

Патологія



Том 16, № 3(47), вересень – грудень 2019 р.

Редакційна колегія

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

чл.-кор. РАМН, проф. Н.М. Анічков (Санкт-Петербург, РФ)
д.м.н. С.І. Воротинцев (Запоріжжя)
проф. О.В. Ганчева (Запоріжжя)
проф. С.Г. Гичка (Київ)
проф. А.І. Гоженко (Одеса)
проф. О.А. Григор'єва (Запоріжжя)
проф. І.С. Давиденко (Чернівці)
проф. О.О. Дядик (Київ)
проф. М. Єлень (Вроцлав, Польща)
проф. С. М. Завгородній (Запоріжжя)
чл.-кор. НАМН України, проф. Т.Д. Задорожна (Київ)
проф. К.Д. Захаровскі (Франкфурт, ФРН)
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. Д.Д. Зербіно (Львів)
чл.-кор. РАМН, проф. Л.В. Кактурський (Москва, РФ)
проф. О.М. Камишний (Запоріжжя)
проф. С.М. Киселев (Запоріжжя)
проф. А.В. Клименко (Запоріжжя)
проф. М.Ю. Колесник (Запоріжжя)
проф. Д. Контогеоргос (Афіни, Греція)
проф. Г.О. Леженко (Запоріжжя)
проф. Н.С. Михайловська (Запоріжжя)
проф. М.К. Недзьведь (Мінськ, Республіка Білорусь)
проф. С.В. Петров (Казань, РФ)
проф. Ю.О. Поспішіль (Львів)
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. О.Г. Резніков (Київ)
проф. Д.Г. Рекалов (Запоріжжя)
проф. О.С. Решетнікова (Калінінград, РФ)
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. А.М. Романенко (Київ)
проф. А.М. Романюк (Суми)
чл.-кор. НАН України, проф. Г.Г. Скібо (Київ)
проф. І.В. Сорокіна (Харків)
проф. В.О. Шаврін (Запоріжжя)
проф. І.С. Шпонька (Дніпро)

Editorial Board

Editor-in-Chief – V.O. Tumanskiy
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov
Executive secretary – S.I. Tertshnyi
N.M. Anichkov (St. Petersburg, RF)
I.S. Davydenko (Chernivtsi, Ukraine)
O.O. Dyadyk (Kyiv, Ukraine)
A.I. Gozhenko (Odesa, Ukraine)
S.H. Gychka (Kyiv, Ukraine)
O.V. Hancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)
O.A. Hryhorieva (Zaporizhzhia, Ukraine)
M. Jeleń (Wroclaw, Poland)
L.V. Kakturskiy (Moscow, RF)
O.M. Kamyshnyi (Zaporizhzhia, Ukraine)
S.M. Kyselov (Zaporizhzhia, Ukraine)
A.V. Klymenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
M. Yu. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)
G.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.K. Nedzved (Minsk, Belarus)
S.V. Petrov (Kazan, RF)
Yu.O. Pospishil (Lviv, Ukraine)
M.D. Rekalov (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)
O.H. Reznikov (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romaniuk (Sumy, Ukraine)
V.O. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.S. Shponka (Dnipro, Ukraine)
H.H. Skibo (Kyiv, Ukraine)
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)
S.I. Vorotyntsev (Zaporizhzhia, Ukraine)
K.D. Zacharowski (Frankfurt, Germany)
T.D. Zadorozhna (Kyiv, Ukraine)
S.M. Zavhorodniy (Zaporizhzhia, Ukraine)
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

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 України категорії «А», в якому можуть публікуватися результати дисертаційних робіт у галузі медичних наук, спеціальності 221, 222, 224, 228 (наказ Міністерства освіти і науки України № 1301 від 15.10.2019 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 № 5 від 17.12.2019 р.
Підписано до друку
18.12.2019 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. № 12/19.

Pathologia

Volume 16 No. 3 September – December 2019

Scientific Medical Journal. Established in October 2004
Zaporizhzhia State Medical University

Submit papers are peer-reviewed

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

Оригінальні дослідження

Колесник Ю. М., Ісаченко М. І., Мельнікова О. В.

Особливості системи оксиду азоту в міокарді лівого шлуночка щурів з експериментальною переривчастою гіпоксією різної тривалості

Курята О. В., Семенов В. В.

Ремоделювання міокарда та жорсткість артерій залежно від рівня альдостерону в пацієнтів із хронічною хворобою нирок та артеріальною гіпертензією

Грушка Н. Г., Кондрацька О. А., Павлович С. І., Пількевич Н. О., Янчій Р. І.

