остеоартроз). У них отмечено повышение значений этих индексов и коэффициентов, что указывает на напряженность ССС. У детей эти показатели описаны при патологии зрения и хронических заболеваниях ЖКТ [2, 7].

В проведенном исследовании у детей с РЗ по результатам ТШХ отмечен достоверно меньший процент прироста ЧСС и пройденное расстояние, что указывает на снижение толерантности у них к минимальной физической нагрузке.

Изменения показателей индекса Альговера, коэффициента выносливости, индекса Робинсона и коэффициента экономичности кровообращения как до проведения ТШХ, так и после него дают основания предположить, что у пациентов с РЗ отмечается напряженность в деятельности ССС и ослабление ее функциональных возможностей. Положительное значение индекса Кердо у детей с РЗ свидетельствует об активации симпатического отдела ВНС, усилении процессов катаболизма в организме на фоне напряженного функционирования ВНС, но при этом достоверно высокий показатель адаптационного потенциала указывает на срыв механизмов адаптации у этих пациентов.

Таким образом, у пациентов с РЗ отмечено снижение толерантности к минимальной физической нагрузке, что сопровождается напряжением функционирования ССС, активацией симпатического отдела ВНС и значительным расходом энергетических резервов организма. Особенно это выражено у детей с коморбидной патологией. Эти изменения необходимо учитывать при наблюдении пациентов с РЗ.

### Выводы

1. У детей с ревматическими заболеваниями отмечено снижение толерантности к минимальной физической нагрузке в тесте шестиминутной ходьбы, о чем свидетельствует процент прироста частоты сердечных сокращений и пройденное расстояние.

2. У пациентов с ревматическими заболеваниями установлена напряженность в деятельности сердечно-сосудистой системы и снижение ее функциональ-

ных возможностей, что подтверждается достоверным повышением индекса Робинсона, Альговера и коэффициента выносливости как до проведения теста шестиминутной ходьбы, так и после него.

3. У детей с ревматическими заболеваниями и наличием коморбидной патологии установлены более высокие значения адаптационного потенциала, индекса Альговера и вегетативного индекса Кердо, что свидетельствует о формировании нарушений в системе кровообращения на фоне срыва ее адаптационных возможностей.

**Перспективы дальнейших исследований.** Изучение адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы у детей с ревматическими заболеваниями с учетом морфофункциональных параметров сердца.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках научной работы ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков Национальной академии медицинских наук Украины», номер госрегистрации НАМН 88/16 0118U003186.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.11.2018

Після доопрацювання / Revised: 07.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 11.03.2019

### Сведения об авторах:

Шевченко Н. С., д-р мед. наук, зав. каф. педиатрии № 2, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина; ведущий научный сотрудник отдела кардиоревматологии, ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», г. Харьков.

ORCID ID: 0000-0003-4407-6050

Богмат Л. Ф., д-р мед. наук, зав. отделом кардиоревматологии, ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», г. Харьков; профессор каф. педиатрии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Головко Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. педиатрии № 2, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

ORCID ID: 0000-0003-3815-7874

Демьяненко М. В., врач-педиатр высшей категории, зав. клиническим отделением кардиоревматологии, ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», г. Харьков.

### Відомості про авторів:

Шевченко Н. С., д-р мед. наук, зав. каф. педіатрії №2, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна; провідний науковий співробітник відділу кардіоревматології, ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», м. Харків.

Богмат Л. Ф., д-р мед. наук, зав. відділу кардіоревматології, ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», м. Харків; професор каф. педіатрії, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Головко Т. О., канд. мед. наук, доцент каф. педіатрії №2, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Дем'яненко М. В., лікар-педіатр вищої категорії, зав. клінічного відділення кардіоревматології, ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», м. Харків.



**Information about authors:**

Shevchenko N. S., MD, PhD, DSc, Head of Pediatric Department № 2, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine; Leading Researcher of the Cardiorheumatology Department, State Institution "Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Bohmat L. F., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Cardiorheumatology Department, State Institution "Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"; Professor of the Department of Pediatrics, Kharkiv, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Holovko T. O., MD, PhD, Associate Professor of the Pediatric Department №2, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Demianenko M. V., MD, Pediatrician of the Highest Category, Head of the Clinical Department, Department of Cardiorheumatology, State Institution "Institute for Children and Adolescents Health Care of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

**Список литературы**

- [1] Богмат Л.Ф. Коморбідність при ревматичних захворюваннях у підлітків. Огляд літератури та власні спостереження / Л.Ф. Богмат, Н.С. Шевченко, М.В. Дем'яненко // Современная педиатрия. – 2015. – №2. – С. 56–60.
- [2] Павлова Т.В. Изучение реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку у школьников в возрасте 11–14 лет с патологией зрения / Т.В. Павлова, Н.Б. Пилькевич, В.В. Дычко // Медицинский вестник Юга России. – 2017. – Т. 8. – №1. – С. 70–74.
- [3] Androshchuk O.I. Correlation of vegetative tone indicator with Kerdo index and heart rate variability [Electronic resource] / O.I. Androshchuk, V.A. Zavhorodnia // Вісник Черкаського університету. – 2018. – №1. – Режим доступу: <https://doi.org/10.31651/2076-5835-2018-1-1-3-6>.
- [4] Comorbidity Profile among Patients with Rheumatoid Arthritis and the Impact on Prescriptions Trend / J. Al-Bishri, S.M. Attar, Nawal Bassuni, et al. // Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord. – 2013. – Vol. 6. – P. 11–18.
- [5] Comorbidity with Rheumatic Diseases in Children with Familial Mediterranean Fever [Electronic resource] / E. Fedorov, S. Salugina, N. Kuzmina, et al. // BMJ Publishing Group Limited. – 2015. – Vol. 74. – Suppl 2. – P. 1224.1–1224. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-eular.5031>.
- [6] Марценюк В.П. Інформативне значення індексу Кердо для визначення рівня порушень вегетативно регуляції при остеохондрозі шийного відділу хребта / В.П. Марценюк, Д.В. Вакулєнко, Л.О. Вакулєнко // Медична інформатика та інженерія. – 2013. – №1. – С. 42–47.
- [7] Miheeva T.N. To the question of vegetative background in children with chronic gastroduodenal pathology / T.N. Miheeva, N.A. Popelyuk, M.V. Popelyuk // Клінічна та експериментальна патологія. – 2017. – Vol. 16. – Issue 2. – P. 44–48.
- [8] Post-exercise heart-rate recovery correlates to resting heart-rate variability in healthy men / G.E. Molina, K.E. Fontana, L.G. Porto, L.G. Junqueira // Official Journal of the Clinical Autonomic Research Society. – 2016. – Vol. 26. – Issue 6. – P. 415–421.
- [9] Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA) [Electronic resource] / M. Dougados, M. Soubrier, A. Antunez, et al. // Ann Rheum Dis. – 2014. – Vol. 73. – Issue 1. – P. 62–8.
- [10] Синдром вегетативної дисфункції у дітей і підлітків / Л.С. Чутко, Т.Л. Корнишина, С.Ю. Сурушкіна і др. // Журнал неврології і психіатрії імені С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 118. – №1. – С. 43–49.
- [11] Chun-An C. Six-Minute Walking Test: Normal Reference Values for Taiwanese Children and Adolescents / C. Chun-An, C. Chin-Hao, L. Ming-Tai // Acta Cardiologica Sinica The official journal of Taiwan Society of Cardiology. – 2015. – №31. – Issue 3. – P. 193–201.
- [12] Watanabe F.T. Six-minute walk test in children and adolescents with renal diseases: tolerance, reproducibility and comparison with healthy subjects / F.T. Watanabe, V.H. Koch, R.C. Juliani // Clinics. – 2016. – Vol. 71. – Issue 1. – P. 22–27.
- [13] Smith E.M. Adding to complexity: comorbidity in paediatric rheumatic disease / E.M. Smith, H.E. Foster, M.W. Beresford // Rheumatology (Oxford). – 2013. – Vol. 52. – Issue 1. – P. 22–33.
- [14] Tsybaliuk Yu.V. Influence of Gymnastics on Physical Fitness and Adaptive Capabilities of Cardiovascular System of 7–8 Years Old Boys / Yu.V. Tsybaliuk, V.I. Miroshnichenko // Physical training and Sport. Medical and biological aspects of training athletes. – 2018. – Issue 3. – P. 231–236.
- [15] Sokka T. Comorbidities of rheumatic disease [Electronic resource] / T. Sokka, K. Puolakka, C. Turesson // Oxford Medicine Online. – 2018. – Режим доступу: [http://doi.org/10.1093/med/9780199642489.003.0032\\_update\\_001](http://doi.org/10.1093/med/9780199642489.003.0032_update_001).
- [16] Subclinical heart failure in juvenile idiopathic arthritis: a consequence of chronic inflammation and subclinical atherosclerosis / H.S. Ahmad, G. Othman, S.E. Farrag, et al. // Egyptian rheumatology and rehabilitation. – 2016. – Vol. 43. – Issue 2. – P. 78–83.

**References**

- [1] Bohmat, L. F., Shevchenko, N. S., & Demianenko, M. V. (2015). Komorbidnist pry revmatychnykh zakhvoriuvanniakh u pidlitkiv. Ohliad literatury ta vlasni sposterezhenia [Comorbidity in rheumatic diseases in adolescents. Review of literature and own observations]. *Sovremennaya pediatria*, 2(66), 56–61. [in Ukrainian]. doi: 10.15574/SP.2015.65.56
- [2] Pavlova, T. V., Pilkevich, N. B., & Dychko, V. V. (2017). Izuchenie reakcii serdechno-sosudistoj sistemy na fizicheskuyu nagruzku u shkol'nikov v vozraste 11–14 let s patologiej zreniya [Study of the reaction of cardiovascular system on physical activity in schoolpupils aged 11–14 years with vision pathology]. *Medicinskij vestnik Yuga Rossii*, 8(1), 70–74. [in Russian].
- [3] Androshchuk, O. I., Zavhorodnia, V. A. (2018). Correlation of vegetative tone indicator with Kerdo index and heart rate variability. *Visnyk Cherkaskoho universytetu*, 4. doi: 10.31651/2076-5835-2018-1-1-3-6
- [4] Al-Bishri, J., Attar, S. M., Bassuni, N., Al-Nofaiey, Y., Qutubdeen, H., Al-Harhi, S., & Subahi, S. (2013). Comorbidity Profile among Patients with Rheumatoid Arthritis and the Impact on Prescriptions Trend. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*, 6, 11–18. doi: 10.4137/CMAMD.S11481
- [5] Fedorov E., Salugina S., Kuzmina N., Rodionovskaya, S., & Nikishina, I. (2015). Comorbidity with Rheumatic Diseases in Children with Familial Mediterranean Fever. *BMJ Publishing Group Limited*, 74(Suppl 2), 1224.1–1224. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-eular.5031
- [6] Martsenyuk, V., Vakulenko, D., & Vakulenko, L. (2013). Informatyvne znachennia indeksu Kerdo dlia vyznachennia rivnia porushen vehetatyvno rehuliatii pry osteokhondrozi shynoho viddiluu khrebtu [Kerdo informative index to determine the level of autonomic regulation at osteochondrosis of the cervical Spine]. *Medychna informatyka ta inzheneriya*, 1, 42–47. doi: <https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2013.1.418>
- [7] Miheeva, T. N., Popelyuk, N. A., & Popelyuk, M. V. (2017). To the question of vegetative background in children with chronic gastroduodenal pathology. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia*, 16(2), 44–48. doi: 10.24061/1727-4338.XVI.2.60.2017.10
- [8] Molina, G. E., Fontana, K. E., Porto L. G., & Junqueira, L. F. (2016). Post-exercise heart-rate recovery correlates to resting heart-rate variability in healthy men. *Official Journal of the Clinical Autonomic Research Society*, 26(6), 415–421. doi: 10.1007/s10286-016-0378-2
- [9] Dougados, M., Soubrier, M., Antunez, A., Balint, P., Balsa, A., Buch, M. H., et al. (2014). Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann Rheum Dis*, 73(1), 62–8. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204223
- [10] Chutko, L. S., Kornishina, T. L., Surushkina, S. Yu., Yakovenko, E. A., Anisimova, T. I., & Volov, M. B. (2018). Sindrom vegetativnoy disfunkcii u detej i podrostkov [Syndrome of autonomic dysfunction in children and adolescents]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, 118(1), 43–49. [in Russian].
- [11] Chen, C. A., Chang, C. H., Lin, M. T., Hua, Y. C., Fang, W. Q., Wu, M. H., et al. (2015). Six-Minute Walking Test: Normal Reference Values for Taiwanese Children and Adolescents. *Acta Cardiologica Sinica The official journal of Taiwan Society of Cardiology*, 31(3), 193–201. doi: 10.6515/ACS20140721D
- [12] Watanabe, F., Koch, V., Juliani, R., & Cunha, M. (2016). Six-minute walk test in children and adolescents with renal diseases: tolerance, reproducibility and comparison with healthy subjects. *Clinics*, 71(1), 22–7. doi: 10.6061/clinics/2016(01)05
- [13] Smith, E. M., Foster H. E., & Beresford, M. W. (2013). Adding to complexity: comorbidity in paediatric rheumatic disease. *Rheumatology*, 52(1), 22–33. doi: 10.1093/rheumatology/kes256
- [14] Tsybaliuk, Yu. V., & Miroshnichenko V. I. (2018). Influence of Gymnastics on Physical Fitness and Adaptive Capabilities of Cardiovascular System of 7–8 Years Old Boys. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*, 3, 231–236.
- [15] Sokka, T., Puolakka, K., & Turesson, C. (2018). Comorbidities of rheumatic disease *Oxford Medicine Online*. Retrieved from [http://doi.org/10.1093/med/9780199642489.003.0032\\_update\\_001](http://doi.org/10.1093/med/9780199642489.003.0032_update_001)
- [16] Ahmad, H. S., Othman, G., Farrag, S. E., El-Hafez, A. A., Monir, A. A. (2016). Subclinical heart failure in juvenile idiopathic arthritis: a consequence of chronic inflammation and subclinical atherosclerosis. *Egyptian rheumatology and rehabilitation*, 43(2), 78–83.

## Особливості морфофункціонального стану привушних слинних залоз шестимісячних щурів при експериментально модельованій внутрішньоутробній макросомії

О. В. Гармаш<sup>\*1,A-D,F</sup>, Г. І. Губіна-Вакулік<sup>1,C,E</sup>, Давід Вондрашек<sup>2,B</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>Інститут фізіології, Академія Наук Чеської Республіки, м. Прага

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

### Ключові слова:

макросомія плода, експериментальні тварини, привушні слинні залози.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 106–115

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166469

\*E-mail: o.v.garmash@gmail.com

Стаття присвячена вивченню особливостей морфофункціонального стану тканини привушної слинної залози шестимісячних щурів, які народилися з експериментально модельованою макросомією в різних варіаціях. Відомо, що кількість та якість слини є важливими факторами стану здоров'я/патології зубів та ясен.

**Мета роботи** – на моделях макросомії плода в шестимісячних лабораторних тварин оцінити морфофункціональний стан привушних слинних залоз і порівняти його з таким у тримісячних щурів.

**Матеріали та методи.** Застосували 4 моделі макросомії з використанням гіперкалорійної їжі та гіпокінезії для вагітних самок щурів Wistar Albino Glaxo. Після народження щурів-нащадків зважили та поділили на групи за масо-ростовими параметрами. Сформували групу контролю та 4 основні групи тварин-макросомів: із великою довжиною тіла та відносно зниженою масою тіла; з гармонійним внутрішньоутробним розвитком; зі стандартною довжиною тіла та внутрішньоутробним ожирінням; зі стандартною довжиною тіла та внутрішньоутробним ожирінням, у формуванні якого одним із факторів була гіпокінезія вагітної самки. У віці 6 місяців щурів-нащадків вивели з експерименту. Оцінювали абсолютні та відносні значення маси слинних залоз.

Після парафінової заливки слинних залоз виконали гістологічний аналіз із виявленням ДНК і РНК (забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном); для виявлення глікопротеїдів поставили PAS-реакцію. Використовуючи комп'ютерні зображення, виконали вимірювання площі ядер сероцитів, оцінили вміст ДНК в ядрі, РНК у цитоплазмі. На зображеннях, що одержали за допомогою конфокальної лазерної сканувальної мікроскопії, обчислили площу поперечного перерізу та периметр ацинусу привушної слинної залози, а також площу поперечного перерізу сероцита. Поставили імуногістохімічну реакцію на Caspase 3.

**Результати.** У тварин, які народилися макросомами із гармонійним внутрішньоутробним розвитком та внутрішньоутробним ожирінням, у віці 6 місяців в привушних слинних залозах виявили ознаки апоптозу сероцитів, розширення і склерозу строми та макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату строми. Максимальні ці явища у тварин, формування макросомії яких відбувалося шляхом гіперкалорійної дієти та гіпокінетичних умов утримання вагітної самки. Також у тварин цих груп спостерігали збільшення ядер сероцитів, еухромність ядер, тобто підвищення морфофункціональної активності окремого сероцита. У макросомів, які народилися з ознаками дефіциту маси тіла, спостерігали «острівці» неактивних, запасних сероцитів, морфофункціональне навантаження функціонуючих сероцитів невисоке, а ознаки пошкодження, компенсаторні процеси відсутні.

Порівняння морфофункціонального стану слинної залози у три- і шестимісячних щурів показало, що вікове збільшення слинної залози було менш вираженим у тварин, які народилися макросомами із дефіцитом маси тіла та з надлишком маси тіла, порівняно з групою контролю. У макросомів, які народилися із ознаками дефіциту маси тіла, виявили ознаки функціонування, котре можна вважати економним, а у тварин, які народилися з внутрішньоутробним ожирінням, розвиваються ознаки атрофізації слинної залози з компенсаторною морфофункціональною активацією функціонуючих сероцитів.

**Висновки.** Соматометричні особливості макросомії при народженні «впливають» на морфофункціональні особливості слинної залози тварин-нащадків віком 6 місяців (зрілий вік).

### Ключевые слова:

макросомия плода, экспериментальные животные, околоушные слюнные железы.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 106–115

## Особенности морфофункционального состояния околоушных слюнных желез шестимесячных крыс при экспериментально моделированной внутриутробной макросомии

О. В. Гармаш, Г. И. Губина-Вакулік, Давид Вондрашек

Статья посвящена изучению особенностей морфофункционального состояния ткани околоушной слюнной железы шестимесячных крыс, родившихся с экспериментально моделированной в различных вариациях макросомией. Известно, что количество и качество слюны – важные факторы состояния здоровья / патологии зубов и десен.

**Цель работы** – на моделях макросомии плода у шестимесячных лабораторных животных оценить морфофункциональное состояние околоушных слюнных желез и сравнить его с таковым у трехмесячных животных.

**Материалы и методы.** Использовали 4 модели макросомии с применением гиперкалорийной пищи и гипокинезии беременных самок крыс Wistar Albino Glaxo. После рождения крыс-потомков взвесили и поделили на группы с учетом

вычисленных массо-ростовых параметров. Сформировали группу контроля и 4 основные группы животных-макросомов: с большой длиной тела и относительно пониженной массой тела; с гармоничным внутриутробным развитием; со стандартной длиной тела и внутриутробным ожирением; со стандартной длиной тела и внутриутробным ожирением, в формировании которого одним из факторов была гипокинезия беременной самки. В возрасте 6 месяцев крыс-потомков вывели из эксперимента. Оценивали абсолютные и относительные значения массы слюнных желез.

После парафиновой заливки слюнных желез проведен гистологический анализ с установлением ДНК и РНК (окраска галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону), для выявления гликопротеидов поставлена PAS-реакция. С использованием компьютерных изображений измерили площадь ядер сероцитов, оценили содержание ДНК в ядре, РНК в цитоплазме. На изображениях, полученных с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, вычислили площадь поперечного сечения и периметр ацинуса околоушной слюнной железы, а также площадь поперечного сечения сероцита. Поставили иммуногистохимическую реакцию на Caspase 3.

**Результаты.** У животных, родившихся макросомами с гармоничным внутриутробным развитием и внутриутробным ожирением, в возрасте 6 месяцев в околоушных слюнных железах обнаружены признаки апоптоза сероцитов, расширения и склероза стромы, а также макрофагально-лимфоцитарного инфильтрата стромы. Максимально эти явления представлены у животных, формирование макросомии которых происходило за счет гиперкалорийной диеты и гипокинезии беременной самки. Также у животных этих групп отмечено увеличение ядер сероцитов, зухромность ядер, то есть повышение морфофункциональной активности отдельного сероцита. У макросомов, которые родились с признаками дефицита массы тела, обнаружены «островки» неактивных запасных сероцитов, морфофункциональная нагрузка функционирующих сероцитов невысокая, а признаки повреждения и компенсаторные процессы отсутствуют.

Сравнение морфофункционального состояния слюнной железы у трех- и шестимесячных животных показало, что возрастное увеличение слюнной железы менее выражено у животных, родившихся макросомами с дефицитом массы тела и с избытком массы тела, по сравнению с группой контроля. У макросомов, которые родились с дефицитом массы тела, установлены признаки функционирования, которое можно считать экономным, а у животных, родившихся с внутриутробным ожирением, развиваются признаки атрофизации слюнной железы с компенсаторной морфофункциональной активацией функционирующих сероцитов.

**Выводы.** Соматометрические особенности макросомии при рождении «влияют» на морфофункциональные особенности околоушной слюнной железы животных-потомков в возрасте 6 месяцев (зрелый возраст).

## Features of the morphofunctional state of parotid salivary glands in six-month-old rats with experimentally induced fetal macrosomia

O. V. Garmash, H. I. Gubina-Vakulik, David Vondrášek

The paper aims at studying the features of the morphofunctional state of parotid gland tissue in six-month-old rats born with induced macrosomia in its different variations. It has been known that the amount and quality of saliva are important indicators of teeth and gums health condition.

**The aim of the study** is to examine experimentally the features of postnatal morphogenesis of parotid salivary glands in six-month-old rats with fetal macrosomia and compare the morphofunctional condition of parotid glands between two groups of 6-month-old and 3-month-old rats with induced macrosomia.

**Materials and methods.** Four macrosomia models have been used by applying a high-calorie diet and hypokinesia to pregnant Wistar rats. After birth, the descendant rats have been weighed and divided into groups taking into account their calculated weight-length parameters. Four main groups and a comparison group have been created. The main (macrosomic) groups consist of species with the following parameters: (1) long body length and relatively decreased body weight; (2) balanced intrauterine development; (3) standard body length and intrauterine obesity; (4) standard body weight and intrauterine obesity induced by hypokinesia of a pregnant female rat. At the age of 6 months, the rats have been sacrificed. The absolute and relative weights of parotid glands have been evaluated.

A histopathologic analysis revealing DNA and RNA (Gallocyanin-chrome alum technique) has been carried out after coating the parotid glands with paraffin; the PAS-reaction has been used to reveal glycoproteins. The serocytes nuclei cross section, the content of DNA in the cell nucleus, and the content of RNA in cytoplasm have been measured using computer images. Using the images obtained with confocal laser scanning microscopy, the gland acini cross section and the acini cross section perimeter of the parotid gland have been measured. The same technique has been used to measure the serocyte cross section. Caspase-3 immunohistochemical staining has been performed.

**Results.** The macrosomic animals born with balanced intrauterine development and intrauterine obesity have shown signs of serocyte apoptosis, stroma widening and sclerosis, and the macrophage-lymphocyte infiltration of parotid gland stroma at the age of six months. Such manifestations attain their maximum in the animals whose macrosomia is induced by the hyper-calorie diet and the hypokinetic conditions in the pregnant rat females. Also, the enlargement and euchromatization of serocytes nuclei is observed in the animals in these groups, which indicate an increase in the morphofunctional activity of an individual serocyte. In the macrosomic rats born with signs of body mass deficiency, the islets of inactive serocytes are observed, the morphofunctional load of serocytes is relatively low, and in addition, there are no signs of serocytes failure or active compensatory processes.

Comparison of the morphofunctional condition of the parotid gland at the age of 3 and 6 months has revealed that the age-specific enlargement of the parotid gland is less in the rats born with macrosomia and with both body mass deficiency and obesity, than that in the comparison group. The rats born with signs of body mass deficiency show an economic type of

### Key words:

fetal macrosomia, experimental animal models, parotid gland.

### Pathologia

2019; 16 (1), 106–115

gland functioning, whereas the animals born with intrauterine obesity show signs of parotid gland atrophy with compensatory morphofunctional activation of functioning serocytes.

**Conclusion.** The somatometric features of fetal macrosomia affect the morphofunctional features of the parotid gland of descendant animals at the age of 6 months (mature age).

Вітчизняні та іноземні вчені протягом останніх 50 років вивчають низку безпосередніх і віддалених наслідків народження з великою масою тіла [1–3]. Останнім часом з'явилася чимала кількість публікацій, що присвячені патологічному стану органів ротової порожнини осіб, які народилися макросомами [4–6]. Є тісний зв'язок між станом слинних залоз і формуванням стоматологічних порушень.

Ця робота є продовженням попереднього дослідження з вивчення особливостей гістологічної будови слинних залоз у тварин, чия маса при народженні була понад 90 центиль графіка фізичного розвитку, тобто які народилися з макросомією. Раніше встановлено: в щурів лінії Wistar, які народилися макросомами, у тримісячному віці відбувається зміна морфофункціонального стану паренхіми привушних слинних залоз [7]. У цій статті зробили спробу дослідити стан слинних залоз в експериментальних тварин старшого віку (6 місяців) із макросомією при народженні та порівняти його зі станом привушних слинних залоз у 3-місячних тварин, що описаний раніше [7].

Співвідношення людського віку з віком експериментальних тварин має низку особливостей і трактується різними авторами по-різному залежно від факторів, які вивчають [8,9]. Безумовно, відмінності в анатомії, фізіології та швидкості дорослішання не дають змогу точно екстраполювати вік експериментальних тварин на людський [10]. Але експериментальні моделі дуже важливі для з'ясування особливостей морфогенезу різних органів і тканин, розроблення моделей профілактики патологічних змін і перевірки життєздатності нових схем лікування низки захворювань. У попередній роботі [7] розглянули морфофункціональні особливості слинних залоз тримісячних тварин; вважали, що такий вік щурів приблизно відповідає людському віку 7,0–7,5 року, але, можливо, та старше, оскільки 3-місячні щури вже статевозрілі. У цій роботі також орієнтувалися на запропонований авторами алгоритм перерахунку днів життя щурів у роки людського життя. Прийшли до висновку: 6-мі-

сячний вік щурів приблизно відповідає 15–17 рокам людського життя, тобто пубертатному періоду [11,12].

## Мета роботи

На моделях макросомії плода в шестимісячних лабораторних тварин оцінити морфофункціональний стан привушних слинних залоз і порівняти його з таким у тримісячних щурів.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на лінійних щурах Wistar Albino Glaxo. Для моделювання макросомії плода використали 4 різні моделі, що детально викладені в роботі [7].

Макросомію в новонароджених щурів діагностували, спираючись на стандартний клінічний критерій – маса тіла понад 90-центильний рівень. Після аналізу великої кількості архівних даних про новонароджених щурів ( $n = 500$ ) та обчислення їхніх масо-ростових параметрів при народженні (50-центильний рівень) становить  $5,28 \times 10^{-3}$  кг. Тому щурят, що народилися з масою тіла  $m$ , яка була більшою чи дорівнювала  $6,3 \times 10^{-3}$  кг, вважали макросомами.

Тварини при народженні мали різну довжину тіла  $l$  та індекс маси тіла  $m/l^2$ . Безпосередньо після народження щурів зважили та поділили на групи відповідно до масо-ростових параметрів. Повторне соматометричне обстеження виконали під час виведення тварин з експерименту. Результати соматометричного обстеження в кожній із груп наведені в таблиці 1.

Група контролю – новонароджені тварини ( $n = 6$ ) із середніми масо-ростовими параметрами (маса тіла – в межах одного стандартного відхилення від медіанної маси тіла), вагітність матерів яких перебігала у звичайних умовах і на стандартному харчовому раціоні.

Група 1 – новонароджені щури-макросоми ( $n = 5$ ) із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів і найменшим серед усіх тварин індексом маси тіла. У

**Таблиця 1.** Медіанні значення  $Me$  ( $Q3;Q1$ ) маси та довжини тіла, а також масо-ростового показника експериментальних тварин у різних групах при народженні та під час виведення з експерименту

Група дослідження	Маса тіла $m$ (кг $\times 10^{-3}$ )	Довжина тіла $l$ (м $\times 10^{-2}$ )	Значення масо-ростового показника $m/l^2$	Маса тіла $m$ (кг $\times 10^{-3}$ )	Довжина тіла $l$ (м $\times 10^{-2}$ )	Значення масо-ростового показника $m/l^2$
	При народженні			Під час виведення з експерименту (180–182 доба)		
Контроль	5,6 (5,8; 5,5)	5,00 (5,0; 4,9)	0,226 (0,233; 0,216)	165 (200; 150)	17,3 (19,0; 16,5)	0,562 (0,588; 0,551)
Група 1	6,9* (7,5; 6,8) $p = 0,004$	6,15* (6,2; 6,0) $p = 0,004$	0,186* (0,195; 0,180) $p = 0,007$	215 (240; 200)	19,0 (19; 18)	0,617 (0,665; 0,579)
Група 2	7,1* (7,4; 6,6) $p = 0,004$	5,65* (6,0; 5,3) $p = 0,012$	0,225 (0,238; 0,208)	189 (250; 158)	17,3 (19,5; 16,5)	0,618 (0,657; 0,580)
Група 3	6,5* (7,0; 6,3) $p = 0,004$	5,05 (5,2; 4,9)	0,263* (0,280; 0,46) $p = 0,010$	193 (220; 160)	18,0 (19,0; 17,0)	0,590 (0,614; 0,554)
Група 4	6,8* (6,9; 6,6) $p = 0,006$	5,10 (5,1; 5,0)	0,265* (0,272; 0,264) $p = 0,006$	158 (165; 150)	17,5 (17,5; 17,0)	0,539 (0,547; 0,502)

\*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки  $p < 0,05$ .

цю групу переважно відбирали потомство тварин, які перед спарюванням і під час вагітності перебували на стандартному раціоні віварію, але народилися з великою довжиною тіла та відносно зниженою масою тіла.

Група 2 – новонароджені щури-макросоми ( $n = 6$ ) із гармонійним внутрішньоутробним розвитком – з індексом маси тіла, що аналогічний контролю. У цю групу переважно увійшло потомство тварин у зрілому віці (8–9 місяців), які перед спарюванням і під час вагітності перебували на висококалорійній дієті.

Група 3 – щури-макросоми ( $n = 6$ ) зі стандартною довжиною тіла та великими значеннями маси тіла й індексу маси тіла. У цій групі переважало потомство молодих тварин віком 3–5 місяців, які перед спарюванням і під час вагітності перебували на висококалорійній дієті.

Група 4 – щури-макросоми ( $n = 6$ ) із середніми значеннями довжини тіла при народженні та внутрішньоутробним ожирінням (як і у тварин групи 2). Але вагітність матерів цих тварин перебігала в гіпокінетичних умовах, тому вирішили виділити їх в окрему групу.

Для формування всіх груп відібрали новонароджених щурів із різних послідів. Усі групи репрезентативні за наявністю щурят чоловічої та жіночої статі.

Потомство щурів виводили з експерименту на 180–182 добу після народження (6 місяців). Зміст і маніпуляції з експериментальними тваринами відповідали національним «Спільним етичним принципам досліджень на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію з наступною декапітацією.

Для морфологічного аналізу використовували тканини привушних слинних залоз. Взятий матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні й заливали парафіном за загальноприйнятою методикою. Для вивчення світлооптичним методом зрізи завтовшки 5–6 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозинном (Н&Е), галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсонном на сумарні нуклеїнові кислоти [13,14]; поставили PAS-реакцію на глікопротеїди [15]. Для виявлення інтенсивності апоптозу у гландулоцитах поставили імуногістохімічну реакцію з Caspase 3 із дозбарвленням гематоксиліном Майєра (ThermoScientific, США) [16]. Для ідентифікації реакції використовували систему візуалізації Quanto (ThermoScientific, США) з нанесенням як хромогена 3-діамінобензидин тетрахлориду.

Мікропрепарати вивчали на мікроскопі Axiostar-plus (Zeiss AG, ФРН), використовуючи фотокамеру. Морфометрію здійснювали на цифрових зображеннях за допомогою комп'ютерного забезпечення «БіоТест» (РФ). Визначали площу ядер гландулоцитів, оцінювали вміст ДНК у ядрі, РНК у цитоплазмі (забарвлення за Ейнарсонном), глікопротеїдів у слині, яка виявлена у протоках і просвітах ацинусів (PAS-реакція).

Усі результати конфокальної лазерної сканувальної мікроскопії одержали за допомогою лазерного сканувального конфокального мікроскопа Leica SP8 AOBS на інвертованому стенді мікроскопа Leica DMi8 у лабораторії «Біоматематика» Інституту фізіології

Чеської академії наук (м. Прага, Чеська Республіка). У режимі однофотонного збудження використовували аргонний лазер (488 нм). Налаштування та перевірку потужності лазера виконували при 100 % інтенсивності зображення. Потужність лазера у фокусній площині зразка з ACS APON 40x1.15 Oil and Water CS об'єктивом становила 1,14 мВт для 100 % потужності лазера та 0,27 мВт для потужності лазера 9,52 %. Для уникнення фотоочищення зразка під час збирання даних потужність лазера Leica встановлена на 9,52 %. Для уникнення надмірного насичення зображення для всіх зразків значення інтенсивності встановлено на 2,5 %.

Для отримання оптимального сигналу від тканин, що забарвлені Н&Е, використали довжину хвилі однофотонного збудження 488 нм і діапазон детектування від 500 нм до 600 нм [17].

Для вимірювання точного розміру поперечного перерізу ацинусів привушних слинних залоз у досліджуваних тварин використовували зрізи завтовшки 15–80 мкм, забарвлені Н&Е, які дослідили за допомогою конфокальної мікроскопії. Отримали тривимірні зображення, у кожному зі зразків виміряли такі параметри: площа поперечного перерізу ацинуса слинної залози в найширшій його частині, площа просвіту ацинуса, площа поперечного перерізу кожного гландулоцита в ацинусі, периметр кожного ацинуса в найширшій його частині. Вимірювання зроблені за допомогою відкритого програмного пакета Fiji з використанням плагіна Measure [18].

Середні значення параметрів оцінювали, застосовуючи програму MS Excel 2016. Гіпотези про відмінність середніх значень параметрів у малих групах перевіряли методами непараметричної статистики (за критерієм Манна–Уїтні), використовуючи пакет Statistica 6.0.

## Результати

Медіани відношення маси слинних залоз до маси тіла тварин в основних групах були невірогідно менші порівняно з контрольними щурами (табл. 2). Цікавими є порівняння цього параметра з даними для тримісячних тварин, що одержані в попередній роботі [7]. У тварин контрольної групи з віком (від 3 до 6 місяців) відбувається збільшення відносної маси слинних залоз приблизно у 2,5 раза. У тварин, які народилися макросомами, також відбувається збільшення цього показника, але набагато меншою мірою – в середньому на 38 %. Виявилось, що з віком відносна маса слинних залоз тварин-макросомів при народженні стає меншою, ніж у тварин групи контролю, а у тримісячних тварин-макросомів при народженні цей показник був більший, ніж у тварин групи контролю.

У щурів контрольної групи паренхіма добре збережена, інтерстицій тонкий, без лейкоцитарних інфільтратів. Однак перидуктально виявили незначний склероз. При забарвленні галоціанін-хромовими галунами (за Ейнарсонном) спостерігали велику кількість інтенсивно забарвлених ядер, що є свідченням домінування спіралізованого неактивного хроматину. Частина сероцитів має еухромне ядро, в якому добре проглядається ядерце. В таблицях 2 і 3 наведені ре-

**Таблиця 2.** Медіанні значення Ме (Q3;Q1) маси привушних слинних залоз, відношення маси слинних залоз до маси тіла, а також кількості glanduloцитів на площі зрізу 750 мкм<sup>2</sup> у шестимісячних експериментальних тварин

Група дослідження	Медіанні значення маси слинних залоз (кг ×10 <sup>-5</sup> )	Медіанні значення відношення маси слинних залоз до маси тіла (%)	Медіанна кількість сероцитів на площі зрізу 750 мкм <sup>2</sup> (екземпляри)
Контроль <sub>180</sub>	5,30 (6,0; 4,9)	0,034 (0,036; 0,033)	115 (130; 111)
Група 1 <sub>180</sub>	6,45 (7,7; 4,6)	0,029 (0,032; 0,022)	104* (105; 102) p = 0,015
Група 2 <sub>180</sub>	5,45 (7,9; 4,7)	0,032 (0,033; 0,030)	142* (156;133) p = 0,042
Група 3 <sub>180</sub>	4,75 (6,1; 4,1)	0,025 (0,028; 0,024)	137 (150; 122)
Група 4 <sub>180</sub>	4,30 (4,7; 4,1)	0,028 (0,029; 0,026)	138* (170; 134) p = 0,025

\*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки p < 0,05.

**Таблиця 3.** Медіанні значення Ме (Q3;Q1) розмірів ядер, оптичної густини цитоплазми, ядер сероцитів і рідини у просвітах привушних слинних залоз 6-місячних експериментальних тварин

Група дослідження	Медіанні значення площі ядер сероцитів, мкм <sup>2</sup>	Оптична густина ядер сероцитів (забарвлення за Ейнарсоном, ум. од. опт. густини)	Оптична густина цитоплазми сероцитів (забарвлення за Ейнарсоном, ум. од. опт. густини)
Контроль <sub>180</sub>	22,2 (32,1; 21,4)	0,388 (0,395; 0,294)	0,113 (0,114; 0,112)
Група 1 <sub>180</sub>	20,7 (24,6; 18,4)	0,745* (0,815; 0,674) p = 0,032	0,077* (0,089; 0,073) p = 0,047
Група 2 <sub>180</sub>	26,5 (32,0; 23,5)	0,326 (0,364; 0,303)	0,125 (0,148; 0,123)
Група 3 <sub>180</sub>	23,5 (27,5; 22,1)	0,401 (0,454; 0,362)	0,218* (0,242; 0,143) p = 0,047
Група 4 <sub>180</sub>	30,2* (33,1; 26,6) p = 0,047	0,574 (0,756; 0,545)	0,349* (0,362; 0,338) p = 0,009

\*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки p < 0,05.

зультати морфометрії: медіанна кількість сероцитів на площі зрізу 750 мкм<sup>2</sup>, медіанне значення площі ядер, оптична густина ядер та оптична густина цитоплазми при забарвленні за Ейнарсоном.

Порівнюючи морфометричні дані шестимісячних контрольних тварин із такими в три місяці [7], виявили: середня кількість glanduloцитів на фіксованій площі зрізу зменшилась на 23 %, площа ядер glanduloцитів збільшилась на 60 %. Оптична густина ядер glanduloцитів зменшилась на 30 %, а оптична густина цитоплазми зменшилась на 59 %. Отже, в онтогенезі від 3 до 6 місяців ядра сероцитів стали більшими та еухромнішими, що свідчить про підвищення морфофункціональної активності. Зменшення вмісту РНК у цитоплазмі можна пояснити накопиченням у ній білків слини. Таке пояснення підтверджується вивченням мікропрепаратів із проведенням PAS-реакції – в багатьох glanduloцитах цитоплазма фуксинофільна.

У тварин групи 1 порівняно з групою контролю абсолютна медіанна маса слинних залоз невірогідно збільшена, а відносна маса зменшена (табл. 2). Мікроскопічно інтерстицій тонкий, не склерозований, кінцеві відділи ацинусів широкі. Привертає увагу, що тільки у тварин цієї основної групи немає фокусів загибелі ацинусів, але місцями візуалізуються ділянки з так званими «спокійними» сероцитами, які ще не функціонують і не утворюють ацинус. Середня кількість сероцитів на фіксованій площі зрізу вірогідно знижена порівняно з групою контролю (табл. 2). Ядра здебільшого дрібніші, ніж у контролі, а оптична густина ядер при пофарбуванні за Ейнарсоном вірогідно збільшена. Визначили також вірогідне зменшення оптичної густини цитоплазми (табл. 3). Отже, залози морфофункціонально високоактивні, але навантаження на окремі сероцити відносно невелике.

Порівнюючи стан залоз у тварин цієї групи (макросоми з дефіцитом маси тіла при народженні) в шести- і тримісячному віці [7] можна відзначити зменшення на 9 % кількості сероцитів на фіксованій площі зрізу, що пов'язано зі збільшенням кінцевих відділів ацинусів. При розвитку тварин від 3 до 6 місяців також спостерігали незначне (на 17 %) зменшення площі ядер glanduloцитів і на 29 % збільшення оптичної густини ядер, а оптична густина цитоплазми знижується на 78 %. Можна припустити, що в віковій динаміці в макросомів цієї групи відбувається збільшення залоз, однак їхня морфофункціональна активність стимульована менше, ніж у контрольній групі. Крім того, як уже відзначено, виявили недиференційовані сероцити, неорганізовані в ацинуси, тобто такі, що перебувають у «запасі».

У групі 2 макросоми представлені тваринами, які народилися гармонійно розвиненими – з високими значеннями маси та довжини тіла. У віці 6 місяців і абсолютна, і відносна маса привушних слинних залоз вірогідно не відрізнялася від групи контролю (табл. 2). Мікроскопічно визначили розширення інтерстицію, наявність слабо вираженого макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату, місцями спостерігали істотну домішку поліморфонуклеарів. Сероцити мають ядра різного розміру, є дуже великі (поліплоїдні), їхня кількість на фіксованій площі зрізу вірогідно більше, ніж у контролі. Площа ядер невірогідно збільшена (табл. 2). Оптична густина ядер знижена внаслідок збільшення кількості еухромних ядер, а оптична густина цитоплазми сероцитів при забарвленні за Ейнарсоном на рівні групи контролю (табл. 3). Тобто можна припустити, що морфофункціональний стан привушних слинних залоз у щурів цієї групи на тому ж рівні, що і в контрольних тварин. Хоча у тримісячному віці [7] були наявні ознаки

пошкодження слинних залоз, компенсаторної гіперплазії та гіпертрофії.

Порівнюючи стан привушних слинних залоз у шестимісячних тварин цієї основної групи з тримісячними тваринами аналогічної групи [7], виявили: у тварин віком 6 місяців відбувається зменшення на 28 % кількості сероцитів на фіксованій площі зрізу; площа ядер гландулоцитів суттєво (на 63 %) збільшилась, як і під час порівняння цих вікових категорій контрольних тварин. Оптична густина ядер при забарвленні за Ейнарсоном зменшилась на 42 %; оптична густина цитоплазми також зменшилась на 63 % – до рівня контролю. Отже, у віковій динаміці в макросомів групи 2 спостерігали втрату частини паренхіматозних елементів і підвищення морфофункціональної активності окремого сероцита.

У шестимісячних тварин групи 3, які народилися макросомами з ожирінням, абсолютна й відносна маси слинних залоз виявились зменшеними відносно контрольних тварин (табл. 2).

Під час мікроскопії виявили розвиток інтерстиціального склерозу – вираженого перидуктального склерозу (рис. 1).

Розширення строми спостерігали не тільки внаслідок склерозу, але й через виражений набряк і наявність марофагально-лімфоцитарної інфільтрації. Виявили дрібні ділянки руйнування паренхіми. Сероцити, які спостерігали навколо фокусів руйнування, мають феномен маргінації хроматину ядер. Ядра сероцитів різного розміру, деякі ядра дуже великі, гіперхромні, вочевидь, поліплоїдні (рис. 2).

Візуалізується чимала кількість сероцитів із двома ядрами. Під час морфометрії визначили, що у тварин групи 3 середня кількість сероцитів на фіксованій площі зрізу невірогідно збільшена порівняно з контролем (табл. 2). Середня площа ядер сероцитів, як і оптична густина ядер сероцитів, на рівні контролю, а оптична густина цитоплазми вірогідно збільшена щодо контролю (табл. 3). Тобто порівняно з контролем наявні ознаки склерозу, що розвивається, а також атрофізації залози з компенсаторною, більш інтенсивною продукцією білків одним сероцитом.

Аналізуючи зміни привушних слинних залоз цієї основної групи у віковому аспекті [7], виявили: кількість сероцитів на фіксованій площі зрізу в щурів цієї групи з віком зменшилась на 30 %; площа ядра сероцита збільшилась на 15 %. Оптична густина ядер і цитоплазми дещо знизилась (на 12 і 30 % відповідно), що пояснюється накопиченням у цитоплазмі великої кількості глікопротеїдів і протеїдів (PAS-реакція).

Макросоми групи 4, в яку включили тварин із великою масою тіла та високим індексом маси тіла при народженні (тобто з соматометричною картиною, що схожа на макросомів групи 3, але при моделюванні макросомії яких додатково до гіперкалорійної дієти використали фактор гіпокінезії), у віці 6 місяців мали таку саму абсолютну і відносну масу привушних слинних залоз, як і тварини групи 3, тобто знижену щодо контролю (табл. 2). Мікроскопічно місцями візуалізується ще більше розширення строми, перидуктальний склероз, наявність макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату зі збільшеною кількістю

активних фібробластів і еозинофілів. Здебільшого сероцити невисокі, ядра різного розміру, багато дуже великих ядер. Місцями спостерігали дрібні ділянки з ознаками загибелі сероцитів. Під час морфометрії виявили вірогідне суттєве збільшення кількості сероцитів на фіксованій площі зрізу порівняно з групою контролю (табл. 2). Середня площа ядер сероцитів також виявилася збільшеною щодо контролю, але вірогідність не виявили – як уже зазначено, розмір ядер дуже різниться. Оптична густина ядер і цитоплазми при забарвленні за Ейнарсоном також збільшена щодо контролю (табл. 3). Вочевидь процес атрофізації та склеротизації в цій групі посилюється порівняно з групою 3. Виявили фокуси загибелі сероцитів, а ті гландулоцити, що залишилися, функціонують із більшим навантаженням.

Порівнюючи морфофункціональний стан шестимісячних тварин цієї основної групи із тримісячними [7], встановили: кількість гландулоцитів на фіксованій площі зрізу збільшилась на 16 %; площа ядер гландулоцитів – на 25 %; густина ядер і цитоплазми при забарвленні за Ейнарсоном збільшилась на 52 % та 18 % відповідно. Тобто слинна залоза щурів цієї основної групи протягом онтогенезу ще більш інтенсивно «втрачає» паренхіму, а функціонуючі сероцити зазнають поліплоїдизації з підвищенням морфофункціонального навантаження.

Крім гістологічного та морфометричного вивчення слинних залоз поставили імуногістохімічну реакцію, використовуючи антитіла до Caspase 3, яка є маркером апоптозу. Якщо у тварин контрольної групи мічені гландулоцити є одиничними, їх спостерігають не в кожному полі зору, то при збільшенні ступеня ожиріння в макросомів, особливо при гіпокінетичному способі життя вагітних самоць (рис. 3), мічені клітини трапляються у великій кількості ацинусів.

Отже, припущення про більш інтенсивний морфофункціональний стан гландулоцитів у макросомів з ожирінням має об'єктивне підтвердження. Порівнюючи інтенсивність імуногістохімічної реакції на Caspase 3 загалом у всіх групах, можна отримати таке співвідношення:  $K < \text{гр. 1} < \text{гр. 2} < \text{гр. 3} < \text{гр. 4}$ .

Матеріал експерименту також дослідили з використанням конфокальної лазерної сканувальної мікроскопії. Серії оптичних зрізів (рис. 4), що одержали за допомогою цього методу, дали змогу визначити в кожному ацинусі площу поперечного перерізу в найширшій його частині, а також інші параметри (табл. 4).

Досліджуючи препарати привушних слинних залоз шестимісячних тварин за допомогою конфокальної мікроскопії (табл. 4), доповнили дані, що отримали за допомогою звичайної світлової мікроскопії. В усіх тварин, які народилися макросомами, поперечний переріз ацинуса, його периметр, кількість сероцитів в ацинусі та площа окремого сероцита виявились більшими, ніж у контролі. Особливо цікавою є ситуація з тваринами групи 1. У них показники поперечного перерізу ацинуса, периметра ацинуса та площі окремого сероцита мають максимальні значення. У макросомів, які народилися з ожирінням, особливо на тлі гіпокінезії матері, спостерігали збільшену кількість сероцитів у

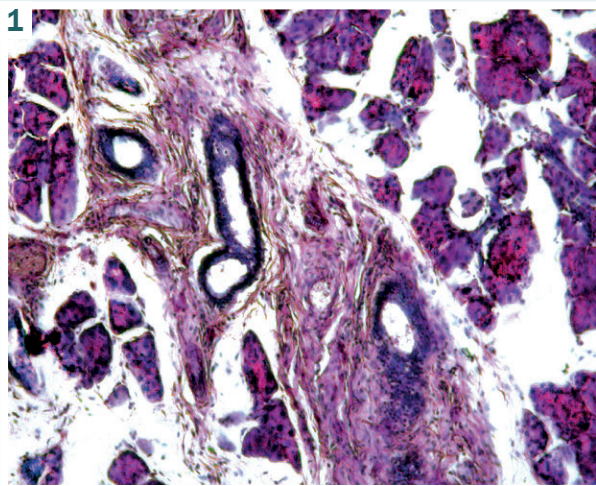


Рис. 1. Ділянка слинної залози 180-денного щура основної групи 3. Виражений перидуктальний склероз. Забарвлення Н&Е. Збільшення  $\times 100$ .

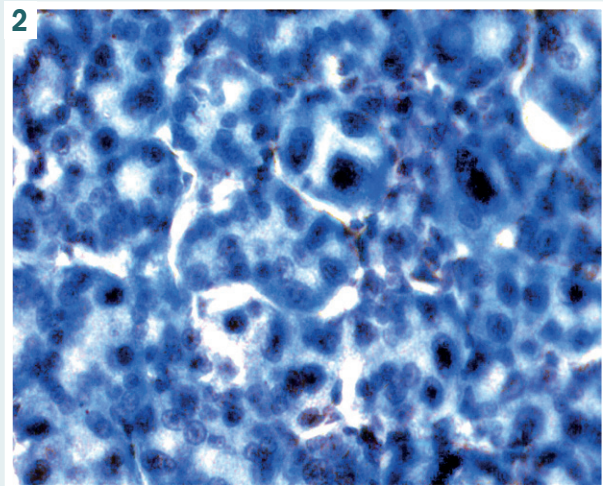


Рис. 2. Ділянка слинної залози 180-денного щура основної групи 3. Велика кількість сероцитів із дуже великими (поліплоїдними) ядрами  $\nabla$ , а також з еухромними ядрами  $\Delta$ . Забарвлення за Ейнарсоном. Збільшення  $\times 400$ .

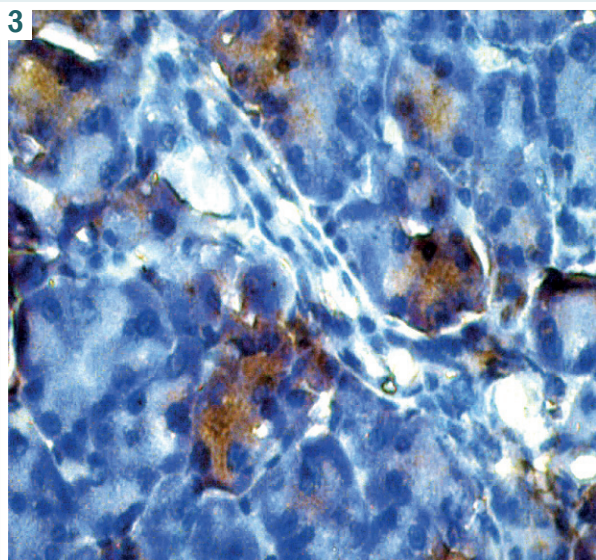


Рис. 3. Ділянка слинної залози 180-денного щура основної групи 4. Імуногістохімічна реакція з Caspase 3, дозабарвлення гематоксилином Майєра. Збільшення  $\times 400$ . Візуалізуються кінцеві відділи, в яких усі гландулоцити мічені антитілами до Caspase 3.

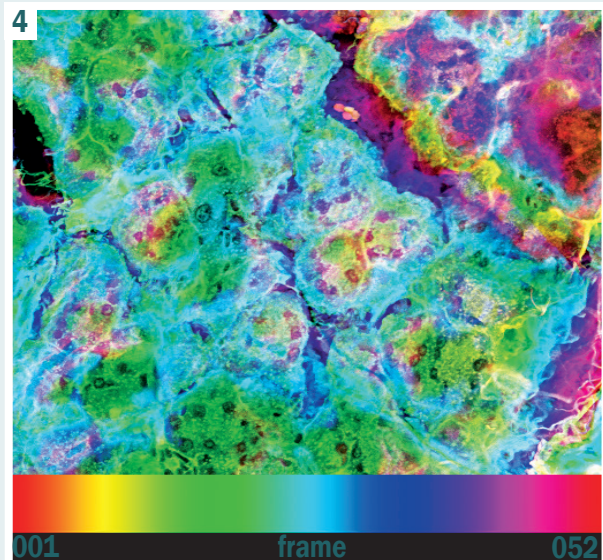


Рис. 4. Ділянка привушної слинної залози 180-денного щура основної групи 3, кольорове кодування глибини (максимальна проекція стеку конфокальних мікрофотографій) (52 оптичні зрізи, фізичний розмір видимої площі  $277,24 \times 277,24 \times 36\text{mm}$ ) Н & Е. Об'єктив ACS APO 40 $\times$  NA1.15 Oil and Water CS $^\infty$ .

Таблиця 4. Медіанні значення  $Me$  ( $Q3;Q1$ ) морфометричних параметрів привушних слинних залоз 6-місячних експериментальних тварин

Група дослідження	Медіанна площа поперечного перерізу ацинуса привушної слинної залози, $\mu\text{m}^2$	Медіанний периметр ацинуса привушної слинної залози, $\mu\text{m}$	Медіанна площа поперечного перерізу сіроцита привушної слинної залози, $\mu\text{m}^2$	Медіанна кількість сіроцитів у поперечному перерізі ацинуса
Контроль <sub>180</sub>	631,9 (796,5; 485,0)	96,2 (107,7; 84,0)	106,5 (133,2; 67,4)	6,2 (7,1; 5,8)
Група 1 <sub>180</sub>	1122,8* (1136,6; 819,8) $p = 0,006$	133,9* (134,9; 116,9) $p = 0,006$	160,4* (162,4; 123,1) $p = 0,045$	7,0 (7,0; 6,8)
Група 2 <sub>180</sub>	889,2* (933,8; 876,6) $p = 0,011$	113,5* (117,2; 113,4) $p = 0,006$	118,2 (138,9; 115,7)	7,0 (7,7; 6,4)
Група 3 <sub>180</sub>	881,4* (892,4; 732,2) $p = 0,045$	113,1 (113,4; 102,9)	117,9 (124,1; 96,7)	7,3* (7,9; 7,1) $p = 0,035$
Група 4 <sub>180</sub>	814,3* (914,6; 772,0) $p = 0,032$	109,2* (116,1; 106,3) $p = 0,032$	110,0 (114,7; 105,5)	7,3* (8,8; 7,0) $p = 0,020$

\*: відмінність від групи контролю вірогідна з імовірністю похибки  $p \leq 0,05$ .



поперечному перерізі ацинуса, хоча розміри сероцитів не відрізняються від контролю.

Морфометрія на зображеннях, що отримані за допомогою конфокальної мікроскопії, відповідає даним, котрі одержали за допомогою світлової мікроскопії, точніше доповнює їх: у щурів групи 1 збільшена площа цитоплазми сероцитів. Тобто, аналізуючи отримані раніше дані, з'ясували, що в сероцитах утворюються запаси секрету в більшій кількості, ніж у контролі. У щурів групи 2 відбувається такий самий процес, але він є менш вираженим. У щурів групи 3 запаси секрету зменшені, а у щурів групи 4 зафіксували максимальне зменшення.

Отже, збільшення відносної маси привушної слинної залози у макросомів, які народилися пропорційно розвиненими, в онтогенезі від 3 до 6 місяців виявилось аналогічним контролю. У макросомів із дефіцитом або з надлишком маси тіла, як-от ожирінням при народженні, відносна маса залози за цей період збільшилась меншою мірою.

Привертає увагу, що в макросомів із дефіцитом маси тіла при народженні з віком кількість сероцитів зменшується мінімально, менше, ніж у контролі, але ацинуси великі. Результати каріометрії та цитофотографії свідчать, що морфологічна активність окремого сероцита з віком знижується, запаси секрету збільшуються.

У макросомів із надлишком маси тіла при народженні, особливо у тварин, моделювання макросомії яких передбачало гіпокінезію вагітної самиці, з віком спостерігали ознаки збільшення морфологічної активності залози, але це збільшення лімітоване. Тому в них зафіксований більш виражений апоптоз, запаси секрету в сероцитах зменшуються.

## Обговорення

Результати дослідження є новими, оскільки у відомій авторам науковій літературі інформація про подібні дослідження відсутня. Однак є багато досліджень впливу кількості та якості слини на формування стоматологічних порушень. Є відомості про вплив швидкості виділення, кислотності та буферної ємності слини на формування каріозних уражень [19]. Також відомо, що нестача у змішаній слині імуноглобулінів (А, М, G) може суттєво зменшити місцеві захисні сили організму та провокувати розвиток каріозного процесу [20,21]. Мікроелементний склад слини також має значення у формуванні карієсогенної ситуації ротової порожнини [22]. Отже, слинні залози, які нормально функціонують, підтримують якісний стан твердих тканин зубів. Непрямо ризиковий стан слинних залоз у людей, які народилися макросомами, підтверджують дані про високу інтенсивність карієсу в дітей і підлітків, чия маса тіла при народженні була понад 90-центильний рівень [4–6].

Порушення морфогенезу слинних залоз за умови народження з макросомією, що реалізується в руйнуванні механізмів захисту порожнини рота, пояснює підвищену схильність осіб, які народжені макросомами, до запальних процесів слизової оболонки ротової порожнини [23].

## Висновки

1. У щурів, які народилися макросомами, незалежно від соматотипу при народженні в шестимісячному віці наявна тенденція до зниження значення відносної маси привушної слинної залози порівняно з групою контролю.

2. У слинних залозах тварин, які народилися макросомами (крім тварин із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів і відносним дефіцитом маси тіла), у віці 6 місяців мікроскопічно, з використанням конфокальної мікроскопії виявлені результати пошкодження, зокрема апоптозу сероцитів, «зникнення» паренхіми, склерозу строми та макрофагально-лімфоцитарного інфільтрату строми. Найбільш виражені ці явища у тварин з ознаками внутрішньоутробного ожиріння, формування макросомії яких відбувалося шляхом гіперкалорійної дієти та гіпокінетичних умов утримання вагітної самиці.

3. Водночас активуються компенсаторні механізми: спостерігали збільшення ядер сероцитів, еухромність ядер, тобто підвищення морфологічної активності окремого сероциту. У тварин із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів і відносним дефіцитом маси тіла пошкодження та компенсаторні явища відсутні, – виявили «острівці» неактивних, запасних сероцитів, морфологічне навантаження функціонуючих сероцитів невисоке.

4. У віковій динаміці, тобто порівнюючи морфологічний стан слинної залози щурів у віці 3 і 6 місяців, виявили: щодо групи контролю вікове збільшення слинної залози менш виражене у тварин, які народилися макросомами з внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів і відносним дефіцитом маси тіла, та у тварин із надлишком маси тіла. У тварин із внутрішньоутробною стимуляцією ростових процесів встановлені ознаки економного функціонування, є наявність клітинних «запасів», натомість у тварин із внутрішньоутробним ожирінням розвиваються ознаки атрофізації слинної залози з компенсаторною морфологічною активацією функціонуючих сероцитів.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні стану твердих тканин зубів в експериментальних тварин, які народились із макросомією, для підтвердження прямого впливу поганого стану їхніх слинних залоз на карієсогенну ситуацію ротової порожнини.

## Подяка

Робота виконана засобами біологічної візуалізації Інституту фізіології за підтримки проекту Czech-Biolmaging large RI project (LM2015062 що фінансується MEYS CR) і проекту «Модернізація та підтримка дослідницької діяльності національної інфраструктури для біологічної та медичної обробки зображень Czech-Biolmaging (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001775, що фінансується OP RDE). Автори висловлюють подяку Dr. Lucie Kubínová та Dr. Jiří Janáček за корисні поради з різних технічних питань і Dr. Daniel Hadraba за його поради та коментарі.

## Відомості про авторів:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент, каф. терапевтичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

Губіна-Вакулик Г. І., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії, Харківський національний медичний університет, Україна.

Вондрашек Давід, магістр, PhD-аспірант, відділення біоматематики, Інститут фізіології, Академія наук Чеської Республіки, м. Прага.

#### Сведения об авторах:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент, каф. терапевтической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Губина-Вакулик Г. И., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Вондрашек Давид, магистр, PhD-аспирант, отделение биоматематики, Институт физиологии, Академия наук Чешской Республики, г. Прага.

#### Information about authors:

Garmash O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Therapeutic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Gubina-Vakulyk H. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Vondrášek David, Master of Science, PhD student, Department of Biomathematics, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague.