Інгібування полі(АДФ-рибозо)полімерази сприяє зменшенню оксидативного стресу в печінці мишей за умов експериментальної ендотоксемії

Левіч А. В., Скороходова Н. О., Живиця Д. Г., Просветов Ю. В.

Стан тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом протитуберкульозних препаратів

Шаменко В. О., Каджарян Є. В., Абрамов А. В.

Нейроендокринна реакція дрібноклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при переривчастій дії гіпобаричної гіпоксії

Рябокоть Ю. Ю., Білокобила С. О., Рябокоть О. В.

Клінічна характеристика ускладнень кору в дорослих у взаємозв'язку зі змінами функціонального стану вегетативної нервової системи

Абрамова Н. О., Пашковська Н. В.

Особливості вуглеводного обміну в пацієнтів із метаболічним синдромом залежно від С/Т поліморфізму гена DIO 1

Абрамова Т. В., Іваненко Т. В., Мельнікова О. В.

Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 в панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів зі стрептозотозин-індукованим діабетом

Кузык Ю. І.

Особливості патоморфологічної структури атеросклеротичних бляшок при каротидному атеросклерозі

Фуштей І. М., Ткаченко О. В., Подсевахіна С. Л., Паламарчук О. І.

Субклінічні ознаки атеросклеротичного ремоделювання судин артеріального русла у хворих на ревматоїдний артрит

Дейніченко О. В., Круть Ю. Я.

Фактори ангиогенезу та плацентарні гормони у вагітних з артеріальною гіпертензією

Хоменко І. П., Король С. О., Кожокару А. А., Матвійчук Б. В., Січінава Р. М.

Функціональний стан серцево-судинної системи в поранених з ушкодженнями кінцівок на рівнях медичного забезпечення за даними тетраполярої реографії

Гайдаш Д. І., Гайдаш І. С., Бондарь О. О., Євтушенко Ю. О., Гайдаш О. І.

Активність матриксних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові при хронічному гранулювальному періодонтиті

Original research

308 Kolesnyk Yu. M., Isachenko M. I., Melnikova O. V.

The features of the nitric oxide system in the left ventricle myocardium in the rats with experimental intermittent hypoxia of different duration

315 Kuryata O. V., Semenov V. V.

Myocardial remodeling and arterial stiffness depending on aldosterone level in patients with chronic kidney disease and arterial hypertension

323 Hrushka N. H., Pavlovych S. I., Kondratska O. A., Pilkevych N. O., Yanchii R. I.

Inhibition of poly(ADP-ribose)polymerase contributes to the reduction of oxidative stress in murine liver under the conditions of experimental endotoxemia

328 Levich A. V., Skorokhodova N. O., Zhyvytsia D. H., Prosvietov Yu. V.

Investigation of the thiol-disulfide system state of rats with encephalopathy caused by the effect of antituberculous drugs

334 Shamenko V. O., Kadzharian Ye. V., Abramov A. V.

Intermittent hypobaric hypoxia and neuroendocrine reaction of the parvocellular neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus

339 Riabokon Yu. Yu., Bilokobyla S. O., Riabokon O. V.

Clinical description of measles complications in adults in connection with changes in the functional state of the autonomic nervous system

345 Abramova N. O., Pashkovska N. V.

Peculiarities of carbohydrate metabolism in patients with metabolic syndrome depending on C/T polymorphism in the DIO 1 gene

350 Abramova T. V., Ivanenko T. V., Melnykova O. V.

Features of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets of normotensive and hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes

355 Kuzyk Yu. I.

Features of the pathomorphological structure of the atherosclerotic plaques of carotid atherosclerosis

362 Fushtei I. M., Tkachenko O. V., Podsevakhina S. L., Palamarchuk O. I.

Subclinical features of atherosclerotic remodeling of arteries in patients with rheumatoid arthritis

368 Deinichenko O. V., Krut Yu. Ya.

Factors of angiogenesis and placental hormones in pregnant women with arterial hypertension

373 Khomenko I. P., Korol S. O., Kozhokaru A. A., Matviichuk B. V., Sichinava R. M.

Functional status of the cardiovascular system in the wounded with limb injuries at the levels of health care according to tetrapolar rheography

381 Haidash D. I., Haidash I. S., Bondar O. O., Yevtushenko Yu. O., Haidash O. I.

Activity of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in serum in chronic granulating periodontitis

Оригінальні дослідження

Крайдашенко О. В., Тягла О. С.

Клінічна ефективність екзогенного L-аргініну у хворих на гіпертонічну хворобу на тлі хронічного обструктивного захворювання легень

Троян В. І., Сінайко І. О., Лобова О. В., Костровський О. М.