Надійшла до редакції / Received: 27.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 09.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 21.11.2018

#### Список літератури

- Sorokina A.V. Крупный плод: мифы и реальность / А.В. Сорокина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13. – №4. – С. 86–88.
- Хурасева А.Б. Репродуктивное здоровье женщин, родившихся с полярными значениями массы тела / А.Б. Хурасева // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2010. – №8. – С. 106–115.
- Godfrey K.M. The long-term effects of prenatal development on growth and metabolism / K.M. Godfrey, H.M. Inskip, M.A. Hanson // Semin. Reprod. Med. – 2011. – Vol. 29. – Issue 3. – P. 257–265.
- High birthweight is associated with increased prevalence of dental caries in Japanese children / K. Hisano, K. Tanaka, C. Nagata, et al. // Int J Dent Hyg. – 2018. – Vol. 16. – Issue 3. – P. 404–410.
- Macrosomic neonates carry increased risk of dental caries in early childhood: findings from a cohort study, the Okinawa child health study, Japan / H. Yokomichi, T. Tanaka, K. Suzuki, et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. – Issue 7. – e0133872.
- High birth weight is a risk factor of dental caries increment during adolescence in Sweden / A. Julihn, U. Molund, E. Drevsäter, T. Modéer // Dent. J. – 2014. – Vol. 2. – Issue 3. – P. 118–133.
- Гармаш О. В. Морфофункціональний стан привушних слинних залоз тримісячних щурів при експериментально модельованій внутрішньоутробній макросомії / О.В. Гармаш, Г.І. Губіна-Вакулик // Патологія. – 2018. – Т. 15. – №1(42). – С. 81–87.
- Иванова Л.П. К вопросу экстраполяции возрастных периодов развития репродуктивной системы экспериментальных животных на человека / Л.П. Иванова, Н.Р. Шепельская // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – №7. – С. 169–170.
- Исследование энтеросорбирующих свойств пищевых биосистем в условиях in vivo / Л.Э. Глаголева, Н.С. Родионова, О.С. Корнеева, Г.П. Шуваева // Вестник ГУИТ. – 2012. – №3. – С. 163–164.
- Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? Nutrition / R. Quinn // Nutrition. – 2005. – Vol. 21. – Issue 6. – P. 775–7.
- Rat's age versus human's age: what is the relationship? / N.A. Andreollo, E.F. Santos, M.R. Araújo, L.R. Lopes // Arq Bras Cir Dig. – 2012. – Vol. 25. – Issue 1. – P. 49–51.
- End-to-end esophagogastric anastomosis comparative study, between a single layer and submucosa-mucosa invagination technics: in rats / D.I. Júnior, A.J.T. Nigro, A. Sementilli, et al. // Acta Cir Bras. – 2000. – Vol. 15. – Issue 1. – P. 14–22.
- Pearse A.G.E. Histochemistry: Theoretical and Applied / A.G.E. Pearse. – 4th edition. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 1980–1991. – 1055 p.
- Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, 1969. – 425 с.
- Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
- Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. – СПб.: СпецЛит, 2010. – 96 с.
- Garmash O. Three-dimensional image analysis of minor salivary glands in 180-day rat born with macrosomia / O. Garmash, G. Gubina-Vakulyk, D. Vondrášek // Med Čas (Krag) / Med J (Krag). – 2018. – Vol. 52. – Issue 1. – P. 7–14.
- Fiji: an open-source platform for biological-image analysis / J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, et al. // Nature Methods. – 2012. – Vol. 9. – Issue 7. – P. 676–682.
- Shetty Ch.M. Correlation between dental caries with salivary flow, pH, and buffering capacity in adult south Indian population: An in-vivo study / Ch.M. Shetty, M.N. Hegde, D. Devadiga // International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy. – 2013. – Vol. 4. – Issue 2. – P. 219–223.
- The relationship between salivary IgA levels and dental caries in children / E. Ranadheer, U.A. Nayak, N.V. Reddy, V.A. Rao. // J Indian Soc Pedod Prev Dent. – 2011. – Vol. 29. – Issue 2. – P. 106–112.
- Comparison of the salivary immunoglobulin concentration levels between children with early childhood caries and caries-free children / A. Bagherian, A. Jafarzadeh, M. Rezaeian, et al. // Iran J Immunol. – 2008. – Vol. 5. – Issue 4. – P. 217–221.
- Salivary trace elements in relation to dental caries in a group of multi-ethnic school children in Shah Alam, Malaysia / A.S. Hussein, H.F. Ghasheer, N.M. Ramli, et al. // European Journal of Paediatric Dentistry vol. – 2013. – Vol. 14. – Issue 2. – P. 113–118.
- Яковцова А.Ф. Иммунная система плода людини у великих і IUGR плодах / А.Ф. Яковцова, І.В. Сорокіна, І.Е. Алешенко. – Х.: Антика, 2004. – 218 с.

#### References

- Sorokina, A. V. (2013). Krupnyj plod: mify i real'nost' [A large fetus: myths and realities]. *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*, 13(4), 86–88. [in Russian].
- Khuraseva, A. B. (2010). Reproductivnoe zdorov'e zhenshin, rodivshixsya s poljarnymi znacheniyami massy tela [Reproductive health of women born with polar body weight]. *Mizhnarodnyi endokrynologichnyi zhurnal*, 8, 106–115. [in Russian].
- Godfrey, K. M., Inskip, H. M., & Hanson, M. A. (2011). The long term effects of prenatal development on growth and metabolism. *Seminars in Reproductive Medicine*, 29(3), 257–265. doi: 10.1055/s-0031-1275518
- Hisano, K., Tanaka, K., Nagata, C., Arakawa, M., & Miyake, Y. (2018). High birthweight is associated with increased prevalence of dental caries in Japanese children. *International Journal of Dental Hygiene*, 16(3), 404–410. doi: 10.1111/idh.12337
- Yokomichi, H., Tanaka, T., Suzuki, K., Akiyama, T., & Yamagata, Z. (2015). Macrosomic neonates carry increased risk of dental caries in early childhood: findings from a cohort study, the Okinawa child health study, Japan. *PLoS One*, 10(7), e0133872. doi: 10.1371/journal.pone.0133872.
- Julihn, A., Molund, U., Drevsäter, E., & Modéer, T. (2014). High birth weight is a risk factor of dental caries increment during adolescence in Sweden. *Dent. J.*, 2(3), 118–133. doi: 10.3390/dj2040118
- Garmash, O. V., & Gubina-Vakulyk, G. I. (2018). Morfofunktsionalny stan pryvushnykh slynnykh zaloz trymsiaychnykh shchuriv pry eksperymentalno modelovanii vnutrishnoutrobniy makrosomii [Morphofunctional status of parotid salivary glands in three-month-old rats with experimentally induced fetal macrosomia]. *Pathologia*, 15(1), 81–87. doi: 10.14739/2310-1237. 2018.1.129324 [in Ukrainian].
- Ivanova, L. P., & Shepel'skaya, N. R. (2012). K voprosu e'kstrapolyacii vozrastnykh periodov razvitiya reproductivnoy sistemy e'ksperimental'nykh zhivotnykh na cheloveka [To the subject of extrapolation of the reproductive system age periods development of experimental animals on humans]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovanij*, 7, 169–170. [in Russian].
- Glagoleva, L. E., Rodionova, N. S., Korneeva, O. S., & Shuvaeva, G. P. (2012). Issledovanie e'ntrosorbiruyuschikh svoystv pischevykh biosistem v usloviyakh in vivo [Investigation of the enterosorbing properties of food biosystems in vivo]. *Vestnik GUIIT*, 3, 163–164. [in Russian].
- Quinn R. (2005). Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition*, 21(6), 775–7. doi: 10.1016/j.nut.2005.04.002
- Andreollo, N. A., Santos, E. F., Araújo, M. R., & Lopes, L. R. (2012). Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig.*, 25(1), 49–51. doi: 10.1590/S0102-67202012000100011
- Júnior, D. I., Nigro, A. J. T., Sementilli, A., Juliano, Y., & Novo, N. F. (2000). End-to-end esophagogastric anastomosis comparative study, between a single layer and submucosa-mucosa invagination technics: in rats. *Acta Cir Bras*, 15(1), 14–22. http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502000000100003

- [13] Pearse, A. G. E. (1980–1991). *Histochemistry: Theoretical and Applied*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- [14] Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patogistologicheskoy tekhniki [Course of patogistologicheskoy techniques]*. Moscow. [in Russian].
- [15] Sarkisov, D. S., & Perov, Yu. L. (1996). *Mikroskopicheskaya tekhnika: rukovodstvo dlya vrachej i laborantov [Microscopic Technique (manual for physicians and laboratory technicians)]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [16] Korzhevskij, D. E., & Gilyarov, A. V. (2010). *Osnovy gistologicheskoy tekhniki [Basics of histologic techniques]*. Saint Petersburg: SpecLit. [in Russian].
- [17] Garmash, O., Gubina-Vakulik, G., & Vondrášek, D. (2018). Three dimensional image analysis of minor salivary glands in 180-day rats born with macrosomia *Med Čas (Krag) / Med J (Krag)*, 52(1), 7–14.
- [18] Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., et al. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676–82. doi: 10.1038/nmeth.2019
- [19] Shetty, Ch. M., Hegde, M. N., & Devadiga, D. (2013). Correlation between dental caries with salivary flow, pH, and buffering capacity in adult south Indian population: An in-vivo study April 2013 *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 4(2), 219–223. doi: 10.7897/2277-4343.04226
- [20] Ranadheer, E., Nayak, U. A., Reddy, N. V., & Rao, V. A. (2011) The relationship between salivary IgA levels and dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 29(2), 106–112. doi: 10.4103/0970-4388.84681
- [21] Bagherian, A., Jafarzadeh, A., Rezaeian, M., et al. (2008) Comparison of the salivary immunoglobulin concentration levels between children with early childhood caries and caries-free children. *Iran J Immunol*, 5(4), 217–221.
- [22] Hussein, A. S., Ghasheer, H. F., Ramli, N. M., Schroth, R. J., & Abu-Hasan, M. I. (2013). Salivary trace elements in relation to dental caries in a group of multi-ethnic schoolchildren in Sūhah Alam, Malaysia. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 14(2), 113–18.
- [23] Yakovtsova, A. F., Sorokina, I. V., Aleshchenko, I. Ye. (2004) *Imunna sistema ploda liudyny u velykykh i IUGR plodakh [Immune system of the human fetus in large and IUGR fetuses]*. Kharkiv: Antykva. [in Ukrainian].

## Особливості використання та інтерпретації результатів водневого дихального тесту з навантаженням лактозою в дітей раннього віку та їхніх матерів

С. І. Ільченко\*<sup>1,A,F</sup>, С. М. Недельська<sup>2,E</sup>, Т. В. Можейко<sup>1,B,C,D</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, <sup>2</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна

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

### Ключові слова:

лактазна недостатність, водневий дихальний тест, генетичний маркер, мікробний пейзаж кишківника, діти раннього віку.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 116–123

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166470

\*E-mail: ilchensv@gmail.com

**Мета роботи** – оцінити інформативність використання водневого дихального тесту з навантаженням харчовою лактозою серед дітей раннього віку та їхніх матерів для діагностики лактазної недостатності, визначити взаємозв'язок результатів тесту з проявами функціональних гастроінтестинальних розладів у дітей.

**Матеріали та методи.** 32 дітям віком від 1 місяця до 2 років із різними проявами функціональних гастроінтестинальних розладів виконали водневий дихальний тест (ВДТ) із навантаженням харчовою лактозою, дослідження генетичного маркера C(-13910)T гена MCM6 шляхом букального зіскребу, мікробіологічне дослідження калу. ВДТ виконували і в матерів обстежених дітей.

**Результати.** У 18,8 % дітей ВДТ виявився позитивним (лактазна недостатність – ЛН), у 31,2 % – сумнівним (синдром надлишкового бактеріального росту в кишківнику – СНБРК). Серед матерів дітей, яких обстежили, позитивні результати ВДТ отримали в 43,7 % випадків, сумнівні – у 9,4 %. Максимальний рівень водню в дітей із ЛН – 45,5 (40,0–53,0) ppm – зафіксовано на 180 (150–180) хв, що вірогідно пізніше, ніж у дорослих. Дослідження мікробіоти кишківника дітей показало зниження кількості біфідо- та лактобактерій у 43,8 % випадків і збільшення на цьому тлі умовно патогенної флори в 93,8 %: *Kl. pneumoniae* – 46,9 %, *S. aureus* – 53,1 %, *K. oxytoca* – 18,8 %, *E. coli* – 31,2 %, *E. faecalis* – 6,2 %, *E. cloacae* – 6,2 %, *Clostridia* – 9,4 %, *C. freundi* – 6,2 %. За даними дослідження генетичного маркера лактазної недостатності C(-13910)T, майже всі діти (93,8 %) були носіями основного алеля C із рівним співвідношенням (по 46,9 %) між генотипами C/C і C/T і відсутністю статистично значущих кореляцій із результатами ВДТ.

**Висновки.** Дослідження свідчать, що в більшості дітей із СНБРК (80,0 %) і ЛН (83,3 %) виявлено асоціації різної умовно патогенної флори, зокрема *S. aureus* і *K. pneumoniae* на тлі зниженого вмісту лактобактерій (50,0 %) з більшою частотою функціональної діареї та інтенсивністю проявів синдрому зривування. Відсутність статистично значущих кореляцій між результатами ВДТ у дітей та їхніх матерів, а також із генетичним дослідженням маркера C(-13910)T гена MCM6 свідчить про низьку інформативність цих досліджень щодо наявності непереносності лактози в дітей раннього віку.

### Ключевые слова:

лактазная недостаточность, водородный дыхательный тест, генетический маркер, микробный пейзаж кишечника, дети раннего возраста.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 116–123

## Особенности использования и интерпретации результатов водородного дыхательного теста с нагрузкой лактозой у детей раннего возраста и их матерей

С. И. Ильченко, С. Н. Недельская, Т. В. Можейко

**Цель работы** – оценить эффективность использования водородного дыхательного теста с нагрузкой пищевой лактозой среди детей раннего возраста и их матерей, установить взаимосвязь результатов теста с проявлениями функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей.

**Материалы и методы.** 32 детям в возрасте от 1 месяца до 2 лет с различными проявлениями функциональных гастроинтестинальных расстройств провели водородный дыхательный тест (ВДТ) с нагрузкой пищевой лактозой, исследования генетического маркера C(-13910)T гена MCM6 путем буккального соскоба, микробиологическое исследование кала. Тест ВДТ выполняли и у матерей исследуемых детей.

**Результаты.** У 18,8 % детей ВДТ оказался положительным (лактазная недостаточность – ЛН), у 31,2 % – сомнительным (синдром избыточного бактериального роста в кишечнике – СИБРК). Среди матерей обследованных детей положительные результаты ВДТ получены в 43,7 % случаев, сомнительные – 9,4 %. Максимальный уровень водорода у детей с ЛН – 45,5 (40,0–53,0) ppm – зафиксирован на 180 (150–180) мин, достоверно позже, чем у взрослых. Исследование микробиоты кишечника детей показало снижение количества бифидо- и лактобактерий в 43,8 % случаев и увеличение на этом фоне условно-патогенной флоры в 93,8 %: *K. pneumoniae* – 46,9 %, *S. aureus* – 53,1 %, *K. oxytoca* – 18,8 %, *E. coli* – 31,2 %, *E. faecalis* – 6,2 %, *E. cloacae* – 6,2 %, *Clostridia* – 9,4 %, *C. freundi* – 6,2 %. По данным исследования генетического маркера лактазной недостаточности C(-13910)T, почти все дети (93,8 %) были носителями основного аллеля C с равным соотношением (по 46,9 %) между генотипами C/C и C/T и отсутствием статистически значимых корреляций с результатами ВДТ.

**Выводы.** Исследования показывают, что у большинства детей с СИБРК (80,0 %) и ЛН (83,3 %) установлены ассоциации различной условно-патогенной флоры, в том числе *S. aureus* и *K. pneumoniae* на фоне пониженного содержания лактобактерий (50,0 %) с высокой частотой функциональной диареи и интенсивностью проявлений синдрома срыгивания. Отсутствие статистически значимых корреляций между результатами ВДТ у детей и их матерей, а также с генетическим исследованием маркера C(-13910)T гена MCM6 свидетельствует о низкой информативности этих исследований по поводу наличия непереносимости лактозы у детей раннего возраста.

## The peculiarities of using and reading of hydrogen breath test results with lactose load in young children and their mothers

S. I. Ilchenko, S. M. Nedielska, T. V. Mozheiko

**Purpose of the work** is to evaluate efficacy of using hydrogen breath test with nutritional lactose load among young children and their mothers and correlation of the test results with manifestation of functional gastrointestinal disorders in children.

**Materials and methods.** Hydrogen breath test with nutritional lactose load, genetic marker C (-13910)T of the gene MCM6 investigation by buccal scraping, microbiological investigation of stool were carried out in 32 young children between 1 month and 2 years of age with different manifestations of functional gastrointestinal disorders. HBT was carried out in mothers of investigated children.

**Results.** 18.8 % of children had positive HBT (lactose intolerance – LI), 31.2 % of young children had doubtful result (small intestinal bacterial overgrowth syndrome – SIBO). Positive results of HBT were received in 43.7 % of cases, doubtful ones were received in 9.4 % of women among mothers of investigated children. Maximal level of hydrogen in children with LI is 45.5 (40.0–53.0) ppm, it has been fixed on the 180<sup>th</sup> (150–180) minute, that is likely later than in adults. Investigation of children intestinal microbiota showed decreasing of bifidobacteria and lactobacteria in 43.8 % of cases and increasing of opportunistic flora in 93.8 % against this background including *K. pneumoniae* – 46.9 %, *S. aureus* – 53.1 %, *K. oxytoca* – 18.8 %, *E. Coli* – 31.2 %, *E. Faecalis* – 6.2 %, *E. Cloacae* – 6.2 %, *Clostridia* – 9.4 %, *C. freundii* – 6.2 %. Almost all children (93.8 %) were carriers of the main allele C with equal relations (in 46.9 %) between the genotypes C/C and C/T and absence of significant correlation with results of HBT according to the investigation of lactase intolerance genetic marker C (-13910)T.

**Conclusions.** The performed investigations have proved that associations of different opportunistic flora including *S. aureus* and *K. pneumoniae* on the background of decreasing of lactobacteria (50.0 %) with the high rate of functional diarrhea and intensity of manifestations of regurgitation syndrome, were revealed in many young children with SIBO (80.0 %) and LI (83.3 %). The lack of statistically significant correlations between the results of HBT in children and their mothers, as well as with genetic marker C (-13910) T of the gene MCM6 investigation demonstrates low level of information content of these investigations for the evidence of transient lactose intolerance in young children.

**Key words:**  
lactose intolerance,  
hydrogen breath  
test, genetic  
marker, intestinal  
flora, infant.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 116–123

Лактазна недостатність (ЛН) у дітей грудного віку може виступати одним з етіологічних чинників виникнення функціональних гастроінтестинальних розладів (ФГПР) [1,2]. ФГПР серед дітей першого року життя – одна з найчастіших причин звернення батьків до лікарів-педіатрів, сімейних лікарів і дитячих гастроентерологів. Найбільш частими проявами функціональних розладів травлення на першому році життя, особливо в перші 6 місяців життя, за даними різних авторів, є синдром зригування – 23,1 %, синдром дитячих кишкових кольок – 50–70 %, функціональні запори – 17,6 % випадків [3]. Серед причин виникнення ФГПР можуть бути й інші, що пов'язані з матір'ю або дитиною. Наприклад, погіршеності в харчуванні матері-годувальниці, порушення техніки вигодовування, неправильне розведення молочних сумішей, куріння [4]. З боку дитини – анатомо-фізіологічні особливості та функціональна незрілість травної системи дітей раннього віку, перенесена гіпоксія (вегетовісцеральні прояви церебральної ішемії), гастроінтестинальна форма харчової алергії (найчастіше – алергія на білок коров'ячого молока), лактазна недостатність [5,6].

За даними фахової літератури, понад половина дітей першого року життя страждають на кишкові кольки саме через недостатню кількість ферменту лактази [7]. Залежно від рівня його активності, кількості лактози, яка надходить з харчуванням, індивідуальної чутливості кишківника, а також особливостей кишкового мікробіоценозу вираженість клінічних проявів при ЛН може варіювати. У цьому аспекті необхідна рання діагностика лактазної недостатності в дітей грудного віку, вона має бути високоінформативною і, найголовніше для дітей цієї вікової групи, малоінвазивною. За даними світової наукової літератури, «золотим стандартом» у діагностиці патології шлунково-кишкового

тракту (ШКТ) є метод визначення активності лактази в біоптатах слизової оболонки тонкої кишки [8,9]. Однак складність виконання, висока інвазивність і висока вартість методики значно обмежують її використання в дітей грудного віку [10]. Для діагностики ЛН також використовують генетичне дослідження, що засноване на визначенні С/Т поліморфізму алеля 13910 гена лактази LCT, який розташований у 2 хромосомі (2q21) [11]. Але, на погляд деяких авторів, цей метод не повинен широко використовуватися через відсутність клінічного значення тесту, оскільки він не відбиває дійсної ситуації щодо наявності непереносності лактози, а тільки прогнозує схильність до розвитку ЛН у дорослому віці [12,13].

Нині для діагностики лактазної недостатності у практичній, особливо закордонній, медицині активно використовують водневий дихальний тест (ВДТ) із навантаженням харчовою лактозою. Принцип тесту заснований на тому, що водень не утворюється у тканинах здорової людини. Єдиним шляхом, за допомогою якого він з'являється в організмі, є анаеробні бактерії кишківника, здатні продукувати його у процесі ферментації вуглеводів, які потрапляють туди з їжею. Отже, за наявності у просвіті кишківника вуглеводів та при розщепленні їх бактеріями відбувається виділення водню, який далі абсорбується у кровотік, транспортується в легені та виділяється з повітрям, що видихається [8,14]. Поширеність цієї методики серед дорослих пацієнтів пов'язана з її неінвазивністю, високою чутливістю та специфічністю [15]. Дослідження ефективності використання ВДТ із навантаженням харчовою лактозою серед дітей раннього віку поодинокі (Ю. В. Марушко, Л. О. Літєва, О. Г. Шадрін та ін.).

Це підтверджує необхідність раннього діагностування ЛН за допомогою малоінвазивних високо-

специфічних методів дослідження. Ефективність використання та чутливість ВДТ із навантаженням харчовою лактозою серед дітей раннього віку потребує уточнення та накопичення досвіду щодо цієї методики. Науковий інтерес, на наш погляд, становить паралельне тестування дітей із функціональними гастроінтестинальними розладами та їхніх матерів, якщо припускати спадковість патологічних порушень. Таке дослідження в педіатрії ще не здійснювали.

### Мета роботи

Оцінити інформативність використання водневого дихального тесту з навантаженням харчовою лактозою для діагностики лактазної недостатності серед дітей раннього віку та їхніх матерів, визначити взаємозв'язок результатів тесту з клінічними проявами функціональних гастроінтестинальних розладів.

### Матеріали і методи дослідження

У дослідженні брали участь 32 дитини віком від 1 місяця до 2 років, які мали різні прояви ФГПР ШКТ та отримували амбулаторне або стаціонарне лікування, а також 32 матері обстежених дітей. Критеріями встановлення діагнозу ФГПР ШКТ і залучення дітей у дослідження була відповідність клінічної симптоматики до Римських критеріїв ІV перегляду. Критерії виключення: органічні ураження ЦНС, спадкова та вроджена патологія шлунково-кишкового тракту, гострі запальні процеси ШКТ.

У всіх пацієнтів здійснили загальноклінічні дослідження: оцінювання скарг, анамнестичних даних, об'єктивного статусу, загальноклінічне лабораторне обстеження, що включало пряме мікроскопічне дослідження калу (копроцитограма), бактеріальний посів калу для діагностики дисбактеріозу кишківника з визначенням чутливості до антибактеріальних препаратів. Для кількісного оцінювання ступеня виразності скарг при різних проявах ФГПР ШКТ використовували балльні системи різних авторів.

Усім обстеженим дітям виконали букальний зіскріб для визначення генетичного С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази та ВДТ із навантаженням харчовою лактозою. Водневий дихальний тест виконали й у матерів обстежених дітей.

Під час генетичного дослідження результати визначали так: при гомозиготному носійстві (С/С) – людина не здатна до засвоєння лактози; при гетерозиготному носійстві (С/Т) – варіабельний рівень лактазної активності, коли частіше розвивається вторинна лактазна недостатність; при гомозиготному носійстві (Т/Т) людина здатна до засвоєння лактози.

Для проведення ВДТ використовували портативний апарат для визначення водню в повітрі, що видихається, Gastro + Gastrolyzer (Gastro + Gastrolyzer Breath hydrogen (H<sub>2</sub>) monitor) виробництва Bedfont Scientific Limited (Велика Британія), свідоцтво про державну реєстрацію № 9455/2010 від 25.06.2010 р. Вимірювання рівня водню в повітрі, що видихається, виконували натщесерце, до навантаження (базальний рівень) і через кожні 30 хв протягом 3 годин дослідження після перорального навантаження розчином

лактози. Як навантаження використовували звичайну харчову лактозу, котру призначали з розрахунку 1,5 г/кг маси тіла (але не більше ніж 25 г), розведена у 10 мл/кг теплої води. Для ВДТ у грудних дітей використовували методику з патенту на корисну модель № 83552 «Спосіб діагностики транзиторної лактазної недостатності у дітей перших місяців життя» [7]. Застосовували маски для обличчя певного розміру, які треба було щільно прикладати до рота та носа пацієнта, щоб не було витоків повітря. Процедура не переривала та не утруднювала дихання дитини і тривала 1 хвилину. Під час підготовки до тесту дорослому необхідно було за 12 годин не вживати їжу, напої, крім негазованої води, а також напередодні дотримуватися рекомендованої дієти. Для немовлят тест починали мінімум через 3 години після годування залежно від віку, також треба було виключити приймання антибактеріальних препаратів мінімум за 2 тижні, пробіотиків, вітамінів, ферментів і послаблювальних засобів. Тест вважали позитивним у випадку підвищення водню на 20 ppm і більше від базального рівня – діагностували лактазну недостатність [16]. При збільшенні рівня водню від 10 до 20 ppm результати тесту трактували як сумнівні, що свідчило про наявність синдрому лактозозалежного надлишкового бактеріального росту (СНБРК) у тонкому кишківнику. При різниці менше ніж 10 ppm від базального рівня водню результат вважали негативним [17].

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконали, використовуючи програму Statistica v.6.1 (StatSoft, США) (серійний номер AGAR 909 E415822FA). Враховуючи невеликий розмір вибірок дослідження та відхилення розподілу кількісних даних від нормального закону (критерій Шапіро–Уїлка), використовували непараметричні характеристики і методи аналізу: медіану (Me), міжквартильний розмах (25–75 %), дисперсійний аналіз Краскела–Волліса (H), критерій Мана–Уїтні (U), коефіцієнт взаємної спряженості Пірсона (C). Порівняння відносних величин виконали за критерієм Пірсона Хі-квадрат ( $\chi^2$ ), в тому числі з поправкою Йейтса. Критичний рівень статистичної значущості (p) приймали на рівні <0,05, тенденцію визначали при p < 0,1.

Усі учасники дослідження співпрацювали на основі інформованої згоди згідно з міжнародними нормами медичної етики.

### Результати

Серед 32 обстежених дітей 17 (53,1 %) дівчат і 15 (46,9 %) хлопців. Вік дітей становив 6,8 (4,0–10,0) місяця, віком до 6 місяців були 15 (46,9 %) дітей, від 6 міс. до 1 року – 14 (48,3 %). Усі пацієнти мали прояви функціональних гастроінтестинальних розладів за Римськими критеріями ІV: регургітацію (синдром зригування) – 24 (75,0 %) випадків, кольки – 9 (28,1 %), функціональну діарею або функціональний закреп – 11 (34,4 %) і 12 (37,5 %) відповідно. У половині випадків (53,1 %) траплялося одночасне поєднання кількох проявів ФГПР. Також батьки скаржились на метеоризм у 50,0 % дітей, порушення сну – у 53,1 %, занепокоєння – у 40,6 %, кислий запах випорожнень – у 40,6 %,

порушення характеру випорожнень – у 78,1 % дітей. Поведінка дітей (занепокоєння, порушення сну) тісно асоціювалася з проявами ФГПР: наявністю дитячих кольок ( $\chi^2 = 12,09$ ;  $C = 0,52$  і  $\chi^2 = 11,05$ ;  $C = 0,51$ ,  $p < 0,001$ ), метеоризмом ( $\chi^2 = 10,49$ ;  $C = 0,50$  і  $\chi^2 = 15,18$ ;  $C = 0,57$ ,  $p < 0,001$ ), функціональною діареєю ( $\chi^2 = 5,40$ ;  $C = 0,38$  і  $\chi^2 = 4,98$ ;  $C = 0,37$ ,  $p < 0,05$ ).

Матері обстежених дітей були віком від 23 до 39 років – 29,5 (28,0–32,0) роки. Аналіз даних акушерського анамнезу показав, що першу вагітність мали 59,4 % жінок, токсикоз I триместру вагітності визначили у 31,2 % випадків, анемію – у 37,5 %, загрозу переривання вагітності – у 31,2 %, набряки – у 12,5 %, урогенітальну патологію – в 15,6 %, нефропатію вагітних – у 6,2 %. Гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) під час вагітності перенесли половина жінок (50,0 %), переважно у другому та третьому триместрах вагітності – 43,8 %, носійство хронічних інфекцій встановили у 18,8 % матерів, хронічну внутрішньоутробну гіпоксію плода – у 9,4% випадків. Під час вагітності всі матері були проінформовані про раціональне харчування вагітної жінки та дотримувалися його, комплексні вітаміни отримували 96,9 %.

Дослідження мікробіоти кишківника дітей показало зниження кількості нормальної флори (біфідо- та лактобактерій) у 14 (43,8 %) пацієнтів і відповідне збільшення на цьому тлі умовно патогенної флори у 30 (93,8 %) дітей: зростання *Klebsiella pneumoniae* – 46,9 %, *Staphylococcus aureus* – 53,1 %, *Klebsiella oxytoca* – 18,8 %, *E. coli* – 31,2 %, *E. faecalis* – 6,2 %, *E. cloacae* – 6,2 %, *Clostridia* – 9,4 %, *C. freundii* – 6,2 %, ще по одному випадку – *Proteus*, *E. faecium*, *E. spp*, *Candida*. За даними генетичного дослідження С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази, виявили, що майже всі діти (30 – 93,8 %) були носіями основного алеля С, що характеризує зниження лактазної активності в дорослому віці, зокрема генотип С/С мали 15 (46,9 %) пацієнтів, генотип С/Т – 15 (46,9 %). Гомозиготне носійство Т/Т виявляли тільки у 2 (6,2 %) осіб.

За результатами ВДТ серед обстежених дітей отримали такі дані: негативні результати тесту – у 16 (50,0 %) пацієнтів, сумнівні (синдром надлишкового бактеріального росту в кишківнику – СНБРК) – у 10 (31,2 %), позитивні (лактазна недостатність) – у 6 (18,8 %) випадків. Зміни концентрації водню в повітрі, що видихається (КВВП), у дітей протягом 3-годинного дослідження відповідно до підсумкових результатів ВДТ наведені на рис. 1.