Частота метастазування у сторожовий лімфовузол і його предиктори у хворих на рак гортані T₁₋₂N₀M₀

Шумна Т. Є., Недельська С. М., Федосєєва О. С.

Дослідження асоціації розподілу генотипів поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) із показниками функції зовнішнього дихання в дітей із бронхіальною астмою

Огляди

Ащеулова Т. В., Компанієць К. М., Герасимчук Н. М.

Надмолекулярний комплекс сакубітріл/валсартан – перший представник нового класу препаратів для лікування хронічної серцевої недостатності

Тереметський В. І., Матвійчук А. В., Музичук О. М., Щербаківський М. Г., Одерій О. В.

Особливості правової охорони медичних винаходів: сучасність і перспективи

Клінічний випадок

Разнатовська О. М., Федорець А. В., Фурик О. О., Макуріна Г. І., Грекова Т. А., Ромащенко В. В.

Клінічний випадок поєданого перебігу туберкульозу з широкою лікарською стійкістю з ВІЛ-інфекцією та третинним сифілісом

Original research

387 Kraidashenko O. V., Tiahla O. S.

Clinical efficiency of exogenous L-arginine in patients with essential hypertension against the background of chronic obstructive pulmonary disease

395 Troian V. I., Sinaiko I. O., Lobova O. V., Kostrovskiy O. M.

Frequency of metastasis in sentinel lymph node and its predictors in patients with laryngeal cancer T₁₋₂N₀M₀

401 Shumna T. Ye., Nedelska S. M., Fedosieieva O. S.

Study of the association of distribution pattern of genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (RS1107946) with indicators of external breathing in children with bronchial asthma

Review

408 Ashcheulova T. V., Kompaniets K. M., Herasymchuk N. M.

Supramolecular complex sacubitril/valsartan – the first representative of a new class of drugs for the treatment of chronic heart failure

417 Teremetskyi V. I., Matviichuk A. V., Muzychuk O. M., Shcherbakovskiy M. H., Oderii O. V.

Features of legal protection of medical inventions: present and future

Case report

424 Raznatovska O. M., Fedorets A. V., Furyk O. O., Makurina H. I., Hreкова T. O., Romashchenko V. V.

Clinical course of extensively drug-resistant tuberculosis with HIV infection and tertiary syphilis: a case report

Міжнародна індексація журналу / Indexing

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

Ulrich's Periodicals Directory (США)

WorldCat (США): http://www.worldcat.org/title/patohiia/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&L=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=dcsesde&newsearch=1>

JournalTOCs (Великобританія): http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&page=1&userQueryID=&sort=&local_page=1&sortType=&sortCol=1

CiteFactor (США): http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd_smg

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

Index Copernicus (Польща): <http://www.journals.indexcopernicus.com/Pathologia,p5665,3.html>

DOAJ (Великобританія): <https://doaj.org/toc/2310-1237>

The features of the nitric oxide system in the left ventricle myocardium in the rats with experimental intermittent hypoxia of different duration

Yu. M. Kolesnyk^{A,F}, M. I. Isachenko^{*B,C,D}, O. V. Melnikova^E

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:

nitric oxide synthase, NOS isoforms, left ventricle, heart, intermittent hypoxia, rats, Wistar.

Pathologia

2019; 16 (3), 308–314

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188783

*E-mail:

fedotova@zsmu.pp.ua

The aim was to determine the features of the NO system status in the left ventricular myocardium in the rats with intermittent hypoxic hypobaric hypoxia during 15 and 60 days.

Material and methods. The study was conducted on the 30 Wistar male rats, which were divided into 3 experimental groups: the 1st – control, the 2nd – rats exposed to intermittent hypoxia during 15 days and the 3rd group – the rats exposed to intermittent hypoxia during 60 days. Blood pressure was measured in all the rats. The objects and methods of the study were blood plasma (nitrotyrosine detection with immunoassay) and the myocardium of the left ventricle (concentration of nitrites by Griess nitrite test and content of immunoreactive material to the nitric oxide synthase isoforms by immunofluorescence method). mRNA expression of NOS isoforms was determined by PCR-RT method in the myocardium.

Results. In the rats with 15-day hypoxia there was an increase in systolic pressure compared to control, and in 60-day hypoxia, there was also an increase in diastolic pressure although this changes were within the normotensive range. mRNA to all the myocardial NOS isoforms was characterized by an increase in both hypoxia groups.

At the same time, the indices of the immunoreactive material content to the NOS isoforms were dependent on the hypoxia term. The concentration of the nitrotyrosine increased in both hypoxic groups, but in the long term it occurred along with a decrease in the level of nitrite, which indicates the possibility of nitro-oxidative stress.