Як видно з рис. 1, у пацієнтів із негативним результатом тесту концентрація водню протягом дослідження мала незначні коливання та не перевищувала 10 ppm. Максимальне значення КВВП у цій групі становило 4,5 (3,0–7,5) ppm і зафіксовано на 30 (0–90) хв.

При сумнівному результаті ВДТ (СНБРК) базальний рівень водню вірогідно перевищував показники в дітей попередньої групи – 4,0 (4,0–11,0) ppm проти 2,0 (1,0–2,0) ppm ( $p < 0,01$ ). Максимальні значення КВВП коливались у межах від 14 ppm до 32 ppm і становили 17,5 (14,0–26,0) ppm. Час, коли зафіксовано максимальне значення в цій групі, – 90 (30–180) хв. Динаміка показника КВВП у 6 обстежених дітей із позитивним результатом тесту впродовж усього

дослідження мала стійку тенденцію до підвищення, сягаючи максимальних значень переважно в останні періоди спостереження – 180 (150–180) хв (рис. 2). Максимальні значення КВВП коливались у межах від 28 ppm до 115 ppm і становили 45,5 (40,0–53,0) ppm.

Для з'ясування особливостей розвитку та перебігу ФГПР у дітей грудного віку залежно від рівня лактазної активності (ЛА), яку оцінили за ВДТ, дітей поділили на 3 групи: I – без ЛН, II – СНБРК, III – з ЛН.

Аналіз скарг та анамнестичних даних в обстежених дітей показав: синдром зригування в дітей із різним рівнем лактазної активності був із майже однаковою частотою (I група – 75,0 %, II – 80,0 %, III – 66,7 %,  $p > 0,05$ ,  $\chi^2 = 0,356$ ), але його інтенсивність була більшою в дітей із ЛН – 4,0 (2,5–4,5) бала проти 1,0 (1,0–2,0) бала в дітей I групи ( $p = 0,041$  за критерієм U) і 1,0 (1,0–1,0) бала у II групі ( $p = 0,020$  за U). Встановили кореляційний зв'язок між проявами ФГПР і станом лактазної активності. Так, функціональну діарею частіше діагностували в дітей із СНБРК і ЛН ( $C = 0,37$ ,  $p < 0,05$ ) – 9 із 16 пацієнтів II і III груп (56,3 %) проти 2 із 16 дітей I групи (12,5 %),  $p < 0,05$  ( $\chi^2 = 4,99$ ). На функціональний закреп в анамнезі частіше страждали діти з I групи порівняно з III ( $C = 0,34$ ,  $p < 0,1$ ) – 11 (68,8 %) проти 1 (16,7 %),  $p < 0,1$  ( $\chi^2 = 2,90$ ) (рис. 3).

Характер вигодовування дітей у групах: у I групі переважав природний (62,5 %) та змішаний (31,3 %) види з дотриманням рекомендованих термінів введення першого прикорму (7 із 9 випадків – 77,8 %). Серед 10 дітей із СНБРК (II група) тільки половина (50,0 %) отримували грудне молоко понад 6 місяців життя, інші 50,0 % дітей були на штучному вигодовуванні майже з періоду новонародженості ( $p < 0,05$ ,  $\chi^2 = 4,40$  порівняно з I групою). Раннє введення прикорму (до 6 місяців) у дітей цієї групи також встановили в 4 із 8 випадків (50,0 %). У групі дітей з позитивним результатом ВДТ на грудному вигодовуванні були 4 (66,7 %), на штучному – 2 (33,3 %), перший прикорм на 6 місяці життя отримали 3 із 4 дітей.

Мікробний пейзаж кишківника в дітей із різним рівнем лактазної активності мав певні відмінності: знижений рівень *Bifidobacterium*, збільшення кількості *K. oxytoca* і *Clostridia* спостерігали тільки в пацієнтів без ЛН – 31,3 %, 37,5 % і 18,8 % випадків відповідно (рис. 4). У більшості дітей із СНБРК (80,0 %) і ЛН (83,3 %) виявили асоціації різної умовно-патогенної флори, зокрема *S. aureus* і *Kl. pneumoniae*, на тлі зниженого вмісту лактобактерій (50,0 %).

Зіставлення результатів ВДТ у дітей і генетичного дослідження С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази показало відсутність статистично значущих кореляцій, що узгоджується з даними D. Epko et al. (2014) [18] (табл. 1).

Відповідно до мети дослідження, виконали ВДТ серед матерів обстежених дітей. Негативні результати отримали в 15 (46,9 %) жінок, сумнівні – у 3 (9,4 %), позитивні (ЛН) – у 14 (43,7 %) випадків. Подібно до результатів ВДТ у дітей варіабельність показника КВВП у матерів із негативним результатом тесту протягом дослідження незначна: з максимальним значенням 5,0 (3,0–8,0) ppm, що зафіксоване на 90 (30–120) хв. При позитивних результатах тесту (ЛН) максимальні

1

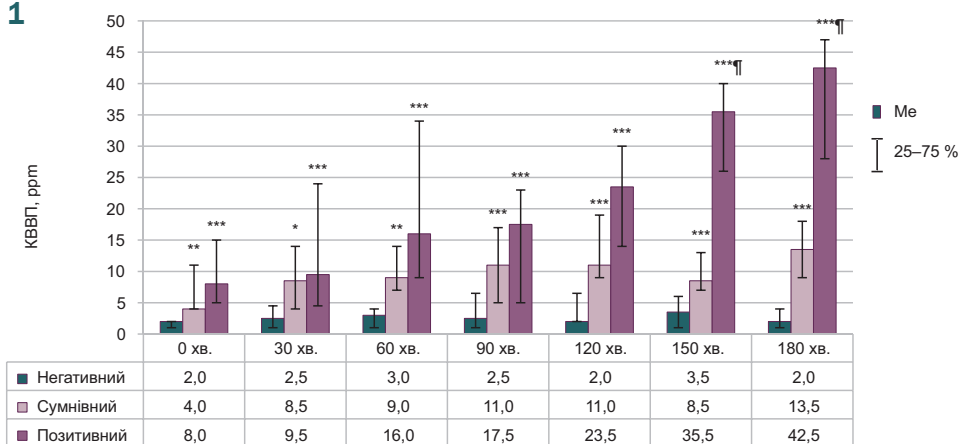


Рис. 1. Зміни концентрації водню в повітрі, що видихається (КВВП), у дітей протягом 3-годинного дослідження при різних результатах ВДТ.

\*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$  – значущість відмінностей порівняно з негативним тестом; †:  $p < 0,01$  – значущість відмінностей порівняно з сумнівним тестом.

2

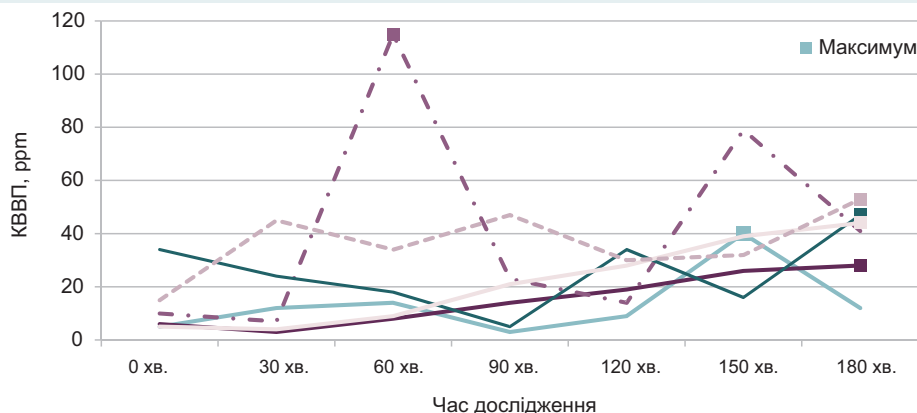


Рис. 2. Динаміка показників КВВП у дітей із лактазною недостатністю.

3

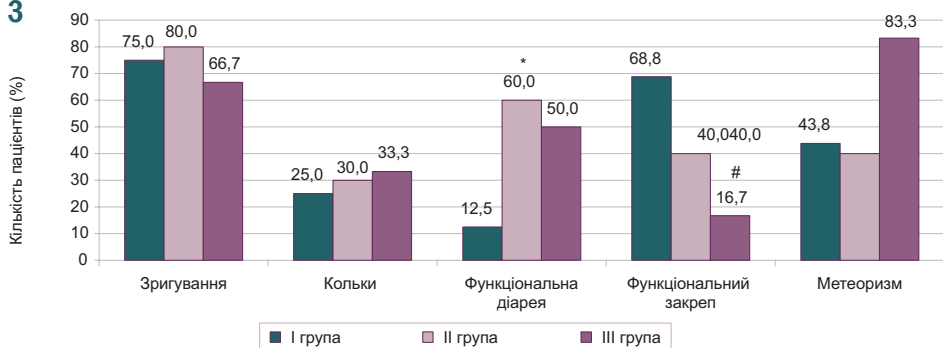


Рис. 3. Частота функціональних гастроінтестинальних розладів в обстежених дітей із різним рівнем лактазної активності (за ВДТ).

\*:  $p < 0,05$ ; #:  $p < 0,1$  – значущість відмінностей порівняно з 1 групою.

4

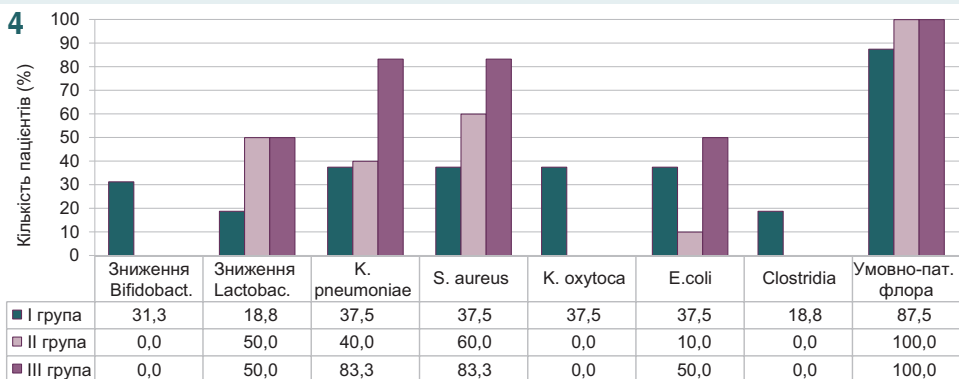


Рис. 4. Частота виявлення мікробної флори в кишківнику обстежених дітей із різним рівнем лактазної активності (за ВДТ).



значення КВВП коливались у межах від 30 ррт до 136 ррт і становили 70,5 (56,0–88,0) ррт. Порівняно з III групою дітей (ЛН) середні показники матерів були майже в 1,5 раза вищі ( $p = 0,050$  за критерієм U), але час досягнення максимального значення КВВП у матерів був коротшим – 120 (120–150) хв проти 180 (150–180) хв у дітей ( $p = 0,027$  за U). Зіставлення результатів ВДТ у дітей та їхніх матерів не показало статистично значущого зв'язку (табл. 2).

Відсутність ЛН у дитини тільки в половині випадків відповідала такому самому результату в матерів. Наявність ЛН у дитини здебільшого (83,3 %) не відповідала стану лактазної активності в матері. Тобто ВДТ серед матерів грудних дітей із функціональними гастроінтестинальними розладами є недоцільним.

## Обговорення

Порушено питання щодо актуальності ранньої діагностики лактазної недостатності в дітей, визначення етіологічної структури функціональних розладів травлення в ранньому віці. У практичній педіатрії пріоритети належать неінвазивним методам дослідження, але дуже важливою є висока інформативність цих методів і вірогідність результатів дослідження. Водневий ди-хальний тест останнім часом широко використовується на практиці в дорослих. У здійсненому дослідженні доведено: використання цієї методики в ранньому віці потребує уточнень і дослідницьких навичок щодо інтерпретації результатів, а це пов'язано передусім з анатомо-функціональними особливостями органів травлення в дітей. Ретельний аналіз динаміки показників водневого тесту протягом 180 хв у дітей порівняно з їхніми матерями доводить наочність і раціональність використання індивідуального графічного зображення результатів тесту, а також те, що максимальні значення в дітей виникають вірогідно пізніше, ніж у дорослих.

У нашому дослідженні зіставлення результатів ВДТ у дітей і генетичного дослідження С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази підтвердило відсутність статистично значущих кореляцій. Це узгоджується з результатами досліджень D. Enko et al., які показали: С/С-13910 поліморфізм гена лактази встановлений у 19,4 %, а підвищене виділення водню зафіксоване тільки у 7,2 % з них; у деяких пацієнтів із С/Т і Т/Т поліморфізмом гена лактази зафіксовано підвищені показники КВВП [18]. Цей факт доводить низьку інформативність генетичного дослідження щодо транзиторної нестерпності до лактози, яка превалює в дітей раннього віку.

Гіпотеза щодо наявності зв'язку результатів тесту ВДТ у дітей та їхніх матерів не підтверджена, тому більш раціональним у практичній педіатрії для діагностики первинної (вродженої) лактазної недостатності буде виконання генетичного дослідження у групі ризику, а це діти з вираженими клінічними проявами лактазної недостатності, в яких показники рівня водню підвищилися більше ніж на 50 ррт за даними тесту. Виходячи з результатів бактеріологічного дослідження, ВДТ треба виконувати паралельно з вивченням мікробного пейзажу кишківника, що може також впливати на результати тесту.

**Таблиця 1.** Зіставлення результатів ВДТ у дітей і генетичного дослідження С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази, абс. / %

Генотип	I група (n = 16)	II група (n = 10)	III група (n = 6)	Усі пацієнти (n = 32)
С/С	9 / 56,2	4 / 40,0	2 / 33,3	15 / 46,9
С/Т	7 / 43,8	5 / 50,0	3 / 50,0	15 / 46,9
Т/Т	–	1 / 10,0	1 / 16,7	2 / 6,2

Відмінності між групами статистично незначущі ( $p > 0,05$ ).

**Таблиця 2.** Зіставлення результатів ВДТ у дітей та їхніх матерів, абс. / %

Результати ВДТ матері	Результати ВДТ у дітей			
	I група (n = 16)	II група (n = 10)	III група (n = 6)	Всі пацієнти (n = 32)
Негативний	8 / 50,0	3 / 30,0	4 / 66,7	15 / 46,9
Сумнівний	1 / 6,3	1 / 10,0	1 / 16,7	3 / 9,4
Позитивний	7 / 43,8	6 / 60,0	1 / 16,7	14 / 43,7

Відмінності між групами статистично незначущі ( $p > 0,05$ ).

## Висновки

1. За результатами ВДТ позитивний результат (лактазна недостатність) отримали тільки у 18,8 % дітей, сумнівний (синдром надлишкового бактеріального росту в кишківнику) – у третини обстежених дітей. Незважаючи на подібність клінічної картини ФГПР при лактазній недостатності та без неї, здебільшого визначено, що функціональна діарея та інтенсивність проявів синдрому зригування були вищими в дітей із лактазною недостатністю та синдромом надлишкового бактеріального росту в кишківнику, а на функціональний закреп в анамнезі частіше страждали діти з негативним результатом ВДТ. У більшості дітей із СНБРК (80,0 %) і ЛН (83,3 %) виявили асоціації різної умовно патогенної флори, зокрема *S. aureus* і *Kl. pneumoniae* на тлі зниженого вмісту лактобактерій (50,0 %).

2. За даними генетичного дослідження С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази, 93,8 % дітей були носіями основного алеля С, що характеризує зниження лактазної активності в дорослому віці, з рівним співвідношенням (по 46,9 %) між генотипами С/С і С/Т. Відсутність статистично значущих кореляцій між результатами ВДТ і генетичного дослідження підтверджує низьку інформативність С/Т поліморфізму алеля 13910 LCT-гена лактази щодо наявності транзиторної нестерпності до лактози в дітей раннього віку.

3. За результатами ВДТ, у матерів обстежених дітей лактазну недостатність виявили в 43,7% випадків, синдром надлишкового бактеріального росту в кишківнику – у 9,4 %. Але наявність лактазної недостатності або її відсутність у дитини здебільшого (50,0–83,3%) не збігалася з таким самим результатом у матерів, що робить недоцільним виконання ВДТ серед матерів немовлят із функціональними гастроінтестинальними розладами.

4. Максимальний рівень КВВП, за даними ВДТ у дітей раннього віку з лактазою недостатністю, зафіксовано на 180 (150–180) хв, що вірогідно пізніше, ніж у дорослих. Це потребує від дослідників ретельно дотримуватися техніки виконання тесту та його тривалості.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні можливостей розширення використання

водневого дихального тесту в педіатричній практиці, враховуючи вікові методологічні особливості його виконання.

#### Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Бронхіти у дітей із коморбідними станами: клінічний перебіг та їх сучасна етіологія», № держреєстрації 0116U004962 (2017–2021).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 12.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 25.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 29.03.2019

#### Відомості про авторів:

Ільченко С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики дитячих хвороб, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Недельська С. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Можейко Т. В., аспірант каф. пропедевтики дитячих хвороб, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

#### Сведения об авторах:

Ильченко С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики детских болезней, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Недельская С. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Можейко Т. В., аспирант каф. пропедевтики детских болезней, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

#### Information about authors:

Ilichenko S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Nedielska S. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

Mozheiko T. V., Postgraduate Student of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

#### Список літератури

- [1] Частота функціональних розладів і клінічних симптомів, що можуть бути пов'язані з лактазною недостатністю у дітей раннього віку м. Львова / Р.В. Ткач, С.Л. Няньковський, О.С. Няньковська, М.С. Яцула // *Здоровье ребенка*. – 2016. – №5(73). – С. 60–64.
- [2] Проблеми питання перебігу та терапії лактазної недостатності у дітей раннього віку / О.Г. Шадрін, Т.Л. Марушко, В.П. Місник та ін. // *Современная педиатрия*. – 2011. – №6. – С. 157–161.
- [3] Старостина Л.С. Особенности функционирования пищеварительной системы у детей раннего возраста: коррекция наиболее частых расстройств // *Л.С. Старостина, Е.А. Яблокова // Российский медицинский журнал*. – 2017. – №19. – С. 1335–1340.
- [4] Функціональні порушення шлунково-кишкового тракту у дітей грудного віку: роль дієтотерапії [Електронний ресурс] / В.А. Скворцова, Г.В. Яцук, Н.Г. Звонкова і др. – Режим доступу: <http://www.lvach.ru/2011/06/15435215/> (дата звернення 10.11.2018).
- [5] Корниенко Е.А. Роль лактазної недостатності і кишкової мікрофлори в розвитку функціональних розладів шлунково-кишкового тракту у дітей першого півгодя життя / Е.А. Корниенко,

С.С. Кубалова // *Вопросы современной педиатрии*. – 2013. – №12(4). – С. 159–165.

- [6] Хавкин А.И. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / А.И. Хавкин. – М., 2000. – С. 71.
- [7] Марушко Ю.В. Застосування водневого дихального тесту з навантаженням лактозою для визначення транзиторної лактазної недостатності в дітей першого півріччя життя / Ю.В. Марушко, Т.В. Іовіца // *Перинатологія і педіатрія*. – 2013. – №4(56). – С. 81–84.
- [8] Водородный дыхательный тест: первый опыт применения в республике Беларусь / Т.А. Столярова, А.С. Юркевич, Ю.В. Горгун, и др. // *Лечебное дело*. – 2016. – №2(48). – С. 51–57.
- [9] Клиническое применение водородного дыхательного теста в диагностике лактазной недостаточности и синдрома избыточного бактериального роста у детей раннего возраста / Е.А. Корниенко, С.С. Кубалова, М.А. Дмитриенко, И.Э. Джагацпаян // *Педиатр*. – 2013. – Т. 4. – №1. – С. 9–19.
- [10] Дифференцированный подход к лечению лактазной недостаточности и аллергии на белок коровьего молока у детей раннего возраста / Т.А. Филатова, М.Г. Ипатова, Ю.Г. Мухина, П.В. Шумилов // *Детские инфекции*. – 2016. – Т. 15. – №2. – С. 24–30.
- [11] Buzás G. Accuracy of lactase gene C/T-13910 polymorphism and hydrogen breath test in a gastroenterology outpatient clinic: a retrospective study / G. Buzás, F. Fodor, B. Csóky // *Orvosi Hetilap Journal*. – 2016. – №157. – Issue 25. – P. 1007–1012.
- [12] Мухина Ю.Г. Современные аспекты проблемы лактазной недостаточности у детей раннего возраста / Ю.Г. Мухина, А.И. Чубарова, В.П. Гераскина // *Вопросы детской диетологии*. – 2013. – Т. 1. – №1. – С. 50–56.
- [13] Ibbá I. Effects of exogenous lactase administration on hydrogen breath excretion and intestinal symptoms in patients presenting lactose malabsorption and intolerance / I. Ibbá, A. Gilli, M.F. Boi, P. Usai // *BioMed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 680196.
- [14] 1st Rome H2 Breath Testing Consensus Conference Working Group. Methodology and indications of H2 breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference / A. Gasbarrini, G.R. Corazza, G. Gasbarrini, et al. // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics Journal*. – 2009. – Vol. 29. – Suppl. 1. – P. 1–49.
- [15] Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age / Y. Vandenplas, A. Abkari, M. Bellaiche, et al. // *J. of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 2015. – Vol. 61. – Issue 5. – P. 531–537.
- [16] Ghoshal U.C. How to interpret hydrogen breath tests / U.C. Ghoshal // *J. Neurogastroenterol. Motil.* – 2011. – Vol. 17. – Issue 3. – P. 312–7.
- [17] de Lacy Costello B.P. The importance of methane breath testing: a review / B.P. de Lacy Costello, T.M. Ledochowski, N.M. Ratcliffe // *Journal of Breath Research*. – 2013. – Vol. 7. – Issue 2. – P. 78–87.
- [18] Lactose malabsorption testing in daily clinical practice: a critical retrospective analysis and comparison of the hydrogen/methane breath test and genetic test (c/t-13910 polymorphism) results / D. Enko, E. Rezanka, R. Stolba, G. Halwachs-Baumann // *Gastroenterology Research and Practice Journal*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 464382.

#### References

- [1] Tkach, R. V., Nyankovskyy, S. L., Nyankovska, O. S., & Yatsula, M. S. (2016) Chastota funktsionalnykh rozladiv i klinichnykh symptomiv, shcho mozhut buty pov'язani z laktaznou nedostatnistiu v ditei rannoho viku m. Lvova [The incidence of functional disorders and clinical symptoms that may be associated with lactase deficiency in infants of Lviv]. *Zdorov'e rebenka*, 5(73), 60–64. [in Ukrainian]. doi: 10.22141/2224-0551.5.1.73.1.2016.78942
- [2] Shadrin, O. H., Marushko, T. L., Misnyk, V. P., Fysyn, V. M., & Marushko, K. R. (2011) Problemi pytannya perebihu ta terapii laktaaznoi nedostatnosti u ditei rannoho viku [Problematic issues of the course and therapy of lactase deficiency in young children]. *Sovremennaya pediatriya*, 6, 157–161. [in Ukrainian].
- [3] Starostina, L. S., & Yablokova, E. A. (2017) Osobennosti funkcionirovaniya pishchevaritel'noy sistemy u ditei rannego vozrasta: korrekciya naibolee chastykh rasstroystv [Features of the functioning of the digestive system in young children: the correction of the most frequent disorders]. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*, 19, 1335–1340. [in Russian].
- [4] Skvortsova, V. A., Yacyk, G. V., Zvonkova, N. G., Gribakin, S. G., & Borovik, T. E'. (2018) Funktsional'nye narusheniya zheludochno-kishechnogo trakta u ditei grudnogo vozrasta: rol' dietoterapii [Functional disorders of the gastrointestinal tract in infants: the role of diet therapy]. Retrieved from <http://www.lvach.ru/2011/06/15435215/> [in Russian].
- [5] Kornienko, E. A., & Kubalova, S. S. (2013) Rol' laktaaznoi nedostatnosti i kishhechnoy mikroflory v razvitiі funktsional'nykh rasstroystv zheludochno-kishechnogo trakta u ditei pervogo polugodiya zhizni [The Role of Lactase Insufficiency and Intestinal Microflora in Development of Gastrointestinal Dysfunctions in Infants Aged 0–6 Months Old]. *Voprosy sovremennoy pediatrii*, 12(4), 159–165. [in Russian].

- [6] Khavkin, A. I. (2000) *Funkcional'nye narusheniya zheludochno-kishechnogo trakta u detej rannego vozrasta* [Functional disorders of the gastrointestinal tract in young children]. Moscow. [in Russian].
- [7] Marushko, Yu. V., & Iovitsa, T. V. (2013) Zastosuvannia vodnevoho dykhalnogo testu z navantazhenniam laktozoiu dlia vyznachennia tranzytornoj laktaznoy nedostatnosti v ditei persoho pivrichchia zhyttia [Use of hydrogen respiratory dough for determination of transitory lactase deficiency for children of the first half-year of life]. *Perynatolohiia i pediatriia*, 4(56), 81–84. [in Ukrainian].
- [8] Stolyarova, T. A., Yurkevich, A. S., Gorgun, J. V., Portyanko, A. S., & Saevich, N. I. (2016) Vodorodnyj dykhatel'nyj test: pervyj opyt primeneniya v respublike Belarus' [Hydrogen breath test: first experience of using in Belarus]. *Lechebnoe delo*, 2(48), 51–57. [in Russian].
- [9] Korniyenko, Ye. A., Kubalova, S. S., Dmitriyenko, M. A., & Dzha-gatspanyan, I. E. (2013) Klinicheskoe primeneniye vodorodnogo dykhatel'nogo testa v diagnostike laktaznoj nedostatochnosti i sindroma izbytochnogo bakterial'nogo rosta u detej rannego vozrasta [Clinical implication of the Hydrogen Breath Test for diagnosis of lactose intolerance and overgrows syndrome in infants]. *Pediatr*, 4(1), 9–19. [in Russian]. doi: <https://doi.org/10.17816/PED419-15>
- [10] Filatova, T. A., Ipatova, M. G., Mukhina, Yu. G., & Shumilov, P. V. (2016) Differencirovannyj podkhod k lecheniyu laktaznoj nedostatochnosti i allergii na belok korov'ego moloka u detej rannego vozrasta [The Differentiated Approach to the Treatment of Lactase Deficiency and Allergies to Cow's Milk Protein in Infants]. *Detskie infekcii*, 15(2), 24–30. [in Russian].
- [11] Buzás, G., Fodor, F., & Csóky B. (2016) Accuracy of lactase gene C/T-13910 polymorphism and hydrogen breath test in a gastroenterology outpatient clinic: a retrospective study. *Orvosi Hetilap Journal.*, 157(25), 1007-1012. [in Hungarian] doi: 10.1556/650.2016.30462
- [12] Mukhina, Yu. G., Chubarova, A. I., & Gueras'kina, V. P. (2013) Sovremennyye aspekty problemy laktaznoj nedostatochnosti u detej rannego vozrasta [Current problems of lactase insufficiency in infants]. *Voprosy detskoj dietologii*, 1(1), 50–56. [in Russian].
- [13] Ibbá, I., Gilli, A., Boi, M. F., & Usai, P. (2014) Effects of exogenous lactase administration on hydrogen breath excretion and intestinal symptoms in patients presenting lactose malabsorption and intolerance. *BioMed Research International*, 2014, 680196. doi: 10.1155/2014/680196
- [14] Gasbarrini, A., Corazza, G. R., Gasbarrini, G., Montalto, M., Di Stefano, M., Basile, G., et al. (2009) 1st Rome H2 Breath Testing Consensus Conference Working Group. Methodology and indications of H2 breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics Journal*. 29(1), 1–49. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.03951.x
- [15] Vandenplas, Y., Abkari, A., Bellaiche, M., Benninga, M., Chouraqui, J. P., Çokura, F., et al. (2015) Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age. *J. of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 61(5), 531–7. doi: 10.1097/MPG.0000000000000949
- [16] Ghoshal, U. C. (2011) How to interpret hydrogen breath tests. *J. Neurogastroenterol. Motil.*, 17(3), 312–7. doi: 10.5056/jnm.2011.17.3.312
- [17] de Lacy Costello, B. P., Ledochowski, M., & Ratcliffe, N. M. (2013) The importance of methane breath testing: a review. *Journal of Breath Research*, 7(2), 024001. doi: 10.1088/1752-7155/7/2/024001
- [18] Enko, D., Rezanka, E., Stolba, R., & Halwachs-Baumann, G. (2014) Lactose malabsorption testing in daily clinical practice: a critical retrospective analysis and comparison of the hydrogen/methane breath test and genetic test (c/t-13910 polymorphism) results. *Gastroenterology Research and Practice Journal*, 2014, 464382. doi: 10.1155/2014/464382

## Legal consequences, measures of prevention and reduction of medical malpractice cases (errors)

A. O. Yanchuk<sup>1</sup>, A. O. Zaporozhchenko<sup>2</sup>, I. P. Katerynychuk<sup>3</sup>, S. O. Kuznichenko<sup>3</sup>,  
O. V. Kryzhanovska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, <sup>2</sup>National University "Odesa Academy of Law", Ukraine, <sup>3</sup>Odesa State University of Internal Affairs, Ukraine

**Key words:**  
medical errors,  
health care,  
legal liability.

**Pathologia**  
2019; 16 (1), 124–130

**DOI:**  
10.14739/2310-1237.  
2019.1.166616

This work is purposed for determining grounds for legal consequences to come when any medical malpractice cases occur.

**Aim.** The goal of our research is to determine the quintessence features of "medical malpractice (error)" in the medical-legal context so to determine legal consequences of medical malpractices (errors), and to classify the regulatory measures of prevention of medical malpractice cases and reduction of these problems.

**Methods:** Semiotical, synergetic, anthropological and hermeneutical, method of normative comparison.

**Results.** Detecting the current medical malpractice (medical error) becomes more complicated due to its definition as highly significant differences in interpreting, understanding, qualifying, finding defects, medical errors and provability of these failures result in the complication of producing efficient legal guarantees for protection of the patient's right. The peculiarity of this medical and legal substrate is that it synthesizes the awareness of rights and medicine both through the lens of their achievements. A clear vision of such a phenomenon as medical malpractice (error) has a priori significance for the legal environment. It is a sparkling example of the epistemological and gnoseological interaction of the medical and legal knowledge as to determine criteria of medical malpractices is to set "boundaries" of the legal regulation. Here we mean the occurrence of legal consequences in committing an error of law.

**Conclusions.** For a more complete understanding of cases of legal consequences the following regulatory measures of prevention of medical malpractice cases are necessary: establishment of an effective system of prudential internal control of defects in the medical care; specialised training for medical personnel on methods of detection of medical malpractices, their prediction and prompt elimination of possible consequences; instrumental, functional and system-structural measures for reducing risks of medical malpractice, namely: actions for reducing medical errors caused by system determinants (failures, disorders, etc.), actions for reducing medical errors made in prescribing and applying medicaments, medical errors happened because of the medical intervention, surgical in particular; improvement of the legal support of guarantees of patients and doctors rights for a safe delivery of medical aid and prevention of medical errors.

**Ключові слова:**  
лікарська помилка,  
медична допомога,  
цивільно-правова  
відповідальність.

**Патологія.** – 2019. –  
Т. 16, № 1(45). –  
С. 124–130

### Правові наслідки, засоби превенції та редукування лікарських помилок

A. O. Янчук, А. О. Запороженко, І. П. Катеринчук, С. О. Кузніченко, О. В. Крижановська

Робота присвячена визначенню підстав для настання правових наслідків при здійсненні лікарської помилки.

**Мета роботи** – встановлення основних ознак «лікарської помилки» в медико-правовому аспекті, а також класифікація організаційно-правових заходів превенції лікарських помилок і редукування цих проблем.

**Методи.** Комплексно-критичний, семіотичний, синергетичний, антропологічний, герменевтичний, порівняльно-правовий і метод нормативного порівняння.

**Результати.** Визначення наявності лікарської помилки ускладнюється її поняттєво-термінологічною константою. Адаже принципові відмінності в інтерпретації, розумінні, кваліфікації, встановленні дефектів, лікарських помилок і доведенні цих помилок призводить до ускладнення вироблення ефективних правових гарантій захисту прав і пацієнтів, і лікарів. Особливість цього медико-правового субстрату – він синтезує в собі знання як про право, так і про медицину через призму їх досягнень. Чітке уявлення про таке явище, як лікарська помилка має апіорне значення для правового поля. Це яскравий приклад гносеологічної та епістемологічної взаємодії медичних і правових знань. Адаже визначення критеріїв медичної помилки є визначенням «меж» правового регулювання, тобто настання правових наслідків при здійсненні правової помилки.

**Висновки.** Для превенції та правильного кваліфікування правових наслідків лікарських помилок необхідні організаційно-правові заходи: удосконалення системи пруденційного внутрішнього контролю дефектів медичної допомоги; спеціалізована підготовка медперсоналу за технологією виявлення лікарських помилок, їх прогнозування та оперативного усунення можливих наслідків; заходи інструментальної, функціональної та системно-структурної спрямованості зі зниження ризиків скоєння лікарських помилок, а також їх редукування; удосконалення правового забезпечення гарантій прав пацієнтів і лікаря на безпечне й ефективне надання медичної допомоги.

### Правовые последствия, средства превенции и редуцирования врачебных ошибок

A. A. Янчук, А. А. Запороженко, И. П. Катеринчук, С. А. Кузниченко, А. В. Крыжановская

Работа посвящена определению оснований для наступления правовых последствий при совершении врачебной ошибки.

**Цель работы** – определение основных признаков «врачебной ошибки» в медико-правовом срезе, а также классификация организационно-правовых мер превенции врачебных ошибок и редуцирования этих проблем.

**Методы.** Комплексно-критический, семиотический, синергетический, антропологический и герменевтический, сравнительно-правовой, метод нормативного сравнения.

**Результаты.** Определение наличия допущенной врачебной ошибки усложняется ее понятийно-терминологической константой. Принципиально существенные отличия в интерпретации, понимании, квалификации, установлении дефектов, врачебных ошибок и доказуемости этих ошибок усложняет выработку эффективных правовых гарантий защиты прав и пациентов, и врачей. Особенность этого медико-правового субстрата – он синтезирует в себе знание как о праве, так и о медицине через призму их достижений. Четкое представление о таком явлении, как врачебная ошибка имеет априорное значение для правового поля. Это яркий пример гносеологического и эпистемологического взаимодействия медицинских и правовых знаний. Определение критериев медицинской ошибки является определением «границ» правового регулирования, т. е. наступлением правовых последствий при совершении правовой ошибки.

**Выводы.** Для превенции и правильной квалификации правовых последствий врачебных ошибок необходимы организационно-правовые меры: усовершенствование системы пруденциального внутреннего контроля дефектов медицинской помощи; специализированная подготовка медперсонала по технологии выявления врачебных ошибок, их прогнозирования и оперативного устранения возможных последствий; меры инструментальной, функциональной и системно-структурной направленности по снижению рисков совершения врачебных ошибок и по редуцированию врачебных ошибок; усовершенствование правового обеспечения гарантий прав пациентов и врача на безопасное и эффективное оказание медицинской помощи.

**Ключевые слова:**  
врачебная ошибка,  
медицинская  
помощь,  
гражданско-  
правовая  
ответственность.

**Патология. – 2019. –  
Т. 16, № 1(45). –  
С. 124–130**

Today, we have a common opinion among the representatives of the legal and medical communities as regards the determination and significance of medical malpractices (errors); there is also no official statistics of legal offences in the field of medical aid, because of which patients had their health harmed.

Presently, it is common when the mass media publicizes practical cases that are often based on the preliminary data received from the law enforcement agencies. At the legal level, there is no defined notion and signs of “medical malpractice cases (medical errors)”, and a clear definition of this term is absent in the medical literature, too. “Medical malpractice (error)” is an unintended misconception of doctors (or any other healthcare practitioners) in the course of their professional activities if negligence and unfairness are excluded herewith.

In compliance with Article 12 of the International Covenant on Economic, Social and Cultural Rights, every man has a right for getting the medical aid and care in case of his illness. It is an inalienable human right reflected in Part One of Article 49 of the Constitution of Ukraine, which accentuates, that everyone has a right for his health protection, medical aid and medical insurance.

In the medical reform environment in our country the medical care problems come to the boil today. The number of so-called “defects in the medical care”, which is just partially reflected by the number of judicial proceedings, actualizes this problem even more and determines the importance of scientific understanding of the meaning, nature, types and peculiarities of this complex term. The type of “defects in the medical care”, which is the most difficult to identify, is another medical-legal notion – “medical malpractice”. Therefore, the most complicated problem in the medical law theory is a legal qualification of medical care defects.

The problem of “defects in the medical care” is closely related to the peculiarities of the liability incurrence in the healthcare sphere as a question about liability may arise according to the results of determining consequences of the medical care delivery. Cases from the medical practice, which have an unfavourable outcome, are subject to the evaluation concerning the determination of a type of de-

fects, every of which causes various legal consequences. Regulatory voids, law enforcement collisions in the judicial practice tellingly show the problems and necessity to apply the complex approach in their resolution.

The complexity of the legal regulation of this problem also lies in the fact that far from every patient seeks protection of his/her rights when an inadequate medical aid is delivered. People consider it related to the poor legal culture of medical activities. In Ukraine, the percentage of winning cases on litigations with doctors is extremely low. The public protection of doctors may also be a cause of it. This protection consists in the official recognition of “abdication of liability”. It is related to the fact the labour legislation is on side of their protection, and abdication of liability should be just excluded with the opportunity to appeal to a court. If a person doubts the quality of services, he/she may decline them in advance. For getting a legally correct distinction of legal offences from “allowable professional errors in the medical activities”, first, it is necessary to determine the notion “medical malpractice (medical error)” in the medical law.

The topic selected for our research is scientifically relevant and is an object of investigation for the national and foreign representatives of the medical and legal science, among which are S. Antonov, V. Viter, I. Davydovskiy, T. Zavarza, I. Ogarkov, R. Maidannyk, Ya. Radysh, A. Savytska, I. Seniuta, Yu. Sizyntsova, S. Stetsenko, R. Titikalo and many others. The scientific publications show this problem fragmentally: the concept and types of medical malpractices (errors) are revealed at most, but legal consequences, measures of prevention and reduction of medical malpractice cases (errors) requiring a thorough investigation and further regulation stay almost uninvestigated.

## The goal

The goal of our research is to determine the quintessence features of “medical malpractice (error)” in the medical-legal context so to determine legal consequences of medical malpractices (errors), and to classify the regulatory measures of prevention of medical malpractice cases and reduction of these problems.

## Materials and methods

While studying the notion of medical malpractice (medical error), the authors based on the fundamental of the complex critical method of existing viewpoints on the medical malpractice nature.

The authors used some methodological approaches, such as semiotical, synergetic, anthropological and hermeneutical approaches. There are some examples from the court practice given in the work, and it makes it possible for us to show not just a theoretical, but a practical aspect of this problem as well.

## Results

The main problem of defining the notion “medical malpractice (medical error)” consists in that there is no clear definition in the legislation of Ukraine, so the focus is made on the doctrine of medical law.

A. A. Ponkina [1] shows the quintessence of medical malpractices (medical errors) and their qualifying and deontological features in the following approaches: 1) Approach based on the understanding and interpretation of medical errors as innocent fair actions of doctors (I. V. Davydovskiy; O. Yu. Aleksandrova, N. F. Gerasymenko, Yu. I. Grygoriev and I. K. Grygoriev; I. F. Ogarkov; S. G. Stetsenko; S. S. Shevchuk; I. Ya. Seniuta; O. Zairants, L. Kakturskiy, A. Vertkin and E. Vovk; P. V. Mazyn and V. P. Mazyn; many foreign authors); 2) Approach based on the dual understanding of medical malpractices – it is asserted that such errors may be both “legitimate and innocent” and illegitimate (A. S. Mnatsakanian; M. N. Maleina; V. T. Palchun and others); 3) Approach based on the understanding and interpretation of medical errors as torts, as wrongdoing (Ya. Leibovych; R. K. Rigelman; A. V. Kudakov; A. V. Tykhomirov and others). We should agree with A. A. Ponkina that such essential differences in interpreting, understanding, qualifying, detecting medical defects and provability of these defects result in the complicated elaboration of legal guarantees for protecting the patient’s rights.

By analysing the available approaches to interpreting the legal-semantic understanding of “medical malpractices (medical errors)” through the lens of “weaknesses” and “strengths” of every approach, it should be pointed out that “medical malpractice (error)” is an occurred or eventual situation came or may come as a result of negligence or late actions of a doctor, medical personnel, when he/they shall deliver medical aid to a patient or provide him with medical services, which subsequently cause events unfavourable for a patient (health damages, death, etc.), but are characterised as innocent actions.

The medical error specifics is the doctor’s inability to anticipate and subsequently predict coming consequences of a delivered medical aid and/or provided medical service (only medical service must be considered as an element of the medical care structure). When excluding negligence, carelessness, unfairness, a doctor’s error is considered as a unintentional harming a patient and/or a present random factor, which was difficult to foresee, but it results in the coming adverse consequences.

Medical error is “a child” of medical law. This area of law is specific as it synthesises the medical and legal

knowledge. Therefore, the approach to understanding the nature of medical malpractices (medical errors) has a dual role: legal and medical. Medically speaking, a human body has not been entirely studied by the medicine yet, and it is not possible due to appearing new diseases, modification of viruses, etc., so a medical worker is not able to foresee and predict a 100 % treatment outcome as every human body is unique. As a result, a medical malpractice (error) is an outcome of the concurrence of circumstances or imperfection of the medicine and technologies, but not of a doctor’s negligent, irresponsible attitude to his/her duties. That means that this error is not caused by a medical worker, and there is no offence against the laws, so legal consequences do not come.

Legal practitioners do not agree with the aforementioned approach. Most of them take a cold accusatory stance. However, there is no single viewpoint as regards the qualification of medical errors among legal practitioners though. In some cases, a medical malpractice case (medical error) is deemed just as a guilty action of a medical worker that caused a patient’s health damage, and as an accidental caused damage in other cases. Sometimes, this error is considered as a circumstance that can slacken a doctor’s responsibility. Thus, here is a thesis of supporters of “the legal aspects”: medical errors are careless, unfair, negligent actions and maneuvers in delivering medical aid (services), an outcome of which is an injury or death of a patient. It means that medical malpractice cases (medical errors) always invoke civil liability. But from this perspective, in our opinion, a doctor’s role is impinged in the convergent process “doctor ↔ patient”.

Causes of medical malpractice cases (medical errors) may be subjective (depending on professional skills and knowledge of a doctor) and objective (depending on reformulated “insights” of the medical science in treatment methods of diseases and so forth). Subsequently, they arise out of “the medical science imperfection”. From the viewpoint of the synergetic paradigm, defects and improvements present a path of perfection.

The law of Sweden states that “physical harm” means sufferings, injuries or moral harm, and diseases and death similarly, according to the current Law, which might be averted, or appropriate measures might be taken in the patient’s contacting with the healthcare system. Grievous bodily harm to a patient means that consequences caused by this are constant and cannot be eliminated, or it caused a significant increase of a patient’s needs for a continuing medical care, or if a patient died [2]. We should remember that the kind of professional responsibility is legal liability for causing harm to the patient’s health.

Legal liability is highly specific. First, legal liability depends on the case circumstances; second, it depends on the fact existence and degree of harm to the patient’s health, which are identified by taking into account causal connections, actions or inactions of a doctor and medical personnel, what becomes more complicated due to the determination of these connections (for instance, a patient did not follow all recommendations, or a doctor did not exercise a patient’s right for the voluntary informed consent to the full extent); third, “adequacy” of a situation, relevance, justifiability and promptitude of actions of a doctor, medical personnel or a patient himself should be

considered; fourth, a decision on applying legal liability is made by a court on grounds of circumstances of a case, which are reviewed on merits.

The judicial practice in Ukraine contains examples when medical workers are made liable for deeds done that are qualified as “medical malpractices (errors)”. For example, the Court of Appeal of Dnipro Region, having heard a civil case, in an open session, on the appeal on the claim by PARTY\_2 third parties: PARTY\_3, PARTY\_4 about the compensation of pecuniary and non-pecuniary damages, passed a judgment and left the decision of the first instance unchanged; the claim of PARTY\_2 was sustained partially – a compensation in an amount of 10.000 UAH was paid by the defendant in her favour; 8 UAH 50 Kop. – expenses for paying the state duty; 30 UAH – costs for the IT support of the case hearing; 150 UAH – services of the lawyer. As indicated in the judgment, “the Chamber deems that the first instance court justifiably noted that the chest X-ray reading was made unprofessionally, a medical malpractice case (medical error) happened to be, which occurred because of an undiagnosed present mass in the mediastinum, which was caused by the emotional distress overcome by the plaintiff; but it was mistakenly based on the circumstances happened to be in 2002, to which the court applied the provisions of Article 1172 of the Civil Code of Ukraine” [3].

Attention should be paid to the semiotic difference between the concepts of “*medical error*” and “*defect of medical care*”. These concepts are not identical. To tell the difference between the said concepts, semiotic interpretation of the word should be addressed first: a *defect* is a deficiency, shortcoming or flaw, while an *error* is an unintentional deviation from correct actions through forgetfulness, wrongness of behaviour, thoughts or acts. As a result, when implementing these concepts in the medical plane one can conclude that a *defect* of medical care means a failure or poor quality of medical care due to a violation of the process of diagnostics, medical care organization or treatment, which led or may lead to the patient's health deterioration or death. In the scientific literature, the concepts of “defect of medical care” and “improper provision of medical care” are sometimes identified.

Thus, when separating the concepts of *medical error* as the unintentional harm caused to the patient by a particular person, a doctor, and *defect of medical care*, it is important to note that the latter is most often caused by defects in the multi-stage medical care provision in an institution, i.e. not through the fault of a particular doctor, but often because of the auxiliary staff or the management of the institution that have not insured full provision of medical care technically or medicamentally on time. It is reasonable to state that the administrative or civil responsibility may intersect in terms of causal connections and circumstances of the happened fact in the structure of distribution of conditions for the legal liability incurrance due to the malpractice or defect in the medical care. It is a common phenomenon in the cases when an iatrogenic defect in the medical care combines one or several medical errors and medical negligence, carelessness, which may become more complicated by the present technical errors of the medical equipment and patient's actions. It is obvious that criminal liability may be im-

posed on a doctor and (or) other medical personnel for actions caused a defect in the medical care in cases of negligence, carelessness and other actions that caused harm to the patient's life and health and have features of a crime, what is prescribed by Articles 115–145 of the Criminal Code of Ukraine [4].

In studying the matter of legal consequences of medical malpractice cases (errors), we pay our attention to the analysis of legal consequences of a defect in the medical care in terms of its compensation. Unfortunately, today the legislation of Ukraine in the healthcare aspect does not contain any special prescriptions about legal consequences of medical malpractice cases (errors), and the main legal enactments as Law of Ukraine (hereinafter – “the LU”) “Fundamentals of the healthcare legislation”, LU “On transplantation of human anatomic materials”, Criminal Code of Ukraine, Civil Code of Ukraine do not contain necessary specific provisions, but just declaratively cover the problem of legal consequences of medical malpractice cases and medical errors.

Article 1172 of the Civil Code of Ukraine envisages a right to file a lawsuit for compensation of harm inflicted on the person's life and/or health, when medical aid is delivered, against medical institutions, where a doctor worked or works, who caused harm to the patient's health and/or life [5]. Compensation of harm caused to the life and/or health of citizens shall not release medical and pharmaceutical workers from their liability, as prescribed by the Ukrainian laws. Nevertheless, the current regulations of the civil legislation, administrative and criminal laws do not ensure the filling of the legal gaps. Unfortunately, there is also no appropriate legal regulation of legal consequences of medical malpractice cases (medical errors) in the national subordinate legislation. Thus, the Ukrainian laws are unsatisfactory and partially fix guarantees of patients' rights for being protected from medical malpractices and medical care defects in general.

In compliance with Part 2 of Article 1166 of the Civil Code of Ukraine, a person caused harm shall be released from compensation of harm if it proves that harm is not caused by its fault, but the Law may herewith stipulate this compensation of harm, when there is no guilt of a causer of harm [5]. Just in this case, liability of healthcare institutions for violating rights in the healthcare aspect is determined by a caused harm to the life and/or health while delivering medical aid to patients. Nevertheless, this very article does not specify a scope, nature and procedures on setting legal consequences, civil liability; it just refers to the fact that this liability comes “according to the laws of Ukraine”.

By analysing the current laws, we may come to the conclusion that legal consequences occur in the form of civil liability, compensation of harm caused to a patient, for healthcare institutions where harm was caused to the patient's health and/or life as a result of a defect in the medical care, i.e. medical malpractice. But herewith, a doctor shall prove that harm was not caused by his fault. Medical malpractice cases of a particular doctor, which are frequently registered by the administration of healthcare institutions, will be a reason for rejecting his services. It should also be considered what measures were taken by a healthcare institution for reducing and eliminating negative consequences of a medical error for

the patient's health by taking into account their relevance and promptitude. A healthcare institution shall design and implement a set of measures of prevention and reduction of medical malpractice cases.

For determining legal consequences, it is very important to consider regulatory measures for preventing medical malpractices and reducing this problem.

For reducing, preventing and correcting medical errors, the healthcare system should generalise, systemise them in the retro- and perspectives so to reduce the problem of such a defect in the medical care as medical malpractice (error).

Here a question comes: how to do this? Due to the unattainability of a result of a thorough study of the biological and social human nature, errors will be inevitable. The foreign experience shows that reducing problems of medical malpractices and defects in the medical care is quite possible in general. For a more advanced result, on the basis of scientific researches, it is necessary to engineer, structure, organise and implement a set of measures aimed at eliminating, preventing defects in the medical care. Engineering of a strategy for implementing the prevention and reduction procedures with defects in the medical care shall be based on the fundamental understanding of the medical malpractice (error) nature and multi-vector nature of generation of a system complex of different preventing and reducing measures. By taking into account the existing scientific researches in this field and approaches presented in them [6], we suggest identifying the following blocks of measures and procedures on the basis of the criterion "purposefulness":

*Purpose 1.* To form a powerful system of prudential internal control of defects in the medical care. In our opinion, it is the most effective way to prevent medical malpractices and errors.

In introducing complex measures to the prevention of medical malpractice cases (errors), an effective way is to create such systems that will assist in constricting incorrect actions, cognitive errors of medical workers before their causing harm to the patient's health.

Prudential internal control of medical malpractices is a predominant preventive control that makes it possible to identify, register, analyse and predict potential opportunities, risks of violations, complications and problems in the activities of medical establishments and doctors, which cause or may cause harm to the health and life of patients as a result of medical malpractices (errors) or cases leading to this; this control includes a system monitoring of causes and conditions of medical malpractices (errors) and implementation of regulatory measures and a mechanism for "catching" (preventive correction and neutralisation of corresponding conditions and causes) medical errors before their occurrence or for reducing harms caused by medical malpractices and errors [7].

The system of measures of prudential internal control of defects in the medical care shall be formed on the basis of sanitation for ensuring the patients' safety, value of the delivered medical aid, but not on the basis of a causal, restriction approach (i.e. a focus is made on transition from the general to the specific, and not from the specific to the general).

It shall include the following:

- creation of a unified information space (complex data banks), where reports of detected medical malpractice cases, analysis and evaluation of causes, factors of their occurrence will be given. It might assist in designing a single strategy for their elimination. For instance, with the assistance of the Swiss Medical Association (Fédération des médecins suisses), a unified system of reports about the most significant incidents in the healthcare that covers all the aspects of medicine have already been created [8];

- creation of a system for identifying anticipated causes and conditions of occurring medical defects, medical errors in order to forecast, detect and eliminate ("constrict") them;

- designing of special procedures for "constricting" ("catching") and eliminating consequences of medical malpractice cases (medical errors) that have already come.

*Purpose 2.* Specialised training of medical personnel in techniques for detecting medical malpractices, their forecasting and prompt elimination of possible consequences. This complex should include the following actions:

- development of training programs for medical personnel on the subject of the medical malpractice nature, advanced training of medical officers by introducing to the study process modern methods of detection and correction of medical errors (medical malpractice), their threat assessment, study of effective ways of reaction, firstly, through the lens of "practical value" (e.g. modelling of scenarios and situations of medical malpractice cases and errors), and not just theoretically: arrangement of a system control in identifying competences of medical personnel;

- advanced training with special exercisers and computer simulation software for medical malpractice cases.

*Problems.* Mistakes are a dole of our existence. As Paul A. Glack states, it is impossible to completely advert or minimise the characteristic human feature to make mistakes as regards medical malpractice cases and errors just by making efforts in fulfilling personal professional duties on the part of every particular doctor. The system of medical services should be arranged so that it could complicate, reduce chances of undue actions to be done, and, in contrast, increase opportunities of due actions to be done by applying computer technologies [9]. The statement by I.V. Davydovskiy that "a number of errors (medical malpractice cases) rather increase than fall in the course of advanced trainings" [10] has a real matter of fact in a wider study, though it causes doubts due to its brevity and paradoxical features. E. Yu. Lozynskiy, I. I. Shmykova and M. E. Lozynskiy interpret this viewpoint in the following way: "a qualified doctor has to think a lot over difficult patients, who were often treated and handled by many other specialists before him" [11]. However, the researches of numerous medical malpractice cases and errors, which were held in 2009, showed that most young doctors committed a small number of medical errors as compared with a total number of medical officers [12]. Furthermore, as estimated by Yu. V. Kaminskyi and V. S. Tymoshenko, a great portion of a total number of iatrogenic pathologies consists of medication side effects registered in 10–20 % of indoor patients. The risk of medical errors becomes higher due to the sophistication of medical technological facilities either [13].



*Purpose 3.* Instrumental, functional and system-structural procedures for minimising risks of medical malpractices (errors).

This block of actions is classified in accordance with a medical specialisation (medical errors caused by various system determinants, for instance, disorders, failures; application and prescription of medications; medical errors occurred as a result of medical intervention – surgical, in particular).

3.1. Measures for reducing medical errors caused by system determinants (disorders, failures, etc.):

- creation of unified standardised medical aid algorithms;
- designing of supplementary control “fast filling” reports;
- development and updating of the database of a patient’s information reflected in the patient’s electronic medical chart (anamnesis, treatment methods, medication, substance abuse, lifestyle);
- improvement of the system of access of medical workers to necessary medical information;
- creation of new regulations, procedures for medical personnel to acquire behavioural skills for situations that tend to cause medical errors;
- training of patients and/or persons looking after them to properly handle the medical equipment;

3.2. Measures for reducing medical errors happening when certain medications are prescribed and applied:

- arrangement of the medical personnel advanced training in the field of pharmacology and application of medications;
- creation of an automated information system of compatibility testing of medicaments and drugs prescribed to patients;
- increase in control by both the government and parties involved of the quality of medicaments and drugs;
- creation of a system of control of prescription and delivery of medicaments, management of medication records of patients, where some detailed information of side effects of medicaments and drugs, individual allergic reactions of patients could be indicated;
- opening of a 24/7 hotline pharmaceutical hotline.

*Problems.* Basing on the principle of pluralistic monism, an excessive fragmentation and detailing of medical errors, which are set, for example, by means of unification and standardization, may lead to an opposite result. As new approaches, evaluations and/or views may provoke critics or limitation for scientifically substantiated and reasonable and initiative actions of doctors, which may lower their effectiveness. But, in doing so, when classifying medical errors, one should also consider “factors” affecting results. The problem consists in the fact that these “factors” can be both constant and variable. Moreover, in an ideal scenario, a doctor will never be able to predict and fully consider these “factors” as a human body is a living system with its functional features. That is why a doctor needs to monitor and detect principles of displayed constant “factors” (invariables). Herewith, as indicated by Ramon Masia Gomes, there is always a risk of failures of any barrier of this system for various reasons in actual life: it may be either errors of the equipment, which is a technological barrier, or human errors influ-

encing the correct functioning, for example, of a barrier formed by other participants of a medical procedure [14]. Medicine is not a STEM field, but it is “a creative arena”; for example, the doctor’s current knowledge, skills and experience may “not work” for a new patient, so the situation will demand from him (doctor) showing initiative, be “creative” so to break the mould and conventional approaches [15].

We should also mention “hidden pitfalls” of this aspect. As reasonably proved by N. de Trizio, B. Vergari, doctors “are mentioned” in a so-called “defensive medicine” with endless reports, excessive controls impeding a priori estimate of possible accusations as unfounded to the prejudice of patients and public expenditures. This situation is common for all the western countries as the USA and European countries face similar problems [16]. We think that ignorance and, subsequently, inadequate regulation of the complex of these problems may result in a complete “collapse” of the healthcare system.

*Purpose 4.* Improvement of the legal support of guarantees of patients’ and doctors rights for a safe delivery of medical aid and prevention of medical errors.

*Problems.* The Law “Basis of the legislations of Ukraine about healthcare” No. 2978-XII of 03.02.1992 incompletely envisages guarantees of patients as compared with the European standards in this area; first, it is referred to the guarantees adopted by the European Charter of Human Rights (European Union), European Convention on Human Rights and biomedicine (Council of Europe) [17]. Due to the relevance of this sphere of the legal life, it would be logical for the Supreme Court of Ukraine to carry out an objective, multi-vector analysis of legal proceedings in the matter of harm caused to the human life and health in the context of defects in the medical care, and to take a single legal stance in these problems.

## Conclusions

1. Constant control and registration of medical malpractice cases and errors, their public discussion in the professional community may assist in increasing the medical aid quality. It should be pointed out that legal relationships in the medical field, considering their specifics, have a number of peculiarities and distinctions, and require special standards in the legislation that could govern relations among public healthcare authorities, healthcare institutions, medical workers, patients, a necessary reformation of laws in the healthcare realm and amendments made in a number of statutory and regulatory enactments. If to treat this matter optimistically, we should rely on the experience of certain European countries and adopt a Medical Code.

2. The characteristic features of medical malpractices (errors) are as follows: civil liability according to results of the legal qualification of deeds; a fine line with professional crimes and distinctions in the size of harm: in crimes – severe consequences, which are an evaluative notion, but usually stipulate death, grievous and medium-gravity bodily harm. Furthermore, distinctions consist in integrity of medical errors, which is not related to a negligent and dishonest attitude to professional duties. An important

factor in the legal qualification of defects in the provision of medical care is the presence of a causal link between the actions of the medical worker and the negative consequences for the patient's health.

3. For a more complete understanding of cases of legal consequences, we suggest the following regulatory measures of prevention of medical malpractice cases: establishment of an effective system of prudential internal control of defects in the medical care; specialised training for medical personnel on methods of detection of medical malpractices, their prediction and prompt elimination of possible consequences; instrumental, functional and system-structural measures for reducing risks of medical malpractice, namely: actions for reducing medical errors caused by system determinants (failures, disorders, etc.), actions for reducing medical errors made in prescribing and applying medicaments, medical errors happened because of the medical intervention, surgical in particular; improvement of the legal support of guarantees of patients and doctors rights for a safe delivery of medical aid and prevention of medical errors; development of a trust, constructive communication of a doctor and a patient; reconsideration of the general attitude of the medical and civil societies to the problem of medical malpractice; increasing the level of legal and medical literacy both by patients and doctors. In each said aspect, we analyse the problems with the proposals on reducing and/or narrowing the occurrence of legal consequences when medical errors are made.

**Prospects of the future researches.** The research data may be used both theoretically and practically so to elaborate and implement recommendations on reducing medical errors in the medical legal environment.

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

Надійшла до редакції / Received: 22.02.2019  
Після доопрацювання / Revised: 28.03.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 02.04.2019

#### Information about authors:

Yanchuk A. O., PhD, Doctor of Law, Professor, State Secretary of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv.  
Zaporozhchenko A. O., PhD, Associated Professor at the Department of State and Law, National University "Odesa Academy of Law", Ukraine.  
Katerynchuk I. P., PhD, Doctor of Law, Rector, Odesa State University of Internal Affairs, Odesa, Ukraine.  
Kuznichenko S. O., PhD, Doctor of Law, Professor, Odesa State University of Internal Affairs, Odesa, Ukraine.  
Kryzhanovska O. V., PhD, Lecturer at the Department of Public Administration, Odesa State University of Internal Affairs, Ukraine.

#### Відомості про авторів:

Янчук А. О., д-р юрид. наук, професор, державний секретар, Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ.  
Запорожченко А. О., канд. юрид. наук, доцент каф. держави та права, Національний університет «Одеська юридична академія», Україна.  
Катеринчук І. П., д-р юрид. наук, доцент, ректор, Одеський державний університет внутрішніх справ, Україна.  
Кузниченко С. О., д-р юрид. наук, професор, проректор, Одеський державний університет внутрішніх справ, Україна.

Крижановська О. В., канд. юрид. наук, викладач каф. публічного управління та адміністрування, Одеський державний університет внутрішніх справ, Україна.

#### Сведения об авторах:

Янчук А. А., д-р юрид. наук, профессор, Государственный секретарь, Министерство здравоохранения Украины, г. Киев.  
Запорожченко А.А. канд. юрид. наук, доцент каф. государства и права, Национальный университет «Одесская юридическая академия», Украина.  
Катеринчук И. П., д-р юрид. наук, доцент, ректор, Одесский государственный университет внутренних дел, Украина.  
Кузниченко С. А., д-р юрид. наук, профессор, проректор, Одесский государственный университет внутренних дел, Украина.  
Крыжановская А. В., канд. юрид. наук, преподаватель каф. публичного управления и администрирования, Одесский государственный университет внутренних дел, Украина.