Conclusions. The 15-day intermittent hypoxia changes the myocardial NO system: an increase in the expression of all 3 isoforms, an increase in the nitrite and the nitrotyrosine content. iNOS becomes the predominant form of the enzyme in the myocardium with the increasing its mRNA. In 60-day hypoxia, the profile of the NOS enzyme is characterized by increased expression of the constitutive isoforms and decreased inducible NOS expression that was accompanied with significant increase in mRNA of all three forms. The level of terminal metabolites of NO was characterized by a decrease in the nitrite while the content of the nitrotyrosine increased.

Ключові слова:

синтаза оксиду азоту, ізоформи синтази оксиду азоту, лівий шлуночок серця, переривчаста гіпоксія, щури лінії Wistar.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 308–314

Особливості системи оксиду азоту в міокарді лівого шлуночка щурів з експериментальною переривчастою гіпоксією різної тривалості

Ю. М. Колесник, М. І. Ісаченко, О. В. Мельнікова

Мета роботи – встановити особливості стану системи NO в міокарді лівого шлуночка щурів при переривчастій гіпоксичній гіпобаричній гіпоксії тривалістю 15 і 60 днів.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 30 щурах-самцях лінії Wistar, яких поділили на 3 експериментальні групи: 1 – контрольна, 2 – щури, які зазнавали впливу переривчастої гіпоксії протягом 15 днів, 3 група – щури з гіпоксією протягом 60 днів. Усім щурам вимірювали артеріальний тиск. Об'єкти дослідження – плазма крові, в якій імуноферментним методом визначали концентрацію нітротирозину, та міокард лівого шлуночка, в якому біохімічним методом Грісса досліджували концентрацію нітритів, імунофлуоресцентним методом визначали вміст імунореактивного матеріалу до ізоформ синтази оксиду азоту. Також у міокарді методом ПЛР-РЧ визначали експресію мРНК до ізоформ NOS.

Результати. Хоча показники АТ у щурів із гіпоксією перебувають у нормотензивних межах, у групах із гіпоксією спостерігали збільшення систолічного тиску порівняно з контролем, а при 60-денній гіпоксії – збільшення і діастолічного тиску. мРНК до всіх ізоформ у міокарді характеризувалась збільшенням в обох групах із гіпоксією.

Показники вмісту імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS змінювалися не так однозначно й мали залежність від терміну гіпоксії. Концентрація нітротирозину збільшилась в обох гіпоксичних групах, але при тривалій гіпоксії це відбулося на тлі зменшення рівня нітритів, що дає змогу припустити розвиток нітросексидативного стресу.

Висновки. 15-денна переривчаста гіпоксія призводить до зміни міокардіального ізоформного профілю NOS, збільшення показників експресії всіх трьох ізоформ, підвищення вмісту нітритів і нітротирозину. Переважною формою ферменту в міокарді стає iNOS на тлі збільшення її мРНК. При 60-денній гіпоксії профіль ферменту NOS характеризується збільшенням експресії конститутивних ізоформ і зниженням індукційної ізоформи на тлі істотного підвищення мРНК усіх трьох форм. Рівень кінцевих метаболітів NO характеризується зниженням нітритів, але збільшенням вмісту нітротирозину.

Особенности системы оксида азота в миокарде левого желудочка крыс с экспериментальной прерывистой гипоксией различной продолжительности

Ю. М. Колесник, М. И. Исаченко, О. В. Мельникова

Цель работы – установить особенности состояния системы NO в миокарде левого желудочка крыс при прерывистой гипоксической гипобарической гипоксии продолжительностью 15 и 60 дней.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 крысах-самцах линии Wistar, которых поделили на 3 экспериментальные группы: первая – контрольная, 2 – крысы, которые подвергались прерывистой гипоксии в течение 15 дней, 3 группа – крысы с гипоксией в течение 60 дней. Всем крысам измеряли артериальное давление. Объекты исследования – плазма крови, в которой иммуноферментным методом определяли концентрацию нитротирозина, и миокард левого желудочка, в котором биохимическим методом Грисса исследовали концентрацию нитритов, иммунофлуоресцентным методом определяли содержание иммунореактивного материала к изоформам синтазы оксида азота. Также в миокарде методом ПЦР-РЧ определяли экспрессию мРНК к изоформам NOS.