#### References

- Ponkina, A. A. (2012). *Vrachebnaya oshibka v kontekste prav cheloveka [Medical error in the context of human rights]*. Moscow. [in Russian].
- (2010). *Patientsäkerhetslag*. Retrieved from [http://www.riksdagen.se/sv/dokument-lagar/dokument/svensk-forfattningssamling/patientsakerhetslag-2010659\\_sfs-2010-659](http://www.riksdagen.se/sv/dokument-lagar/dokument/svensk-forfattningssamling/patientsakerhetslag-2010659_sfs-2010-659)
- Yedynyi derzhavnyi reistr sudovykh rishen [The only state register of court decisions]*. Retrieved from <http://reyestr.court.gov.ua/> [in Ukrainian].
- (2001). *Kryminalnyi kodeks Ukrainy [The Criminal Code of Ukraine]*. *Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy*. Kyiv: Parlam. vyd-vo. [in Ukrainian].
- (2003). *Tsyvilnyi kodeks Ukrainy [Civil Code of Ukraine]*. *Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy*. Kyiv: Parlam. vyd-vo. [in Ukrainian].
- MacCourt, D., & Bernstein, J. (2009) Medical error reduction and tort reform through private, contractually-based quality medicine societies. *American Journal of Law & Medicine*, 35(4), 505–61.
- Stucky, E. R. (2003) Prevention of Medication Errors in the Pediatric Inpatient Setting. Committee on Drugs and Committee on Hospital Care of the American academy of pediatrics. *Pediatrics*, 112(2), 431–6.
- Voropaeva, L. S., & Parkanov, N. Yu. (2015). *Vrachebnye oshibki: e'ticheskiy aspekt [Medical errors: ethical aspect]*. *Byulleten' medicinskikh internet-konferencij*, 5, 569. [in Russian].
- Jalal, Poorolajal, Shirin, Rezaie, & Negar, Aghighi (2015). Barriers to medical error reporting. *Int J Prev Med.*, 6(1), 97. doi: 10.4103/2008-7802.166680
- Pigolkin, Yu. I., Morozov, Yu. E., & Globa, I. V. (2018) Kompetenciya vracha i yurista v ustanovlenii vrachebnoj oshibki [Competence of a doctor and a lawyer in establishing a medical error]. *Aktual'nye problemy mediciny i biologii*, 2, 58–59. [in Russian]. doi: 10.24411/2587-4926-2018-10018
- Klimenko, O. V. (2016) *Derzhavne rehuliuвання медичної практики в Україні: henezys i tendentsii rozvytku (Dis... dokt. med. nauk)*. [State regulation of medical practice in Ukraine: genesis and development trends Dr. med. sci. diss.] Kyiv. [in Ukrainian].
- Ludupova, E. Y. (2016) *Medicinskie oshibki. Literaturny obzor [Medical errors. Literature review]*. *Bulleten' Rosszdravnadzora*, 2, 6–15. [in Russian].
- Kalinin, R. E., & Barinov, E. H. (2018) Rol' sudebno-medicinskoj e'kspertizy materialov ugovnogo dela v opredelenii e'lementov i priznakov «yatrogennogo» prestupleniya [Role of forensic medical examination of materials of criminal case in defining the elements and signs of "iatrogenic" crime]. *Zhurnal sudebnoj mediciny*, 2, 30–35. [in Russian].
- Maciá Gómez, R. El error de diagnóstico y el error de tratamiento médico en el derecho español. Retrieved from [http://www.porticolegal.com/pa\\_articulo.php?ref=333](http://www.porticolegal.com/pa_articulo.php?ref=333)
- Khubulava, G. G. (2016). O filosofii vrachebnoj oshibki [On the philosophy of «Doctor's Error»]. *Medicinskij al'manakh*, 1(41), 26–29. [in Russian]. doi: 10.21145/2499-9954-2016-1-26-29
- Nevezgodina, E. L. (2015) *Yuridicheskaya kvalifikaciya medicinskoj oshibki yeye pravovye posledstviya [Legal qualification of medical error and legal implications]*. *Vestnik Omskogo universiteta. Seriya «Pravo»*, 2(43), 137–144. [in Russian].
- Holquist, C. Medication errors: an FDA perspective. European Union Regulatory Workshop on Medication Errors. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/presentation/2013/03/WC500139886.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/presentation/2013/03/WC500139886.pdf)

## Раковые стволовые и мезенхимальные стволовые клетки в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы

В. А. Туманский\*<sup>A,C,E,F</sup>, И. С. Коваленко<sup>B-E</sup>

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

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

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (ПАПЖ) – один из наиболее агрессивных видов рака, устойчивый к лучевой и химиотерапии, в его развитии большое значение имеют плохо изученные раковые стволовые клетки (РСК) и мезенхимальные стволовые клетки (МСК).

**Цель работы** – анализ данных современной научной литературы о роли стволовых клеток в прогрессии ПАПЖ.

Пул стволовых клеток ПАПЖ гетерогенен, состоит из РСК и МСК, которые формируют в опухоли ниши стволовых клеток. В самообновлении и дифференцировке панкреатических РСК важную роль играют три сигнальных молекулярных пути: Wnt, Sonic hedgehog и Notch. РСК обладают способностью к самообновлению, симметричному и асимметричному делению, частичной дифференцировке, а также к существованию, самообновлению и дифференцировке вне первичной опухоли. РСК обеспечивают рост и прогрессию опухоли, инвазивность и метастазирование ПАПЖ, а также поддерживают ее химиорезистентность. МСК костномозгового происхождения в поджелудочной железе не участвуют в эпителиальном канцерогенезе, но при взаимодействии с другими клетками микроокружения оказывают на опухоль как стимулирующее, так и ингибирующее влияние. МСК могут выступать в роли промоторов онкогенеза посредством трансформации в канцер-ассоциированные фибробласты, местной иммуносупрессии, стимуляции опухолевого неоангиогенеза, блокады апоптоза раковых клеток, участия в эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании. МСК могут выступать в роли супрессоров онкогенеза посредством стимуляции иммунноклеточной инфильтрации опухолевой ткани, подавления функции АКТ- и Wnt-сигнальных путей, индукции остановки клеточного цикла и запуска апоптоза раковых клеток, угнетения опухолевого неоангиогенеза.

**Выводы.** РСК играют ключевую роль в реализации агрессивных свойств ПАПЖ; МСК воздействуют как на РСК, так и на собственно раковые клетки ПАПЖ, оказывая на опухоль и стимулирующее, и ингибирующее влияние. Данные о роли МСК в прогрессии ПАПЖ пока неоднородны, что обуславливает актуальность дальнейшего изучения этого вопроса.

### Ключевые слова:

протоковая аденокарцинома поджелудочной железы, новообразования поджелудочной железы, неопластические стволовые клетки.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 131–138

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166476

\*E-mail: v.tumanskiy@gmail.com

## Ракові стовбурові та мезенхімальні стовбурові клітини у протоковій аденокарциномі підшлункової залози

В. О. Туманський, І. С. Коваленко

Протокова аденокарцинома підшлункової залози (ПАПЗ) – один із найбільш агресивних видів раку, стійкий до променевої та хіміотерапії, в його розвитку велике значення мають погано вивчені ракові стовбурові клітини (РСК) і мезенхімальні стовбурові клітини (МСК).

**Мета роботи** – аналіз даних сучасної фахової літератури про роль стовбурових клітин у прогресії ПАПЗ.

Пул стовбурових клітин ПАПЗ гетерогенний, складається з РСК і МСК, які формують у пухлині ніші стовбурових клітин. У самооновненні та диференціюванні панкреатичних РСК важливу роль відіграють три сигнальні молекулярні шляхи: Wnt, Sonic hedgehog і Notch. РСК мають здатність до самовідновлення, симетричного та асиметричного поділу, часткового диференціювання, а також до існування, самооновлення та диференціювання поза первинною пухлиною. РСК забезпечують розвиток і прогресію пухлини, інвазивність і метастазування ПАПЗ, а також підтримують її хіміорезистентність. МСК кістковомозкового походження в підшлунковій залозі не беруть участі в епітеліальному канцерогенезі, але при взаємодії з іншими клітинами мікрооточення надають пухлині як стимулювальний, так і гальмувальний ефект. МСК можуть відігравати роль промоторів онкогенезу шляхом трансформації в канцер-асоційовані фібробласти, місцевої імуносупресії, стимуляції пухлинного неоангіогенезу, блокади апоптозу ракових клітин, участі в епітеліально-мезенхімальному переході і метастазуванні. МСК можуть також виступати як супресори онкогенезу шляхом стимуляції імунноклітинної інфільтрації пухлинної тканини, пригнічення функції АКТ- і Wnt-сигнальних шляхів, індукції зупинки клітинного циклу та запуску апоптозу ракових клітин, пригнічення пухлинного неоангіогенезу.

**Висновки.** РСК відіграють ключову роль у реалізації агресивних властивостей ПАПЗ; МСК впливають як на ракові стовбурові клітини, так і на власне ракові клітини ПАПЗ, надаючи пухлині і стимулювальний, і гальмувальний ефект. Відомості про роль МСК у прогресії ПАПЗ поки неоднорідні, що зумовлює актуальність вивчення цього питання надалі.

### Ключові слова:

протокова аденокарцинома підшлункової залози, новоутворення підшлункової залози, неопластичні стовбурові клітини.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 131–138

## Cancer stem cells and mesenchymal stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma

V. O. Tumanskiy, I. S. Kovalenko

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most aggressive types of cancer and chemotherapy resistant cancer, in the development of which poorly studied cancer stem cells (CSC) and mesenchymal stem cells (MSC) are of great importance.

**Key words:**

pancreatic ductal adenocarcinoma, pancreatic neoplasms, neoplastic stem cells.

**Pathologia**

2019; 16 (1), 131–138

**The purpose** of the work is the analysis of the current literature data on the role of stem cells in the progression of PDAC.

The stem cell pool of PDAC is heterogenic, consists of CSC and MSC, which form stem cell niches in the tumor. Three signaling molecular pathways play an important role in self-renewal and differentiation of pancreatic CSCs: Wnt, Sonic hedgehog and Notch. RSCs have the ability for self-renewal, for symmetric and asymmetric division, for partial differentiation, as well as for existence, self-renewal and differentiation outside the primary tumor. CSCs ensure growth and progression of the tumor, invasiveness and metastasis of PDAC, and also support its chemoresistance. MSCs of bone marrow origin in the pancreas are not involved in epithelial carcinogenesis, but when interacting with other cells of the microenvironment, exert a stimulating and inhibiting influence on the tumor. MSCs can act as promoters of oncogenesis through transformation into cancer-associated fibroblasts, local immunosuppression, stimulation of tumor neoangiogenesis, blockade of apoptosis of cancer cells, participation in the epithelial-mesenchymal transition and metastasis. MSCs can also act as suppressors of oncogenesis by stimulating the immuno-cellular infiltration of tumor tissue, suppressing the function of the AKT and Wnt signaling pathways, inducing cell cycle arrest and triggering cancer cell apoptosis, and suppressing tumor neoangiogenesis.

**Conclusion.** CSCs play a key role in the implementation of the aggressive properties of PDAC; MSCs have an effect on both cancer stem cells and the actual cancer cells of PDAC, exerting both stimulating and inhibiting influence on the tumor. The available data on the role of MSCs in the progression of PDAC are still heterogeneous, which determines the relevance of further study of the issue.

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы (ПАПЖ) – один из наиболее агрессивных видов рака, устойчивый к лучевой и химиотерапии; отличается неутешительными результатами лечения, а также высокой смертностью больных. Среди причин смерти населения земного шара в 2018 г. рак поджелудочной железы занимает 12 место у мужчин и 13 место у женщин [1]. Несмотря на огромные усилия по лечению этого заболевания, в США 5-летняя выживаемость больных раком поджелудочной железы составляет 8 %, у половины пациентов опухоль диагностируют на отдаленной стадии, когда 5-летняя выживаемость составляет 3 % [2]. Развитие рака сегодня объясняют две модели: стохастическая и иерархическая [3]. В соответствии со стохастической (клональной) моделью, при онкогенной мутации любые соматические клетки могут трансформироваться в опухолевые клетки, которые становятся потенциально клоногенными и дают начало опухолевому зачатку, а опухолевая прогрессия осуществляется в результате появления агрессивных клонов, приобретающих преимущество благодаря онкогенным мутациям или эпигенетической модификации ДНК, гистонов или негистоновых белков хроматина. По иерархической модели опухоль развивается из ниши нормальных стволовых клеток, в которой появляются клетки, инициирующие опухоль, и раковые стволовые клетки (РСК). Эти два типа клеток формируют нишу раковых стволовых клеток, из которой развивается субпопуляция размножающихся опухолевых клеток, обеспечивающих рост и развитие опухоли [4]. Для ПАПЖ характерны высокочастотные мутации в основных генах, вызывающих рак, включая *KRAS* (95 %), *CDKN2A* (95 %), *TP53* (75 %) и *SMAD4* (55 %), а также избыточная экспрессия факторов роста, высокоаффинных рецепторов тирозинкиназы, изоформ трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и сигнального пути Sonic hedgehog (Shh) [5].

Пул стволовых клеток в структуре первичной опухоли составляет от 1 % до 5 % общей клеточной массы [3]. РСК обладают способностью к самообновлению, симметричному и асимметричному делению, частичной дифференцировке, а также к существованию, самообновлению и дифференцировке вне первичной опухоли [5]. Популяции клеток, инициирующих опухоль, также обнаруживают как в первичных, так и в метастатических опухолях [3]. Гетерогенную популяцию стволовых

клеток опухоли составляют РСК и мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые представляют собой негемопоэтический пул костномозговых стволовых клеток, обнаруживаемых практически во всех органах и тканях человека [6]. Другой типологией стволовых клеток, отличных от МСК, являются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, из которых происходят только специализированные клетки мезодермальной линии: адипоциты, миоциты, остеоциты и хондроциты [6]. МСК могут циркулировать в периферической крови и мигрировать из кровообращения в разные ткани в ответ на различные сигналы (например, на место заживления ран для восстановления поврежденных тканей) [6]. Известно, что МСК мигрируют в зону роста первичной опухоли и формируют так называемые «ниши» МСК. Они являются важным компонентом микроокружения опухоли, взаимодействуя как с опухолевыми клетками, так и с другими клетками микроокружения [4], оказывая тумор-промоторные и тумор-супрессорные влияния [7,8]. Получены убедительные данные о роли МСК как промоторов опухолевого роста при глиобластоме, миеломной болезни, раке молочной железы и гепатоцеллюлярной карциноме [9–12]. В ряде исследований показано, что пул МСК формирует основу для рецидивирования и метастазирования рака, а также способствует химиорезистентности отдельных опухолей [7,13]. Результаты немногочисленных исследований, посвященных роли РСК и МСК в прогрессии ПАПЖ [14–16,20,25,29,39,43], носят противоречивый характер.

### Цель работы

Анализ данных современной научной литературы о роли стволовых клеток в прогрессии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

**Раковые стволовые клетки в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы.** В работе S. Valle et al. (2018) [14] показано, что увеличение популяции опухолевых клеток в ПАПЖ возможно за счет как асимметричного, так и симметричного деления РСК, запускаемого воздействием неблагоприятных внешних факторов, которые провоцируют появление генетических и/или эпигенетических аномалий (абберрантное метилирование ДНК, ремоделирование

хроматина и др.). Для идентификации РСК в ПАПЖ используют антитела против определенных антигенов клеточной поверхности, таких как CD44, CD90, CD24, CD133, Lgr5, EpCam и/или CXCR4, а также экспрессии 26S протеасом, альдегиддегидрогеназы 1 (ALDH1), рецептора фактора роста гепатоцитов с-MET [14], эпителиально-специфический антиген (ESA) и двойная кортин-подобная киназа 1 (DclK1) (*pus. 1*) [15].

Приемлемость использования этих маркеров доказана в ряде экспериментальных работ, базирующихся на изучении ксенотрансплантатов [16]. X. Li et al. (2015) показали, что CD44+, CD24+ и CD133+ клетки ПАПЖ отличаются повышенной пролиферативной активностью, свойственной РСК [17]. Кокспрекция панкреатическими РСК CD133 и рецепторов CXCR4 позволяет определить зону инвазии ПАПЖ [16]. Доказано, что коэкспрекция CD24+/CD44+/EpCAM и CD133+ обуславливает химио- и радиорезистентность протокового рака. Отмечено также, что коэкспрекция CD44 и с-Met ассоциируется с ускоренными темпами роста опухоли, большей склонностью к рецидивам [15]. По данным I. Ohtsubo et al. [18] экспрессия ALDH1 обуславливает возрастание опухолевого потенциала РСК и формирование резистентности к химиоиндуцированной гибели клеток ПАПЖ. Анализ данных научной литературы показал, что экспрессия маркеров РСК в эпителиальных неоплазиях поджелудочной железы прямо коррелирует со стадией их развития, возрастая от панкреатической интраэпителиальной неоплазии (PanIN 1-2-3) к инвазивной протоковой карциноме [14].

В самообновлении и дифференцировке панкреатических РСК важную роль играют три сигнальных молекулярных пути: Wnt, Sonic hedgehog и Notch, гиперактивация которых ведет к прогрессии опухоли (*pus. 2*) [15].

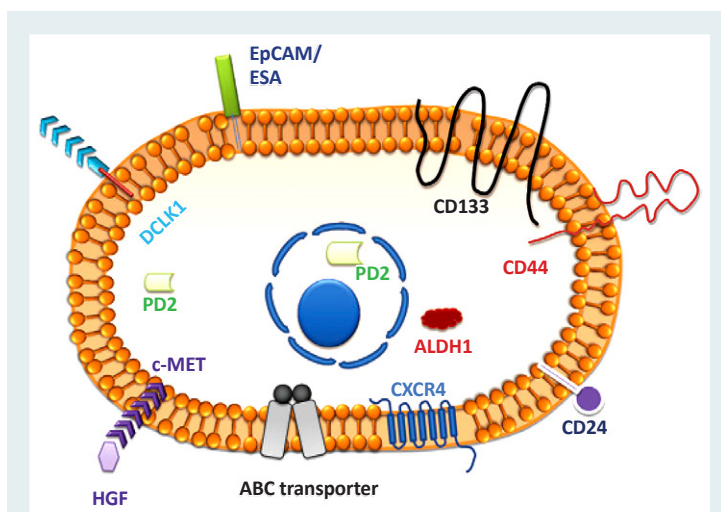


Рис. 1. Схематическая презентация молекулярных структур, маркерных для панкреатических раковых стволовых клеток (из работы А. P. Vaz et al., 2014 [15]).

**Сигнальный путь Wnt** (*pus. 2a*, [15]). Белки Wnt представляют собой секретируемые клетками во внеклеточную среду гликопротеины, которые передают внеклеточный сигнал во внутриклеточный сигнальный каскад путем связывания через трансмембранные завитые (frizzled) рецепторы и корецепторы (липопротеиды LRP5/LRP6). В отсутствие Wnt-белка (в выключенном состоянии Wnt-пути) β-катенин секвестрируется так называемым деструктивным комплексом, состоящим из белков Axin1,2, белков-супрессоров опухолей APC, казеинкиназы CK1a и протеинкиназы GSK-3b). Фосфорилирование в этом комплексе β-катенина приводит к его убиквитин-опосредованной деградации в протеосомах. Во включенном состоянии Wnt-пути

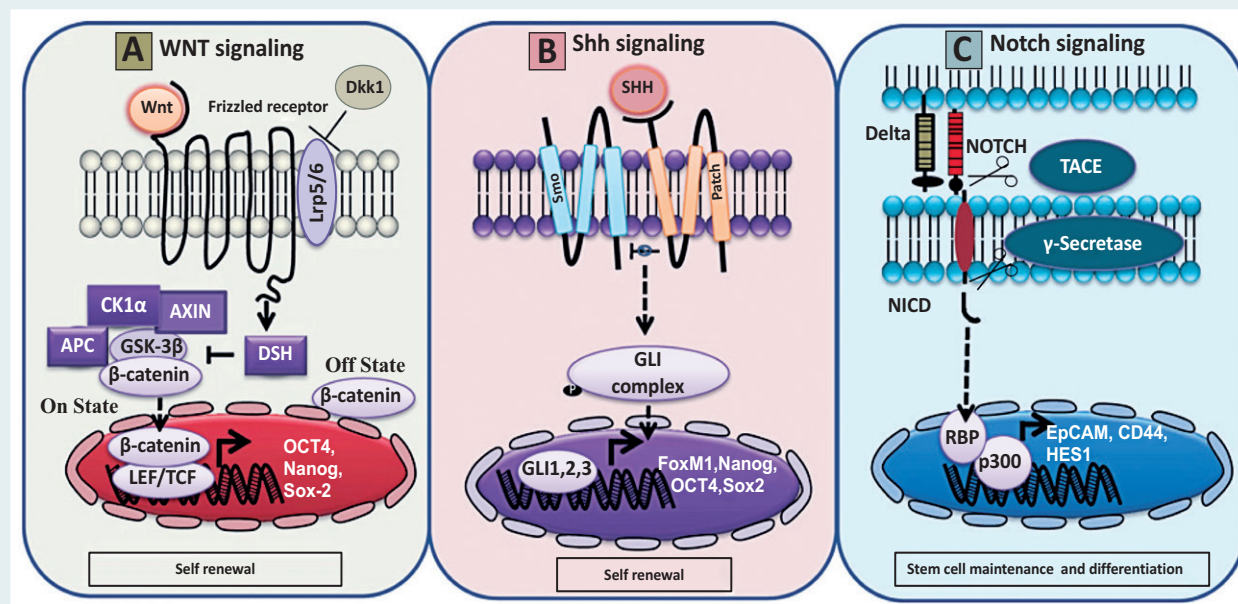


Рис. 2. Схематическая презентация сигнальных путей, поддерживающих самообновление и дифференцировку панкреатических раковых стволовых клеток (из работы А. P. Vaz et al., 2014 [15]).

A, B: самообновление стволовых клеток; C: поддержание и дифференцировка стволовых клеток.

белок WNT вместе со своими корцепторами LRP5/6 связывается с frizzled рецепторами, активирует цитозольный фосфопротеин Dishevelled (DSH), который подавляет активность GSK-3 $\beta$  протеинкиназы путем ее связывания в мультивезикулярных тельцах цитоплазмы и прекращает действие деструктивного комплекса. Вследствие этого  $\beta$ -катенин накапливается в цитозоле, перемещается в клеточное ядро и активирует гены-мишени: *OCT4*, *Nanog* и *Sox-2*, – которые поддерживают самообновление РСК. При ингибировании Wnt-пути его растворимым ингибитором Dickkopf 1 (DKK1) популяция РСК уменьшается.

**Сигнальный путь Sonic hedgehog (Shh) (рис. 2b, [15]).** Sonic hedgehog – липидно-модифицированный белок или лиганд, секретируемый клетками во внеклеточную среду; его связывание с трансмембранным охватывающим Patch-рецептором приводит к передаче внеклеточного сигнала во внутриклеточный сигнальный каскад. В отсутствие Shh-лиганда Patch конститутивно репрессирует другой трансмембранный сглаженный (smo) белок, который гомологичен G-протеин-связывающему рецептору (GPCR). При связывании Shh-лиганда с Patch-рецептором ингибирование патчем smo-белка прекращается, что приводит к активации в панкреатических РСК транскрипционных факторов семейства Gli (Gli 1,2,3), активирующих гены-мишени Shh, такие как *FoxM1*, *Nanog*, *OCT4* и *Sox2*, белки которых играют главную роль в самообновлении стволовых клеток рака поджелудочной железы.

**Сигнальный путь Notch (рис. 2с, [15]).** Каскад передачи сигналов Notch играет жизненно важную роль в поддержании и дифференцировке панкреатических РСК. Notch-рецептор состоит из внеклеточного лиганд-связывающего домена, одного трансмембранного охватывающего региона и внутриклеточного домена. Активация передачи сигналов Notch между соседними клетками происходит посредством связывания дельта-лиганда на одной клетке с рецептором Notch на соседней клетке. При связывании лиганда с рецептором Notch он претерпевает конформационные изменения, и внеклеточный домен Notch расщепляет металлопротеазо-превращающий фермент (TACE). Далее внутриклеточная часть Notch расщепляется внутримембранной g-секретазой, высвобождая часть внутриклеточного домена (NICD), содержащего Notch. В панкреатических РСК NICD транспозируется в ядро и взаимодействует с его транскрипционным фактором RBP и коактиватором p300, что приводит к активации генов *Ersat*, *CD44* и *Hes1*, белки которых играют важную роль в дифференцировке РСК.

По данным F. Wang et al. (2016) [19], Sonic hedgehog сигнальный путь играет решающую роль в прогрессии и метастазировании рака поджелудочной железы, а также в поддержании химиорезистентности панкреатических РСК. В обзоре L. N. Abdullah, E. K-H. Chow [20] приведены данные, что РСК способны уклоняться от цитотоксических эффектов химиотерапевтических препаратов с помощью различных врожденных и приобретенных механизмов, таких как сверхэкспрессия АТФ-связывающих транспортеров (ABC транспортеров), белков семейства В-клеточной лимфомы-2

(BCL-2), изоформ ALDH1, а также активации сигнальных путей, включая MYC, AKT1, WNT/ $\beta$ -catenin, Notch и Shh.

При тесном взаимодействии РСК с клетками стромы опухоли и МСК в ПАПЖ развивается реакция десмоплазии [21]. По данным M. Reichert et al. (2016), в десмопластических изменениях стромы ПАПЖ ключевую роль играет ген *KRAS*, мутации которого способны активировать Hedgehog-, Wnt-, PI3K/AKT-, Notch- и PTEN- сигнальные каскады [22]. Десмопластические изменения в строме ПАПЖ становятся «барьером» для химиотерапии, они ассоциированы с ухудшением васкуляризации опухоли [21], что препятствует поступлению химиопрепаратов в ткань опухоли.

**Стромальный компонент и мезенхимальные стволовые клетки в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы.** Микроскопической особенностью ПАПЖ является обилие выраженной десмопластической стромы, которая включает фибробласты, миофибробласты, панкреатические звездчатые клетки, иммунциты, а также микрососуды и внеклеточный молекулярно-волоконистый матрикс [5]. Вопрос об источнике развития клеток стромы ПАПЖ остается дискуссионным. На смену мнению о том, что они развиваются из резидентных клеток, формирующих строму нормальной поджелудочной железы, появились результаты исследований, указывающих, что источником формирования клеток стромы ПАПЖ являются МСК [14]. Среди клеток опухолевой стромы ПАПЖ преобладают панкреатические звездчатые клетки (ПЗК) – резидентные миофибробластоподобные клетки периацинарной локализации. В здоровой поджелудочной железе пул ПЗК составляет до 4 % от общей клеточной массы, однако при ПАПЖ численность ПЗК резко возрастает [23]. ПЗК взаимодействуют с клетками ПАПЖ, повышая пролиферацию и уменьшая их апоптоз, а также усиливая миграцию и инвазию раковых клеток [24]. Не менее важными клетками опухолевой стромы ПАПЖ являются канцер-ассоциированные фибробласты и опухолю-ассоциированные макрофаги [14]. МСК подвергаются дифференцировке в канцер-ассоциированные фибробласты под влиянием трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ), секретируемого клетками ПАПЖ в экзосомах во внеклеточное пространство. При этом уменьшается число дифференцированных миофибробластов, усиливается ангиогенез в опухоли и подавляется иммунный ответ, повышается инвазивность рака и ухудшается выживаемость экспериментальных мышей [25]. На мышиных генно-инженерных моделях показано, что для высокодесмопластических ПАПЖ характерен избыток факторов роста и цитокинов, а также активированных канцер-ассоциированных фибробластов [5]. В таких модельных карциномах обнаруживаются хорошо, умеренно или плохо дифференцированные раковые клетки. Генно-инженерное истощение стромальных миофибробластов и канцер-ассоциированных фибробластов приводит к развитию недифференцированной ПАПЖ с усиленным эпителиально-мезенхимальным переходом (EMT), ослабленным ангиогенезом, увеличенной пролиферацией панкреатических РСК и

измененным профилем иммуноклеточного инфильтрата опухоли [5].

По решению международного общества по клеточной трансплантации (ISCT), принятому в 2006 г., мезенхимальные стволовые клетки должны соответствовать таким минимальным критериям: это клетки, позитивные по CD73, CD90, CD105, CD146 маркерам, и негативные по гемопоэтическим маркерам, таким как CD14 или CD45 [26]. В большом числе работ доказано, что МСК костномозгового происхождения в поджелудочной железе не участвуют в эпителиальном канцерогенезе, но при взаимодействии с другими клетками микроокружения оказывают на опухоль как стимулирующее, так и ингибирующее воздействие [7,8,23]. МСК «привлекаются» в опухолевую ткань факторами роста: тромбоцитарным (PDGF), эндотелиальным (EGF), васкулоэндотелиальным (VEGF) и фактором роста фибробластов (FGF), – которые секретируются раковыми клетками ПАПЖ [7,27] или индуцируются гипоксией при недостаточной гемомикроциркуляции опухоли [21,28]. Выделяют 3 основных механизма взаимодействия МСК с другими клетками: модификация межклеточных контактов, секреция биологически активных веществ, обладающих паракринным эффектом, а также формирование и выделение экзосом, являющихся «транспортными» для биологически активных молекул [7].

МСК могут выступать в роли промоторов онкогенеза путем трансформации в канцер-ассоциированные фибробласты, местной иммуносупрессии, стимуляции опухолевого неопластического канцерогенеза, блокады апоптоза раковых клеток, участия в эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании [7,8,28]. Согласно данным E. Mathew et al. (2016) [29], МСК из микроокружения ПАПЖ обладают более выраженными тумор-промоторными свойствами в сравнении с МСК, которые обнаруживаются в ткани нормальной поджелудочной железы.

*Трансформация МСК в канцер-ассоциированные фибробласты* происходит под влиянием фактора роста фибробластов (FGF), при этом канцер-ассоциированные фибробласты в значительном количестве обнаруживаются в инвазивных формах ПАПЖ [21].

*Местная иммуносупрессия.* Иммуноклеточный инфильтрат – один из важнейших компонентов опухолевого микроокружения. Количественно в его составе обычно преобладают тумор-ассоциированные макрофаги двух типов – M1 и M2. Лишь тумор-ассоциированные МСК обладают способностью индуцировать поляризацию макрофагов, что приводит к выработке ими противовоспалительных цитокинов, способствуя таким образом местной иммуносупрессии [29]. Считается, что канцер-ассоциированные макрофаги и тумор-ассоциированные нейтрофилы могут выполнять проонкогенные функции, усиливая инвазию и метастазирование опухолевых клеток, ангиогенез и ремоделирование внеклеточного матрикса, одновременно подавляя противоопухолевый иммунный надзор [30]. M1 макрофаги обладают преимущественно тумор-супрессорными свойствами, продуцируют провоспалительные цитокины – IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , PGE2, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 и др. В противовес им M2 макрофаги

способствуют опухолевой прогрессии путем секреции ростовых факторов EGF, PDGF, FGF, VEGF, TGF- $\beta$  [31]. Активированные МСК оказывают иммуносупрессивное воздействие в опухолевой ткани за счет угнетения пролиферации иммунных клеток, секреции медиаторов воспаления, эффекта клеточной цитотоксичности, что, в свою очередь, создает благоприятные условия для пролиферации новых поколений раковых клеток [31].

*Стимуляция опухолевого неопластического канцерогенеза.* В ряде исследований показано, что МСК способны к дифференцировке в эндотелиоподобные клетки, в зрелые эндотелиоциты и перicytes, участвуя таким образом в сложном процессе опухолевого неопластического канцерогенеза [28,32,33]. Кроме этого, МСК продуцируют проангиогенные факторы роста, включая васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), которые усиливают миграцию эндотелиальных и гладкомышечных клеток в опухоль, стимулируют их пролиферацию, способствуя неопластическому канцерогенезу [34]. По данным Ge Q. et al. (2018), VEGF, секретируемый МСК, способствует созреванию предшественников эндотелиальных клеток в зрелые эндотелиоциты [35]. Условия гипоксии, характерные для ткани ПАПЖ способствуют усилению секреции VEGF раковыми клетками [36,37]. В ряде работ показано, что опухолевый неопластический канцерогенез запускается секрецией раковыми клетками лигандов хемокинов (СХС), которые связываются с рецепторами хемокинов CXCR2, CXCL5 и CXCL8 МСК, стимулируя их пролиферацию и дифференцировку в эндотелиоциты [34,35]. Опубликованы также другие данные, согласно которым добавление МСК в культуру эндотелиальных клеток запускает апоптоз эндотелиоцитов, что свидетельствует об антиангиогенной активности МСК [38]. Mizukami et al. (2012) предположили, что Sonic Hedgehog-ассоциированный путь является вариантом VEGF-независимой неоваскуляризации ПАПЖ, которая лежит в основе резистентности к анти-VEGF таргетной терапии [39].

*Участие в эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании.* Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – процесс, в ходе которого эпителиальные клетки приобретают свойства мезенхимальных. ЭМП характеризуется снижением экспрессии E-кадгерина,  $\gamma$ -катенина, цитокератинов, ламинина, ZO-1 на фоне повышения экспрессии клетками маркеров мезенхимального фенотипа, включая N-кадгерин, виментин, фибронектин,  $\alpha$ -SMA [40]. Известно, что многие МСК секретируют ЭМП-индуцирующие факторы, а именно цитокины (IL-1, IL-6), хемокины (CCL5, CXCL1, CXCL5, CXCL7, CXCL8) и факторы роста (EGF, HGF, PDGF, TGF- $\beta$ ) [41,42]. Эти молекулы оказывают паракринное воздействие на раковые клетки, «оркестрируя» программу ЭМП посредством активации факторов транскрипции Twist, Snail, Slug, ZEB1 и ZEB2. Последние, в свою очередь, отвечают за угнетение активности генов, кодирующих белки адгезии, десмосом и плотных контактов, а также за повышение активности генов, кодирующих N-кадгерин, фибронектин и виментин.

ЭМП в ПАПЖ индуцирует активация гена ZEB1 на фоне инактивации miR200, что приводит к увеличению подвижности клеток, их большей склонности к

диссеминации, а также к поддержанию сохранности стволового фенотипа РСК [43]. Активную роль в развитии ЭМП панкреатических РСК играет Sonic hedgehog сигнальный путь [19]. По данным S. Wang et al. (2017), посредством ЭМП РСК панкреатической протоковой карциномы приобретают агрессивный мезенхимальный фенотип, обеспечивающий возможность быстрого распространения трансформированных клеток [43], а также способность к миграции и метастазированию раковых клеток [28]. По данным D. M. Gilkes et al. (2014), активация МСК в строме ПАПЖ ассоциирована с возрастанием экспрессии матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типа, что является неотъемлемым компонентом реализации инвазивных свойств опухоли [37].

Согласно данным современной научной литературы, МСК могут также выступать в роли супрессоров онкогенеза посредством стимуляции иммуноклеточной инфильтрации опухолевой ткани, остановки клеточного цикла и запуска апоптоза раковых клеток, угнетения опухолевого неоангиогенеза, подавления функции АКТ- и Wnt-сигнальных путей [8].

*Стимуляция иммуноклеточной инфильтрации.* Несмотря на то, что МСК обладают выраженными иммуносупрессорными свойствами [44], в литературе сообщается, что они также способны привлечь гранулоциты и моноциты в опухолевую ткань посредством паракринных стимулов [8] и стимулировать таким образом иммуноклеточную инфильтрацию опухоли и местный иммунный ответ [21].

*Остановка клеточного цикла и запуск апоптоза.* МСК секретируют ряд цитокинов (CyclinA, CyclinE, CyclinD2, p27KIP1), которые, хоть и временно, но способны останавливать клеточный цикл в фазе G<sub>1</sub> [8]. Механизм такой остановки пока не выяснен. В некоторых работах показано, что МСК, выделенные из жировой ткани, стимулируют гибель раковых клеток путем некроза после остановки их цикла в G<sub>1</sub>-фазе и при отсутствии апоптоза; введение этих клеток в ткань ПАПЖ приводит к остановке роста опухоли [8]. По данным S. Zhang et al. (2018), МСК способны запускать каспаза-3 опосредованный путь апоптоза посредством формирования и выделения экзосом, содержащих проапоптотические ферменты [45].

*Угнетение опухолевого неоангиогенеза.* МСК способны запускать апоптоз не только раковых, но и эндотелиоцитов, что дает основание для вывода об анти-ангиогенной активности МСК [38]. По мнению X. Wei et al. (2016), основной механизм угнетения опухолевого неоангиогенеза – выделение МСК микровезикул с антиангиогенными факторами [46].

## Выводы

Раковые стволовые клетки играют ключевую роль в реализации агрессивных свойств панкреатической протоковой аденокарциномы; мезенхимальные стволовые клетки воздействуют как на раковые стволовые клетки, так и на собственно раковые клетки панкреатической протоковой аденокарциномы. Данные о роли МСК в прогрессии ПАПЖ пока неоднородны, что обуславливает актуальность дальнейшего изучения вопроса.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету «Раннє молекулярно-генетичне та імуногістохімічне прогнозування схильності до прогресування раку легень та органів травлення» № держреєстрації 0117U002580 (2017–2019).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 11.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 14.03.2019

## Сведения об авторах:

Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Коваленко И. С., канд. мед. наук, ассистент 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, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

Коваленко І. С., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor, Vice-Rector for Research, Zaporizhzhia State Medical University, Professor of the Department of Pathologic Anatomy and Forensic Medicine, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Kovalenko I. S., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Список литературы

- [1] Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, et al. // CA Cancer J. Clin. – 2018. – Vol. 68. – Issue 6. – P. 394–424.
- [2] American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2018. – Atlanta : American Cancer Society, 2018. – 76 p.
- [3] Cancer stem cell niche models and contribution by mesenchymal stroma/stem cells / C. Melzer, J. von der Ohe, H. Lehnert, et al. // Mol. Cancer. – 2017. – Vol. 16. – Issue 1. – P. 1–15.
- [4] Plaks V. The Cancer Stem Cell Niche: How Essential is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells? / V. Plaks, N. Kong, Z. Werb // Cell Stem Cell. – 2015. – Vol. 16. – Issue 3. – P. 225–238.
- [5] Gore J. Pancreatic Cancer Stroma: Friend or Foe? / J. Gore, M. Korc // Cancer Cell. – 2014. – Vol. 25. – P. 711–712.
- [6] Concise Review: Cancer Cells, Cancer Stem Cells, and Mesenchymal Stem Cells: Influence in Cancer Development / F. Papaccio, F. Paino, T. Regad, et al. // Stem Cells Transl Med. – 2017. – Vol. 6. – Issue 12. – P. 2115–2125.
- [7] Lee H.Y. Double-edged sword of mesenchymal stem cells: Cancer-promoting versus therapeutic potential / H.Y. Lee, I.S. Hong // Cancer Sci. – 2017. – Vol. 108. – Issue 10. – P. 1939–1946.
- [8] Rhee K.J. Mesenchymal stem cell-mediated effects of tumor support or suppression / K.J. Rhee, J.I. Lee, Y.W. Eom // Int. J. Mol. Sci. – 2015. – Vol. 16. – Issue 12. – P. 30015–30033.
- [9] Research on human glioma stem cells in China / Y.D. Zhao, Q.B. Zhang, H. Chen, et al. // Neural Regen Res. – 2017. – Vol. 12. – Issue 11. – P. 1918–1926.
- [10] Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target? / S. Xu, K. De Veirman, A. De Becker, et al. // Leukemia. – 2018. – Vol. 2018. – P. 235–248.



- [11] Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in circulating tumor cells of breast cancer patients / N. Krawczyk, F. Meier-Stiegen, M. Banys, et al. // *BioMed. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 432–436.
- [12] Castelli G. Liver Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells / G. Castelli, E. Pelosi, U. Testa // *Cancers. Basel.* – 2017. – Vol. 20. – Issue 9. – P. 111–125.
- [13] Graham N. Mesenchymal Stromal Cells: Emerging Roles in Bone Metastasis / N. Graham, B.Z. Qian // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19. – Issue 4. – P. E1121.
- [14] The Ever-Evolving Concept of the Cancer Stem Cell in Pancreatic Cancer / S. Valle, L. Martin-Hijano, S. Alcalá et al. // *Cancers.* – 2018. – Vol. 10. – Issue 33. – P. 1–26.
- [15] A concise review on the current understanding of pancreatic cancer stem cells / A.P. Vaz, M.P. Ponnusamy, P. Seshacharyulu, S.K. Batra // *J. Cancer Stem Cell Res.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 312–325.
- [16] Rao C. New insights into pancreatic cancer stem cells / C. Rao, A. Mohammed // *World J. Stem Cells.* – 2015. – Vol. 7. – Issue 3. – P. 547–555.
- [17] Prognostic value of cancer stem cell marker CD133 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC): a systematic review and meta-analysis / X. Li, H. Zhao, J. Gu, L. Zheng // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol. 8. – Issue 10. – P. 12084–12092.
- [18] Distinctive expression of CD133 between intraductal papillary neoplasms of the bile duct and bile duct adenocarcinomas / I. Ohtsubo, T. Ajiki, Y. Hori, S. Murakami // *Hepatology Research.* – 2012. – Vol. 42. – Issue 6. – P. 574–582.
- [19] Hedgehog Signaling Regulates Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer Stem-Like Cells / F. Wang, L. Ma, Z. Zhang, et al. // *J. Cancer.* – 2016. – Vol. 7. – Issue 4. – P. 408–417.
- [20] Abdullah L.N. Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells / L.N. Abdullah, E.K.H. Chow // *Clin. Transl. Med.* – 2013. – Vol. 2. – Issue 1. – P. 3.
- [21] Desmoplasia and chemoresistance in pancreatic cancer / M. Schober, R. Jesenofsky, R. Faissner, et al. // *Cancers. Basel.* – 2014. – Vol. 6. – P. 2137–2154.
- [22] Developmental Pathways Direct Pancreatic Cancer Initiation from Its Cellular Origin / M. Reichert, K. Blume, A. Kleger, et al. // *Stem Cells Int.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 135–146.
- [23] Scarlett C.J. Contribution of bone marrow derived cells to the pancreatic tumor microenvironment / C.J. Scarlett // *Front. Physiol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 56–62.
- [24] Pancreatic stellate cells and pancreas cancer: current perspectives and future strategies / J. Haqq, L.M. Howells, G. Garcea, et al. // *Eur. J. Cancer.* – 2014. – Vol. 50. – Issue 15. – P. 2570–2582.
- [25] Exosomes trigger mesenchymal stem cell differentiation into proangiogenic and proinvasive myofibroblasts / R. Chowdhury, J.P. Webber, M. Gurney, et al. // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6. – P. 715–731.
- [26] Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller, et al. // *Cytotherapy.* – 2006. – Vol. 8. – P. 315–317.
- [27] Bianco P. «Mesenchymal» stem cells / P. Bianco // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2014. – Vol. 30. – P. 677–703.
- [28] Tumor-educated mesenchymal stem cells promote pro-metastatic phenotype / B.S. Hill, A. Pelagalli, N. Passaro, A. Zannetti // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – Issue 42. – P. 73296–73311.
- [29] Mesenchymal stem cells promote pancreatic tumor growth by inducing alternative polarization of macrophages / E. Mathew, A.L. Brannon, A.C. Del Vecchio, et al. // *Neoplasia.* – 2016. – Vol. 18. – Issue 3. – P. 142–151.
- [30] Kim J. Tumor-Associated Macrophages and Neutrophils in Tumor Microenvironment / J. Kim, J.-S. Bae // *Mediators Inflamm.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 6058147.
- [31] Netea-Maier R.T. Metabolic changes in tumor cells and tumor-associated macrophages: A mutual relationship / R.T. Netea-Maier, J.W. Smit, M.G. Netea // *Cancer Lett.* – 2018. – Vol. 28. – P. 102–109.
- [32] A systematic review: differentiation of stem cells into functional pericytes / J. Xu, T. Gong, B.C. Heng, C.F. Zhang // *FASEB J.* – 2017. – Vol. 31. – Issue 5. – P. 1775–1786.
- [33] Mesenchymal stem cells and vascular regeneration / W. Gu, X. Hong, C. Potter, et al. // *Microcirculation.* – 2017. – Vol. 24. – P. e12324.
- [34] Wang M. Multiple mechanisms of SDF-1 promoting VEGF-induced endothelial differentiation of mesenchymal stem cells / M. Wang, Z. Zou // *Int. J. Cardiol.* – 2014. – Vol. 177. – Issue 3. – P. 1098–1099.
- [35] VEGF secreted by mesenchymal stem cells mediates the differentiation of endothelial progenitor cells into endothelial cells via paracrine mechanisms / Q. Ge, H. Zhang, J. Hou, et al. // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 17. – Issue 1. – P. 1667–1675.
- [36] Schito L. Hypoxia-Inducible Factors: Master Regulators of Cancer Progression / L. Schito, G.L. Semenza // *Trends Cancer.* – 2016. – Vol. 2. – Issue 12. – P. 758–770.
- [37] Gilkes D.M. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumor metastasis / D.M. Gilkes, G.L. Semenza, D. Wirtz // *Nat. Rev. Cancer.* – 2014. – Vol. 14. – Issue 6. – P. 430–439.
- [38] Cell Toxicity in Fibroblasts, Tenocytes, and Human Mesenchymal Stem Cells-A Comparison of Necrosis and Apoptosis-Inducing Ability in Ropivacaine, Bupivacaine, and Triamcinolone / A.Z. Zhang, A. Fickscherer, M.F. Gülecüyü, et al. // *Arthroscopy.* – 2017. – Vol. 25. – Issue 2. – P. 465–479.
- [39] Mizukami Y. Bone marrow-derived proangiogenic cells in pancreatic cancer / Y. Mizukami // *J. Gastroenterol Hepatol.* – 2012. – Vol. 27. – Suppl. 2. – P. 23–26.
- [40] Lamouille S. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition / S. Lamouille, J. Xu, R. Derynck // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2014. – Vol. 15. – Issue 3. – P. 178–196.
- [41] Lazennec G. Recent discoveries concerning the tumor-mesenchymal stem cell interactions / G. Lazennec, P.Y. Lam // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – Vol. 1866. – Issue 2. – P. 290–299.
- [42] Tumor specific recruitment and reprogramming of mesenchymal stem cells in tumorigenesis / L. Berger, Y. Shamai, K.L. Skorecki, M. Tzukerman // *Stem Cells.* – 2016. – Vol. 34. – Issue 4. – P. 1011–1026.
- [43] Wang S. Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer: A Review / S. Wang, S. Huang, Y.L. Sun // *BioMed. Res. Int.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 1025–1033.
- [44] Tumor-Derived Mesenchymal Stem Cells Use Distinct Mechanisms to Block the Activity of Natural Killer Cell Subsets / S. Galland, J. Vuille, P. Martin, et al. // *Cell Rep.* – 2017. – Vol. 20. – Issue 12. – P. 2891–2905.
- [45] MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity / S. Zhang, S.J. Chuah, R.C. Lai, et al. // *Biomaterials.* – 2018. – Vol. 156. – P. 16–27.
- [46] Surface Phosphatidylserine Is Responsible for the Internalization of Microvesicles Derived from Hypoxia-Induced Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells into Human Endothelial Cells / X. Wei, C. Liu, H. Wang, et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – Issue 1. – P. e0147360.

## References

- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R., Torre, L., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 68(6), 394–424. doi: 10.3322/caac.21492
- [2] (2018) American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2018*. Atlanta: American Cancer Society.
- [3] Melzer, C., von der Ohe, J., Lehnert, H., Ungefroren, H., & Hass, R. (2017). Cancer stem cell niche models and contribution by mesenchymal stroma/stem cells. *Molecular Cancer*, 16(1). doi: 10.1186/s12943-017-0595-x
- [4] Plaks, V., Kong, N., & Werb, Z. (2015). The Cancer Stem Cell Niche: How Essential Is the Niche in Regulating Stemness of Tumor Cells? *Cell Stem Cell*, 16(3), 225–238. doi: 10.1016/j.stem.2015.02.015
- [5] Gore, J., & Korc, M. (2014). Pancreatic Cancer Stroma: Friend or Foe? *Cancer Cell*, 25(6), 711–712. doi: 10.1016/j.ccr.2014.05.026
- [6] Papaccio, F., Paino, F., Regad, T., Papaccio, G., Desiderio, V., & Tirino, V. (2017). Concise Review: Cancer Cells, Cancer Stem Cells, and Mesenchymal Stem Cells: Influence in Cancer Development. *STEM CELLS Translational Medicine*, 6(12), 2115–2125. doi: 10.1002/sctm.17-0138
- [7] Lee, H., & Hong, I. (2017). Double-edged sword of mesenchymal stem cells: Cancer-promoting versus therapeutic potential. *Cancer Science*, 108(10), 1939–1946. doi: 10.1111/cas.13334
- [8] Rhee, K., Lee, J., & Eom, Y. (2015). Mesenchymal Stem Cell-Mediated Effects of Tumor Support or Suppression. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30015–30033. doi: 10.3390/ijms161226215
- [9] Zhao, Y. D., Zhang, Q. B., Chen, H., Fei, X. F., Shen, Y. T., Ji, X. Y., et al. (2017). Research on human glioma stem cells in China. *Neural Regeneration Research*, 12(11), 1918–1926. doi: 10.4103/1673-5374.219055
- [10] Xu, S., De Veirman, K., De Becker, A., Vanderkerken, K., & Van Riet, I. (2018). Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target? *Leukemia*, 32(7), 1500–1514. doi: 10.1038/s41375-018-0061-9
- [11] Krawczyk, N., Meier-Stiegen, F., Banys, M., Neubauer, H., Ruckhaeberle, E., & Fehm, T. (2014). Expression of Stem Cell and Epithelial-Mesenchymal Transition Markers in Circulating Tumor Cells of Breast Cancer Patients. *Biomed Research International*, 2014, 1–11. doi: 10.1155/2014/415721
- [12] Castelli, G., Pelosi, E., & Testa, U. (2017). Liver Cancer: Molecular Characterization, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Cancers. Basel*, 2017, 20(9), 111–125. doi: 10.3390/cancers9090127

- [13] Graham, N., & Qian, B. Z. (2018). Mesenchymal Stromal Cells: Emerging Roles in Bone Metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(4), E1121. doi: 10.3390/ijms19041121
- [14] Valle, S., Martin-Hijano, L., Alcalá, S., Alonso-Nocelo, M., & Sainz Jr., B. (2018). The Ever-Evolving Concept of the Cancer Stem Cell in Pancreatic Cancer. *Cancers*, 10(2), 33. doi: 10.3390/cancers10020033
- [15] Vaz, A., Ponnusamy, M., Seshacharyulu, P., & Batra, S. (2014). A concise review on the current understanding of pancreatic cancer stem cells. *Journal Of Cancer Stem Cell Research*, 2(4), 1. doi: 10.14343/jcscr.2014.2e1004
- [16] Rao, C., & Mohammed, A. (2015). New insights into pancreatic cancer stem cells. *World J. Stem Cells*, 7(3), 547–555. doi: 10.4252/wjsc.v7.i3.547
- [17] Li, X., Zhao, H., Gu, J., & Zheng, L. (2015). Prognostic value of cancer stem cell marker CD133 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC): a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(10), 12084–12092. doi: 10.1155%2F2017%2F3276806
- [18] Ohtsubo, I., Ajiki, T., Hori Y., & Murakami, S. (2012). Distinctive expression of CD133 between intraductal papillary neoplasms of the bile duct and bile duct adenocarcinomas. *Hepatology Research*, 42(6), 574–582. doi: 10.1111/j.1872-034X.2011.00954.x
- [19] Wang, F., Ma, L., Zhang, Z., Liu, X., Gao, H., Zhuang, Y., et al. (2016). Hedgehog Signaling Regulates Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer Stem-Like Cells. *Journal of Cancer*, 7(4), 408–417. doi: 10.7150/jca.13305
- [20] Abdullah, L. N., & Chow E., K-H. (2013). Mechanisms of chemoresistance in cancer stem cells. *Clin. Transl. Med.*, 2(1), 3. doi: 10.1186/2001-1326-2-3
- [21] Schober, M., Jesenofsky, R., Faissner, R., Weidenauer, C., Hagemann, W., Michl, P., et al. (2014). Desmoplasia and Chemoresistance in Pancreatic Cancer. *Cancers (Basel)*, 6(4), 2137–2154. doi: 10.3390/cancers6042137
- [22] Reichert, M., Blume, K., Kleger, A., Hartmann, D., & von Figura, G. (2016). Developmental Pathways Direct Pancreatic Cancer Initiation from Its Cellular Origin. *Stem Cells International*, 2016, 1–8. doi: 10.1155/2016/9298535
- [23] Scarlett, C. (2013). Contribution of bone marrow derived cells to the pancreatic tumor microenvironment. *Frontiers In Physiology*, 4. doi: 10.3389/fphys.2013.00056
- [24] Haqq, J., Howells, L., Garcea, G., Metcalfe, M., Steward, W., & Dennison, A. (2014). Pancreatic stellate cells and pancreas cancer: Current perspectives and future strategies. *European Journal of Cancer*, 50(15), 2570–2582. doi: 10.1016/j.ejca.2014.06.021
- [25] Chowdhury, R., Webber, J., Gurney, M., Mason, M., Tabi, Z., & Clayton, A. (2015). Cancer exosomes trigger mesenchymal stem cell differentiation into pro-angiogenic and pro-invasive myofibroblasts. *Oncotarget*, 6(2). doi: 10.18632/oncotarget.2711
- [26] Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., et al. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317. doi: 10.1080/14653240600855905
- [27] Bianco, P. (2014). "Mesenchymal" Stem Cells. *Annual Review of Cell And Developmental Biology*, 30(1), 677–704. doi: 10.1146/annurev-cell-bio-100913-013132
- [28] Hill, B. S., Pelagalli, A., Passaro, N., & Zannetti A. (2017). Tumor-educated mesenchymal stem cells promote pro-metastatic phenotype. *Oncotarget*, 8(42), 73296–73311. doi: 10.18632/oncotarget.20265
- [29] Mathew, E., Brannon, A., Del Vecchio, A., Garcia, P., Penny, M., Kane, K., et al. (2016). Mesenchymal Stem Cells Promote Pancreatic Tumor Growth by Inducing Alternative Polarization of Macrophages. *Neoplasia*, 18(3), 142–151. doi: 10.1016/j.neo.2016.01.005
- [30] Kim, J., & Bae, J. -S. (2016). Tumor-Associated Macrophages and Neutrophils in Tumor Microenvironment. *Mediators of Inflammation*, 2016, 6058147. doi: 10.1155/2016/6058147
- [31] Netea-Maier, R. T., Smit, J. W., & Netea, M. G. (2018). Metabolic changes in tumor cells and tumor-associated macrophages: A mutual relationship. *Cancer Letters*, 28, 102–109. doi: 10.1016/j.canlet.2017.10.037
- [32] Xu, J., Gong, T., Heng, B. C., & Zhang, C. F. (2017). A systematic review: differentiation of stem cells into functional pericytes. *FASEB Journal*, 31(5), 1775–1786. doi: 10.1096/fj.201600951RRR
- [33] Gu, W., Hong, X., Potter, C., Qu, A., & Xu, Q. (2017). Mesenchymal stem cells and vascular regeneration. *Microcirculation*, 24(1), e12324. doi: 10.1111/micc.12324
- [34] Wang, M., & Zou, Z. (2014). Multiple mechanisms of SDF-1 promoting VEGF-induced endothelial differentiation of mesenchymal stem cells. *International Journal of Cardiology*, 177(3), 1098–1099. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.09.198
- [35] Ge, Q., Zhang, H., Hou, J., Wan, L., Cheng, W., Wang, X., et al. (2017). VEGF secreted by mesenchymal stem cells mediates the differentiation of endothelial progenitor cells into endothelial cells via paracrine mechanisms. *Molecular Medicine Reports*, 17(1), 1667–1675. doi: 10.3892/mmr.2017.8059
- [36] Schito, L., & Semenza, G. L. (2016). Hypoxia-Inducible Factors: Master Regulators of Cancer Progression. *Trends Cancer*, 2(12), P. 758–770. doi: 10.1016/j.trecan.2016.10.016
- [37] Gilkes, D. M., Semenza, G. L., & Wirtz, D. (2014). Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumor metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 14(6), 430–439. doi: 10.1038/nrc3726
- [38] Zhang, A., Ficklscherer, A., Gülecüyüz, M., Paulus, A., Niethammer, T., Jansson, V., & Müller, P. (2017). Cell Toxicity in Fibroblasts, Tenocytes, and Human Mesenchymal Stem Cells—A Comparison of Necrosis and Apoptosis-Inducing Ability in Ropivacaine, Bupivacaine, and Triamcinolone. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 33(4), 840–848. doi: 10.1016/j.arthro.2016.10.026
- [39] Mizukami, Y. (2012). Bone marrow-derived proangiogenic cells in pancreatic cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 27(2), 23–26. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.07012.x
- [40] Lamouille, S., Xu, J., & Derynck R. (2014). Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(3), 178–196. doi: 10.1038/nrm3758
- [41] Lazennec, G., & Lam, P. Y. (2016). Recent discoveries concerning the tumor – mesenchymal stem cell interactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 1866(2), 290–299. doi: 10.1016/j.bbcan.2016.10.004
- [42] Berger, L., Shamai, Y., Skorecki, K. L., & Tzukerman, M. (2016). Tumor specific recruitment and reprogramming of mesenchymal stem cells in tumorigenesis. *Stem Cells*, 34(4), 1011–1026. doi: 10.1002/stem.2269
- [43] Wang, S., Huang, S., & Sun Y. L. (2017). Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer: A Review. *BiolMed Research International*, 1025–1033. doi: 10.1155/2017/2646148
- [44] Galland, S., Vuille, J., Martin, P., Letovanec, I., Caignard, A., Fregni, G., & Stamenkovic, I. (2017). Tumor-Derived Mesenchymal Stem Cells Use Distinct Mechanisms to Block the Activity of Natural Killer Cell Subsets. *Cell Reports*, 20(12), 2891–2905. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.089
- [45] Zhang, S., Chuah, S., Lai, R., Hui, J., Lim, S., & Toh, W. (2018). MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity. *Biomaterials*, 156, 16–27. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.028
- [46] Wei, X., Liu, C., Wang, H., Wang, L., Xiao, F., Guo, Z., & Zhang, H. (2016). Surface Phosphatidylserine Is Responsible for the Internalization on Microvesicles Derived from Hypoxia-Induced Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells into Human Endothelial Cells. *PLOS ONE*, 11(1), e0147360. doi: 10.1371/journal.pone.0147360

# Pathomorphology of fetal and mature liver under the lead intoxication and after the correction: the review of experimental data

H. V. Dovhal\*<sup>1,A,B,E,F</sup>, M. A. Dovhal<sup>1,B-D</sup>, O. A. Romanenko<sup>2,B,C</sup>

<sup>1</sup>State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, <sup>2</sup>Dnipropetrovsk Institute of Traditional & NonTraditional Medicine, Dnipro, Ukraine

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

Lead is one of the most widespread pollutant which alters the mature liver and is especially harmful for the fetal liver. The typical alterations in the mature liver after the lead exposure are the hypertrophy and vacuolization of hepatocytes, circulatory disorders, mononuclear cellular infiltration. The morphological changes in the liver during prenatal development under the maternal lead treatment are inhibition of hematopoiesis, dystrophy of hepatocytes, disturbances in the liver architecture, its vessels and stroma with a gradient of pathological changes toward the peripheral parts of the organ. The manifestations of liver alteration after birth become deeper with age and develop to the necrosis, edema and inflammation. The biochemical disturbances in the liver are the decrease in the activity of enzymes of energy metabolism, inhibition of protein and nucleic acids synthesis, imbalance of the lipid peroxide oxidation system, and the increasing of oxidative stress with the further alteration of the membranes of the endothelium, red blood cells, hepatocytes, as well as mitochondrial membrane.

The changes in expression of the immunohistochemical markers can differentiate the processes in the liver, which are relatively stable or sensitive to lead, especially in prenatal development, whereas the biochemical parameters are valuable for estimation of the liver damage in postnatal life. The immunohistochemical changes under the lead treatment reflect the inhibition in protein synthesis such as albumin and cytokeratins, as well as growth factors, nitric oxide synthases and matrix metalloproteinases expression; whereas the expression of apoptotic markers increases. The search for the natural products, dietary supplements and drugs with the protective properties is ongoing and covers the wide spectrum of agents, including vitamins, micro- and macroelements, antioxidants, chelating agents, natural extracts, proteins, sorbents and complex-producing drugs. The immunohistochemical markers as well as biochemical parameters can be used to prove the efficacy of protectants for chronic lead intoxication.

## Key words:

fetal liver, mature liver, pathology, heavy metal poisoning, therapies investigational.

## Pathologia

2019; 16 (1), 139–144

## DOI:

10.14739/2310-1237.2019.1.166497

## \*E-mail:

dovgalgem@i.ua

## Патоморфологія плодової та зрілої печінки при інтоксикації свинцем і в умовах корекції: огляд експериментальних даних

Г. В. Довгаль, М. А. Довгаль, О. А. Романенко

Свинець є одним із найпоширеніших токсикантів, який порушує функціонування печінки у зрілому віці, особливо небезпечний для печінки у пренатальному періоді онтогенезу. Типові порушення у зрілій печінці після впливу свинцю – гіпертрофія та вакуолізація гепатоцитів, порушення кровообігу, мононуклеарна клітинна інфільтрація. Морфологічні зміни в печінці під впливом сполук свинцю у пренатальному розвитку – інгібування гемопоезу, печінкова дистрофія, порушення в архітектурі печінки, ураження судин і строми з наростанням патологічних змін у напрямі до периферичних відділів органа. Ураження печінки, що викликане свинцем при пренатальному його впливі, після народження стає глибшим і характеризується некрозами, вираженими набряками і запальними змінами. Біохімічними порушеннями в печінці під дією сполук свинцю є зниження активності ферментів енергетичного обміну, пригнічення синтезу білка, нуклеїнових кислот, дисбаланс системи перикисного окислення ліпідів і наростання ознак оксидативного стресу, що викликає пошкодження мембран ендотеліальних клітин, еритроцитів, гепатоцитів, а також мітохондріальної мембрани.

Використання імуногістохімічних маркерів дає змогу диференціювати процеси в печінці, які відносно стійкі або чутливі до свинцю, особливо у пренатальному розвитку, а біохімічні параметри необхідні для оцінювання пошкоджень печінки в постнатальному періоді. Імуногістохімічні зміни в печінці під впливом сполук свинцю відбивають інгібування синтезу білків, як-от альбумін і цитокератини, а також експресію факторів росту, синтезу оксиду азоту, матриксних металопротеїназ і посилення експресії апоптотичних маркерів. Пошуки натуральних продуктів, харчових добавок і препаратів із захисними властивостями тривають та охоплюють широкий спектр речовин, включаючи вітаміни, мікро- і макроелементи, антиоксиданти, хелатувальні агенти, натуральні екстракти, білки, сорбенти і комплексні препарати. Імуногістохімічні маркери та біохімічні показники можуть використовуватися як доказ ефективності протектантів, що застосовуються при хронічній інтоксикації свинцем.

## Ключові слова:

печінка, патологія, отруєння важкими металами, методи лікування.

## Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 1(45). – С. 139–144

## Патоморфология плодной и зрелой печени при интоксикации свинцом и в условиях коррекции: обзор экспериментальных данных

Г. В. Довгаль, М. А. Довгаль, А. А. Романенко

Свинец является одним из самых распространенных токсикантов, который нарушает функционирование печени в зрелом возрасте и особенно опасен для печени в пренатальном периоде онтогенеза. Типичные нарушения в зрелой

**Ключевые слова:** фетальная печень, зрелая печень, патоморфология, отравление тяжелыми металлами, методы лечения.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 1(45). – С. 139–144

печени после воздействия свинца – гипертрофия и вакуолизация гепатоцитов, нарушения кровообращения, мононуклеарная клеточная инфильтрация. Морфологические изменения в печени под влиянием соединений свинца в пренатальном развитии – ингибирование гемопоэза, печеночная дистрофия, нарушения в архитектуре печени, поражение сосудов и стромы с нарастанием патологических изменений по направлению к периферическим отделам органа. Поражение печени, вызванное свинцом при пренатальном воздействии, после рождения становится более глубоким и характеризуется некрозами, выраженными отеками и воспалительными изменениями. Биохимическими нарушениями в печени под действием соединений свинца являются снижение активности ферментов энергетического обмена, подавление синтеза белка, нуклеиновых кислот, дисбаланс системы перекисного окисления липидов и нарастание признаков оксидативного стресса, вызывающего дальнейшее повреждение мембран эндотелиальных клеток, эритроцитов, гепатоцитов, а также митохондриальной мембраны.

Использование иммуногистохимических маркеров позволяет дифференцировать процессы в печени, которые относительно устойчивы или чувствительны к свинцу, особенно в пренатальном развитии, тогда как биохимические параметры больше подходят для оценки повреждений печени в постнатальном периоде. Иммуногистохимические изменения в печени под влиянием соединений свинца отражают ингибирование синтеза белков, таких как альбумин и цитокератины, а также экспрессию факторов роста, синтаз оксида азота, матриксных металлопротеиназ и усиление экспрессии апоптотических маркеров. Поиски натуральных продуктов, пищевых добавок и препаратов с защитными свойствами продолжаются и охватывают широкий спектр веществ, включая витамины, микро- и макроэлементы, антиоксиданты, хелатирующие агенты, натуральные экстракты, белки, сорбенты и комплексные препараты. Иммуногистохимические маркеры, как и биохимические показатели могут быть использованы для доказательства эффективности протектантов, которые применяются при хронической интоксикации свинцом.

The studies of the harmful impact of the heavy metals are important nowadays by reason of rising level of environmental pollution. Lead – one of the most widespread cumulative pollutants – is known as an agent that demonstrates the toxic properties and impacts the fetal development [4,8,14,30]. It alters most of the metabolic systems of the cell by its ability to inhibit enzymes [8]. The liver is particularly sensitive to lead impact due to the high activity of the numerous enzymatic processes with the different manifestations in pre- and postnatal life [6]. It was found that the main toxic effect of lead in the mature liver was the alteration of membranes of the endothelium, red blood cells and hepatocytes [12]. The typical morphological changes in the liver in experiments with short period lead treatment were the hypertrophy of hepatocytes, vacuolization of cytoplasm, portal space and central vein dilatation, congested central veins, narrowing or even obliteration of sinusoids and the activation of macrophages and lymphocytes with further mononuclear cellular infiltration of the portal tracts [11,26]. The degree of the liver alteration was dependent on the duration of lead exposure [11]. The submicroscopic changes of hepatocytes included the alteration of mitochondria, nuclei and membranes of hepatocytes. There were signs of cytolysis, karyolysis, dissociation of hepatocytes, hyperplasia of mitochondria, swelling of their matrix, dissociation and disappearance of the mitochondrial crists. The terminal disturbance in hepatocytes differentiation was the lack of their polyploidization [11].

The biochemical disturbances in the mature liver of experimental animals under the lead treatment included the inhibition of the protein synthesis resulting in the drop of total protein concentration in the blood, the lipid and carbohydrate metabolism disorders, which led to increase of the triglycerides and glucose level in the blood, whereas the concentration of total lipids and cholesterol tended to decrease [1,23]. The metabolic disorders were accompanied by the morphological signs of hepatocytes alteration, the increase of the size of hepatocytes and their nuclei with the diminishing of nucleic acids concentration in the nuclei and cytoplasm [1]. The DNA became fragmented significantly in the liver of rats exposed to

lead [25]. Lead also caused the disturbance in the lipid peroxide oxidation system in the mature liver and inhibition of the aminoacids and other small molecules transformation into glucose, which impaired the normal function of mitochondria [20]. The mitochondrial membranes and cell membranes became more vulnerable [23,25].

It has been recently reported that the activity of the glutathione peroxidase and superoxide dismutase was decreased in the liver of lead treated rats [31], meanwhile the concentration of malondialdehyde and tumor necrosis factor was increased [13]. The synthesis of the constitutive form of nitric oxide synthase (eNOS) was altered as well, and the synthesis of the inducible form of enzyme increases [3,9]. This shift in the expression of nitric oxide synthase developed along with the morphological signs of vascular disorders and alteration of stromal components [5]. The significant increase of liver enzymes such as glutamic pyruvate transaminase, alanine and aspartate aminotransferases was observed in the blood of lead treated animals [26]. The decrease in the activity of dehydrogenases, monooxygenases, superoxide dismutase, glutathione transferase, glutathione reductase, and, in turn, the decline in the concentration of glutathione is believed to be the basis of circulatory disorders in the liver under the influence of lead [23,28,31]. The disturbance in biochemical parameters took place under the high dosage of the lead [13], meanwhile the lead exposure of the low or moderate dosage did not cause the significant deviations in serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase activities and did not change the serum lipid profile [22].

Lead intoxication during pregnancy caused the reduction of liver weight in newborn rats. It also led to the increase of the level of oxidative stress, meanwhile the level of hepatic mRNA, DNA, protein and antioxidant enzyme activities decreased [20]. The lead impact during pregnancy caused the liver dystrophy and decomposition of liver lobules in newborn rats and during the first month after birth, as well as the sinusoidal hypertrophy, edema of interstitial spaces, lymphocyte infiltration of the portal tracts, and the reduction of glycogen in hepatocytes

[3,10,25]. There was the introlobular necrosis of the liver tissue accompanied by the periportal macrophage-lymphocytic infiltration along the interlobular veins. The venous congestion, sludge of red blood cells, damage of the wall of the interstitial veins and arteries were observed. The necrosis of the hepatic parenchyma, which became multilobular, had been exacerbated by the end of the second month. The type of necrosis was coagulatory or colliquated. The vascular disorders included the disseminated erythrocyte sludge in sinusoid capillaries, stasis and hemolysis in central veins [10,25].

The deep tissue alterations like mentioned before has never been observed in the fetal liver [2,5]. The dystrophic phenomena as a change in the density of the cytoplasm of hepatocytes occurred from the 11<sup>th</sup> embryonic day in the lead treated embryos. The inhibition of the synthesis of acid glycosaminoglycans which are essential for the normal development of the connective tissue in the embryonic liver up to end of the prenatal period was also observed [5,7]. The earliest sign of the suppression of acid glycosaminoglycans synthesis was their total absence between the endothelium of sinusoids and hepatocytes. The acid glycosaminoglycans provide the processes of cell migration, and thus affect the formation of tissue architecture [6]. The further tissue decomposition in the fetal liver under the lead treatment might be due to decrease in acid glycosaminoglycans concentration. These matrix components are normally present subcapsularly in the liver and in the places where the hepatic parenchyma contacts with the mesenchyme of the body. The acid glycosaminoglycans are believed to be the conductor for cell migration of mesenchyme from the trunk and septum transversum to the liver [7]. The inhibition of the migration of these cells may have consequences in the misdevelopment of the liver vessels and the general disturbance in the tissue architecture.

The reduction of glycogen content in hepatocytes of the fetal liver was observed after maternal administration of the lead [2,25]. Lead was also described as an agent that stimulated the proliferation of stellate cells (Ito cells) in the rat fetal liver, which can be detected by the marker of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) and were mostly located along the sinusoids [6]. The concentration of these cells had increased since the 14<sup>th</sup> embryonic day till the end of fetal period and seemed to be maximal in the areas with the severe dystrophic alteration of the liver of lead treated fetuses [9]. The fibrotic changes in the liver of lead treated fetuses were accompanied by the accumulation of Ito cells.  $\alpha$ SMA-positive cells were also observed in the walls of the blood vessels of the intact or altered areas [21].

Other immunohistochemical markers enable to give an additional piece of information about molecular changes in the liver of lead treated fetuses. On the 16<sup>th</sup> embryonic day, a part of parenchymal cells in the intact liver which were positive on albumin could belong to populations of bipotential cells [6], but later the further increase in the number of hepatocytes was observed, so after the 16<sup>th</sup> day this bipotential population produced cells of the liver parenchyma only [9]. The immunohistochemical researches showed that lead caused the inhibition of albumin synthesis in hepatocytes [9]. This protein is

the main marker of maturation of the liver cells. The inhibition of albumin production indicates that lead impacts the most stable molecular processes in hepatocytes, and, perhaps, suppresses the differentiation of hepatocytes from bipotential cell population. The general degenerative phenomena in the liver parenchyma were correlated to the decrease of cytokeratins AE1/AE3 expression [21]. The lead impact on the vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the fetal liver resulted in the non-uniform pattern of immunostaining in the liver parenchyma, whereas the VEGF expression was intact in the stroma [21]. The increase in the number of the caspase-3-positive nuclei was observed in the liver epithelium under lead treatment. The alteration of the stroma was accompanied by the strong caspase-3 expression in the nuclei of stromal cells and the decrease in matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-9 expression [21]. The significant impact of the lead on the vascular endothelium was revealed in eNOS expression. Lead exposure stimulated the production of the inducible form of enzyme. After the maternal exposure before pregnancy and ongoing treatment in early prenatal development, the eNOS expression was weak in all the types of vessels and the suppression of enzyme activity was stable till the end of fetal period [9]. The suppression of the synthesis of the constitutive form of nitric oxide synthase, especially in small caliber vessels, was corresponding to the general toxic effect of lead, which was also observed in the mature liver [29].

The decrease in the specific hepatocyte volume in the rat fetal liver under the maternal lead exposure is another possible cause of the disassembly of the liver tissue [5]. The most severe consequences of lead treatment were observed for the liver hematopoietic cells. The inhibition of the proliferation of hematopoietic cells was almost total. The rapidly proliferating population of blood cells may be the most vulnerable to the impact of toxicant due to hypoxia, which is a result of vascular disorders [2,14].

The tissue pathology in the rat fetal liver showed the clear gradient pattern with the increase of the morphological changes towards the peripheral parts of organ [5]. It can also be explained by the gradient of vascular damage in the liver. The dystrophic changes had rapidly transformed into partial necrosis and fibrosis of hepatic parenchyma up to the end of the fetal period. The vascular network was well developed in the areas with the replacement of the liver parenchyma by the fibrous tissue [5]. There was not the lymphohistiocytic infiltration in the liver parenchyma of lead treated fetuses, which was a regular finding in the liver of the lead exposed rat in postnatal life [24]. The lack of the immune reply in the fetal liver is a result of immaturity of the immune system of the fetus and its inhibition by the toxicant [14].

The dystrophic changes in hepatocytes under the lead treatment during the fetal period are dependent on terms of toxicant administration. There were much more pronounced morphological alterations in the liver if the maternal lead exposure had lasted a few weeks before pregnancy [5], than with only lead treatment after fertilization or later [10]. In this case the lead accumulation does not occur in the mother's body. There is evidence that the lead administration before pregnancy can negatively

affect the development of embryo, because the pregnancy causes a release of lead ions from the maternal organs, which are depots of lead [10]. The largest amount of lead comes through the placental barrier when the placenta starts to form. When the lead is getting into the body of pregnant females, the significant morphological changes in the placenta are being observed, which is a reason for the further damage of the internal organs of the fetus, in particular the liver and kidneys [10]. Pregnancy, as a stress factor, increases the absorption of lead. Thus, the damage of the fetal liver in the experiments with lead administration before pregnancy is precisely caused by the previous accumulation of lead in the maternal organs and its further release from the depots during the early period of pregnancy [2,5].

The search for the drugs with the protective properties to lead has been carrying out along with the studies of lead toxic effects. The antioxidants, chelating agents, sorbents and complex-producing drugs were proposed for the prevention and treatment of chronic lead intoxication. It is proved that the lead negative impact increases with low concentrations of minerals, micro- and macroelements in the diet [2]. The reducing of the lead absorption from the gastrointestinal tract in the presence of other metals or minerals can be explained by the competitive interaction. In comparative studies of complex-producing protectant as casein and sorbent as charcoal it was proved that the first had more positive effect for the level of liver enzymes [23].

The antioxidants compose the group of drugs which has been investigated the most. Selenium and  $\alpha$ -tocopherol showed the positive effect for the level of aspartate and alanine transaminases, total protein, urea, creatinine, superoxide dismutase and glutathione, as well as the lipid peroxidation index [33]. Some drugs like morpholine salt of titanic acid with membrane stabilizing and antioxidant properties and sulfur-containing products improved hepatocytes morphology and biochemical parameters [1]. The use of  $\alpha$ -tocopherol-containing natural products like cod liver oil for the correction of chronic lead intoxication caused the moderate membrane-protective effect in hepatocytes, the conservation of mitochondria and the maintenance of their proliferation [14]. The oxidative stress induced by lead caused the increase in reactive oxygen species, total protein carbonyl content and lipid peroxidation products in the rat liver, whereas the administration of *Moringa oleifera* seed powder restored all the parameters in the organ and the blood [12]. It has been proved that the caloric restriction prevented partly the harmful impact of lead and restored some parameters which depended on the liver function: the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, the concentration of malondialdehyde and tumor necrosis factor; the biochemical findings were supported by the histological studies which pointed to the attenuation of the inflammatory processes in the liver [13].

The positive shifts in the metabolic profile of lead treated rats occurred after addition of artichoke extract and vitamin C to the diet. The significant decrease of the serum lead, alanine and aspartate transaminases, alkaline phosphatase and malondialdehyde and improvement of the lipoprotein profile were observed [24]. Less

pronounced degeneration of the liver parenchyma and reducing of vessels congestion were observed after the administration of protectants. The diminution of lymphocyte infiltration in the liver was the morphological evidence of the protective effect. It was proved that green tea extract [31] and extract of rosemary [32] had the positive effect for the level of the liver enzymes and serum protein as well as for the liver morphology. It has been found that the natural flavonoids prevented the tissue damage caused by lead due to maintaining of the activity of eNOS and inhibition of apoptosis [29]. According to the group of researchers [28], in the liver these agents can smooth the manifestations of oxidative stress and reduce hyperlipidemia in lead treated animals. The increase of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of the DNA-damage induced by lead as well the caspase-3 activity in the rat liver was effectively suppressed by puerarin (flavonoid), so lead-induced apoptosis might be reversible [29].

The search for the natural products, dietary supplements and drugs, which can improve the state of liver in case of intoxication with heavy metals, is ongoing. Extract of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) [15, 21], and garlic (*Allium sativum*) [17], have significant hepatoprotective effect, but it was not the same for different metals. The highest hepatoprotective effect of extract of tomatoes was to cadmium and mercury and it showed the least protective property for lead [15]. The same tendency was revealed for the garlic extract and *Garcinia kola* extract [17, 18]. The most toxic effect of lead for the liver among other heavy metal was also proved when the *Ground Zingiber officinale* or palm oil were used as the protectants and they were the least beneficial for lead compared to cadmium and mercury [16, 19].

The supplementation of natural products like spirulina or dandelion during pregnancy diminished the signs of oxidative stress, restored the level of hepatic DNA, mRNA and protein, and eliminated the inhibition of the antioxidant enzymes in the liver induced by lead [20, 34]. The powder of wine yeast *Sassharymyces vini* administered before and during pregnancy showed the significant protective effect for the restoring of the blood cell population in the fetal liver; this result can be explained by its antioxidant effect. This protectant could also inhibit the absorption of lead and thus reduced the level of a toxicant in the maternal blood [5]. The microelements contained in powder of wine yeast *Sassharymyces vini* may also have a partial shielding effect, as it was shown in studies with the addition of calcium pectates in the diet; the concentration of lead in the blood of experimental animals was reduced [27]. Coenzyme Q10, which is capable to increase the cellular energy resources, exhibits antioxidant effects and supports cellular enzymatic systems; it had a protective effect for rat fetuses survival and liver parameters of lead treated fetuses [4,5]. The morphological and immunohistochemical findings proved that the coenzyme Q10 was less protective compared to wine yeast *Sassharymyces vini*, perhaps, because it did not affect the absorption of lead from the gastrointestinal tract [9]. Lycopene (pigment of tomato) as a protectant for lead treated fetuses restored partly the AE1/AE3 expression in the liver, and also caused the decrease in caspase-3 expression, but did not change VEGF, MMP-1

and MMP-9 expression. The positive effect was observed for the quantity and distribution of  $\alpha$ SMA-positive cells [21]. All the manifestations of morphological pathology were smoothed with the correction of wine yeast *Sassharamyces vini*, but not of coenzyme Q10. Both of protectors can partially mask the influence of lead and reduce the suppression of the activity of eNOS [9]. Some vessels of medium caliber saved the sufficient level of eNOS activity regardless of the degree of impairment of hepatic parenchyma, whereas specific hepatocyte volume did not change significantly after the addition of protectants [9].

## Conclusions

1. The morphological changes in the liver under the lead exposure are different in prenatal and postnatal period. The main pathological features in the fetal liver are inhibition of hematopoiesis, dystrophy of hepatocytes, disturbances in the liver architecture, vessels and stroma, all the alterations become deeper after birth. The typical morphological changes in the mature liver after the lead exposure are the hypertrophy and vacuolization of hepatocytes, circulatory disorders, signs of inflammation; their expression is dependent on terms of toxicant administration.

2. The changes in expression of the immunohistochemical markers can differentiate the processes in the liver, which are relatively stable or sensitive to the lead, especially in prenatal development. The most vulnerable processes are the synthesis of the proteins, expression of markers of apoptosis, growth factors and enzymes.

3. The search for the natural products, dietary supplements and drugs with the protective properties is ongoing and covers the wide spectrum of agents. The immunohistochemical markers as well as morphological, histochemical or biochemical parameters can be used as testimonies to prove the efficacy of protectants.

**Prospects for further research.** The further development in this direction involves the search of new drugs with more protective effect, and broadening the range of the morphological, histochemical, biochemical and immunohistochemical methods to confirm the effectiveness of the agents with protective properties.

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

Надійшла до редакції / Received: 02.10.2018  
Після доопрацювання / Revised: 15.10.2018  
Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2018

## Information about authors:

Dovhal H. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Human Anatomy, State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.  
Dovhal M. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology, State Establishment "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine.  
Romanenko O. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Surgery, Dnipropetrovsk Institute of Traditional & NonTraditional Medicine, Dnipro, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Довгаль Г. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. анатомії людини, ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.  
Довгаль М. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної фізіології, ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.  
Романенко А. А., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії, Дніпропетровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини, м. Дніпро, Україна.

## Сведения об авторах:

Довгаль Г. В., д-р мед наук, профессор, зав. каф. анатомии человека, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр.  
Довгаль М. А., д-р мед наук, профессор, зав. каф. патологической физиологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр.  
Романенко А. А., канд. мед. наук, доцент каф. хирургии, Днепропетровский медицинский институт традиционной и нетрадиционной медицины, г. Днепр, Украина.

## References

- [1] Aleksijchuk, V. D., Sokurenko, L. M., & Omelchuk, S. T. (2015) Osoblyvosti vplyvu nanochastok sulfidu ta nitratu svyntsiu na orhanizm eksperymentalnykh tvaryn u rizni periody doslidzhennia ta metody korektsii yikh nehatyvnoi dii [Peculiarities of lead sulphide and nitrate nanoparticles influence on organisms of experimental animals in different research periods and methods of its negative impact correction]. *Svit medytsyny ta biolohii*, 54(4), 97–100. [in Ukrainian].
- [2] Belska, Iu. O (2016) Osoblyvosti morfolohii fetalnoi pechinky pid vplyvom atsetatu svyntsiu ta za umov korektsii mikroelementamy [Morphological features of fetal liver under the influence of lead acetate and in case of correction by microelements]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 128(2), 327–330. [in Ukrainian].
- [3] Vylegzhantina, T. A. (2015) Vliyanie acetata svinca na razvitie pecheni kryv [The influence of lead acetate on development of liver of rats]. *Medicinskij zhurnal*, 2(52), 44–48. [in Russian].
- [4] Dovgal, G. V. (2014) Vplyv atsetatu svyntsiu na vyzhyvanist zarodkiv shchuriv ta mozhyvist korektsii [Influence of Lead Acetate on Rat Embryos Survival and under the Correction]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 105(1), 93–96. [in Ukrainian].
- [5] Dovgal, G. V. (2014) Morfolohichni zminy v rozvytku pechinky shchuriv pry vplyvi atsetatu svyntsiu ta za umov korektsii v prenatalnomu periodi [Morphological changes in the development of rat liver after the lead acetate treatment and under the correction in the prenatal period]. *Ukrainskyi morfolohichnyi almanakh*, 12(1), 42–44. [in Ukrainian].
- [6] Dovgal, G. V. (2013) Morfolohichni zminy v rozvytku pechinky shchuriv pry vplyvi atsetatu svyntsiu ta za umov korektsii v prenatalnomu periodi [Morphological and molecular biological characteristics of prenatal development of rat liver]. *Ukrainskyi morfolohichnyi almanakh*, 11(4), 22–26. [in Ukrainian].
- [7] Dovgal, G. V. (2014) Rol kyslykh hlikozaminohlikaniv v prenatalnomu rozvytku pechinky shchuriv [The role of acid glycosaminoglycans in the prenatal development of the rat liver]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 109(2), 257–259. [in Ukrainian].
- [8] Koshkina, V. S., Kotlyar, N. N., Kotelnikova, L. V., & Dolgushina, N. A. (2013) Kliniko-toksikologicheskaya kharakteristika svinca i ego soedinenij [Clinical and toxicological properties of lead and its compounds]. *Medicinskie novosti*, 1, 23–26. [in Russian].
- [9] Romanenko, A. A., Dovgal, G. V., & Dovgal, M. A. Immunohistokhimichne doslidzhennia pechinky shchuriv v piznomu prenatalnomu periodi pid vplyvom atsetatu svyntsiu ta za umov korektsii [The Immunohistochemical Examination Of Rat Liver In The Late Embryonic Period Under The Influence Of Lead Acetate And After Correction]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 102(3), 158–161. [in Ukrainian].
- [10] Shubina, O. S., & Kireeva, Yu. V. (2008) Vliyanie svincovoj intoksikacii na morfofunkcional'noe sostoyanie sistemy placenta-plod [Influence of Lead Intoxication on Morphofunctional Condition of System of Patient-Fetus]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 6(88), 118–121. [in Russian].
- [11] Metwally, E. S.A.M., Negm, F. A., El-din, R. A.S., & Nabil, E. M. (2015) Anatomical and histological study of the effect of lead on hepatocytes of albino rats. *International Journal of Biomedical Materials Research*, 3(4), 34–45. doi: 10.11648/j.ijbmr.20150304.11
- [12] Velaga, M. K., Daughtry, L. K., Jones, A. C., Yallapragada, P. R., Rajanna, S., & Rajanna, B. (2014) Attenuation of lead-induced oxidative stress in rat brain, liver, kidney and blood of male Wistar rats by Moringa oleifera seed powder. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 33(4), 323–37.

- [13] Mohammadi, M., Ghaznavi, R., Keyhanmanesh, R., Sadeghipour, H. R., Naderi, R., & Mohammadi, H. (2014) Caloric restriction prevents lead-induced oxidative stress and inflammation in rat liver. *Scientific World Journal*, 5. doi: 10.1155/2014/821524.
- [14] Hassan, R. A., Amin, D. M., Rahmy, N. A., Hatem, M. E., & Dessouky, M. I. (2012) Clinicopathological, histopathological and immunological studies on animals exposed to lead and cadmium under experimental conditions. *N Y Sci J*, 5(12), 120–136.
- [15] Nwokocho, C. R., Nwokocho, M. I., Aneto, I., Obi J., Udekwelzeze, D. C., Olatunde B., et al. (2012) Comparative analysis on the effect of *Lycopersicon esculentum* (tomato) in reducing cadmium, mercury and lead accumulation in liver. *Food Chem Toxicol*, 50(6), 2070–3. doi: 10.1016/j.fct.2012.03.079
- [16] Nwokocho, C. R., Nwokocho, M. I., Owu, D. U., Obi, J., Olatunde, B., Ebe, C., et al. (2012) Comparative analysis on the effect of palm oil (*Elaeis guineensis*) in reducing cadmium and lead accumulation in liver of Wistar rats. *Pharmacognosy Res*, 4(4), 214–8. doi: 10.4103/0974-8490.102266
- [17] Nwokocho, C. R., Owu, D. U., Nwokocho, M. I., Ufearo, C. S., & Iwuola, M. O. (2012) Comparative study on the efficacy of *Allium sativum* (garlic) in reducing some heavy metal accumulation in liver of wistar rats. *Food Chem Toxicol*, 50(2), 222–6. doi: 10.1016/j.fct.2011.11.003
- [18] Nwokocho, C. R., Owu, D. U., Ufearo, C. S., & Iwuola, M. O. (2011) Comparative study on the efficacy of *Garcinia kola* in reducing some heavy metal accumulation in liver of Wistar rats. *J Ethnopharmacol*, 135(2), 488–91. doi: 10.1016/j.jep.2011.03.049
- [19] Nwokocho, C. R., Owu, D. U., Nwokocho, M. I., Ufearo, C. S., & Iwuola, M. O. (2012) Comparative study on the hepatoprotection to heavy metals of *Zingiber officinale*. *Pharmacognosy Res*, 4(4), 208–13. doi: 10.4103/0974-8490.102263
- [20] Gargouri, M., Magné, C., Ben Amara, I., Ben Saad, H., & El Feki, A. (2017) Dandelion-enriched diet of mothers alleviates lead-induced damages in liver of newborn rats. *Cell Mol Biol*, 63(2), 67–75. doi: 10.14715/cmb/2017.63.2.10
- [21] Dovhal, H. V., Dovhal, M. A., & Romanenko, O. A. (2017) The expression of immunohistochemical markers in the fetal liver after maternal exposure of lead acetate and under the correction. *Science Review*, 7, 17–19.
- [22] Allouche, L., Hamadouche, M., Touabti, A., & Khenouf, S. (2011) Effect of long term exposure to low or moderate lead concentrations on growth lipid profile and liver function in albino rats. *Advan Biol Res*, 5(6), 339–47.
- [23] Hanan, A. A., & Riham, M. R. (2012) Effect of lead toxicity on cytogenicity, biochemical constituents and tissue residue with protective role of activated charcoal and casein in male rats. *Environ. Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(7), 497–509.
- [24] Heidarian, E., & Rafeian-Kopaei, M. (2013) Protective effect of artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against lead toxicity in rat. *Pharm Biol*, 51(9), 1104–9. doi: 10.3109/13880209.2013.777931
- [25] Hegazy, A., & Fouad, U. (2014) Evaluation of lead hepatotoxicity; histological, histochemical and ultrastructural study. *Forensic Medicine and Anatomy Research*, 2, 70–79. doi: 10.4236/fmar.2014.23013
- [26] Haouas, Z., Sallem, A., Zidi, I., Hichri, H., Mzali, I., & Mehdi, M. (2014) Hepatotoxic effects of lead acetate in rats: histopathological and cytotoxic studies. *J Cytol Histol*, 5, 256. doi: 10.4172/2157-7099.1000256
- [27] Khotimchenko, M., Makarova, K., Khozhaenko, E., & Kovalev, V. (2017) Lead-binding capacity of calcium pectates with different molecular weight. *Int J Biol Macromol*, 97, 526–535. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.065
- [28] Liu, C. M., Ma, J. Q., & Sun, Y. Z. (2011) Protective role of puerarin on lead induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats. *Food Chem Toxicol*, 49, 3119–27. doi: 10.1016/j.fct.2011.09.007
- [29] Liu, C. M., Ma, J. Q., & Sun, Y. Z. (2012) Puerarin protects the rat liver against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Exp Toxicol Pathol*, 64(6), 575–82. doi: 10.1016/j.etp.2010.11.016
- [30] Zhu, M., Fitzgerald, E. F., Gelberg, K. H., Lin, S., & Druschel, C. M. (2010) Maternal low-level lead exposure and fetal growth. *Environ Health Perspect*, 118(10), 1471–1475. doi: 10.1289/ehp.0901561
- [31] Mehana, E. E., Meki, A. M. A., & Fazili, K. M. (2012) Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. *Exp Toxicol Pathol*, 64(4), 291–5. doi: 10.1016/j.etp.2010.09.001
- [32] Mohamed, W. A., Abd-Elhakim, Y. M., & Farouk, S. M. (2016) Protective effects of ethanolic extract of rosemary against lead-induced hepato-renal damage in rabbits. *Exp Toxicol Pathol*, 68(8), 451–61. doi: 10.1016/j.etp.2016.07.003
- [33] Elgaml, S. A., Khalil, R., Hashish, A., & El-Murr, A. (2015) Protective effects of selenium and alpha-tocopherol against lead-induced hepatic and renal toxicity in *Oreochromis niloticus*. *J Aquac Res Development*, 6(1), 299. doi: 10.4172/2155-9546.1000299
- [34] Gargouri, M., Ben Saad, H., Ben Amara, I., Magné, C., & El Feki, A. (2016) Spirulina exhibits hepatoprotective effects against lead induced oxidative injury in newborn rats. *Cell Mol Biol*, 62(10), 85–93. doi: 10.14715/cmb/2016.62.10.14