Результаты. Хотя показатели АД у крыс с гипоксией находятся в нормотензивных пределах, в группах с гипоксией наблюдали увеличение систолического давления по сравнению с контролем, а при 60-дневной гипоксии – увеличение и диастолического. мРНК ко всем изоформам в миокарде характеризовалась увеличением в обеих группах с гипоксией. Показатели содержания иммунореактивного материала к изоформам NOS изменялись не так однозначно и имели взаимосвязь с продолжительностью гипоксии. Концентрация нитротирозина увеличилась в обеих гипоксических группах, но при длительной гипоксии это сопровождалось уменьшением уровня нитритов, что позволяет предположить развитие нитрозооксидативного стресса.

Выводы. 15-дневная прерывистая гипоксия приводит к изменению миокардиального изоформного профиля NOS, увеличению показателей экспрессии всех трех изоформ, повышению содержания нитритов и нитротирозина. Преобладающей формой фермента в миокарде становится iNOS на фоне увеличения ее мРНК. При 60-дневной гипоксии профиль фермента NOS характеризуется увеличением экспрессии конститутивных изоформ и снижением индуцибельной изоформы на фоне повышения мРНК всех трех форм. Уровень конечных метаболитов NO характеризуется снижением нитритов и увеличением содержания нитротирозина.

Ключевые слова: синтаза оксида азота, изоформы синтазы оксида азота, левый желудочек сердца, гипоксия, крысы линии Wistar.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 308–314

Nitric oxide (NO) system is a gasotransmitter system that is widely represented in all tissues of the body. Its main effector is the NO molecule, which is the universal regulator of cellular metabolism and intercellular relationships under physiological conditions. But the effect of NO depends on the concentration, the presence of substrates, metabolites of oxidative stress and antioxidants. With their excess, the amount of NO increases, and its signaling and physiological functions change to pathological, triggering processes that lead to apoptosis or cell necrosis. The purpose of changing the state of this system in response to physiological effects or stressors is to improve functioning and adapt to new conditions [1].

Hypoxia is one of the classic examples of physiological stress, but the extent of its manifestation depends on the duration, severity and origin. In this case, the organism and its regulatory systems will change their function in the context of the adaptive response. The cardiovascular system is not an exception to these changes. The heart adapts to this effect by remodeling myocardium, which is named physiological [2,3].

The issue of hypoxic effects on the state of the NO system of organism is very relevant today, including both experimental studies and clinical observations. It is necessary to emphasize the researches devoted to the effects on the heart muscle. Thus, in the works of E. B. Manukhina (2006) and A. Treuer (2014) it was proved that the NO system is an important component of adaptation to the conditions of intermittent hypoxia [4,5]. It has been established that it affects the state of the myocardial NO system in several ways: firstly, it generates substrate deficiency and, through limiting O₂ influx, reduces NO production [4]; alters the isoform profile of NOS through activation of Ca²⁺/calmodulin-dependent isoforms of NOS (eNOS and

nNOS), mainly endothelial (eNOS), which compensates for the reduction of NO, increases its bioavailability and improves tissue vascularization [5]; secondly, it activates heat shock proteins, including HSP90, which not only stimulates constitutive isoforms but also prevents the formation of anion superoxide during NO synthesis [6] and stimulates hypoxia-induced factor 1 α (HIF-1 α) and 1 β (HIF-1 β) acting as a transcriptional mediator. This protein is inactivated by an oxygen-dependent ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. HIF-1 α translocates to the nucleus and induces target genes that lead to the development of myocardial hypertrophy, increases angiogenesis, erythrocytosis, stimulates cell metabolism by activating pyruvate dehydrogenase-1 and/or lactate dehydrogenase enzyme under hypoxic conditions [7].

Our previous studies of the NO system role in the pathologic myocardial remodeling caused by essential arterial hypertension in SHR rats have confirmed the assumption of the pathogenetic importance of this system as one of the possible conductors of cardiac muscle reconstruction [8]. However, the question of changes in the NO system under physiological effects, such as intermittent hypoxia, remains open. NO system triggers probably an entire cascade of adaptive responses in the conditions of oxygen deficiency modified by the mechanisms described above that is aimed to improvement of the myocardium function. But there is no complete information about the NO system status, the characteristics of the isoform profile of NOS and terminal metabolites in the myocardium at the hypoxic exposures of different duration.

Aim

Therefore, in order to understand the role of the nitric oxide system in myocardial remodeling caused by hypoxia of

different duration, the aim of our study was to determine the features of the NO system status in the left ventricular myocardium in the rats with intermittent hypoxic hypobaric hypoxia during 15 and 60 days.

Materials and methods

The experiment was conducted on the 30 male Wistar rats, 6–7 months old which were divided into 3 experimental groups: the control group – intact rats (mean heart mass – 0.722 ± 0.03 g; specific density of the heart 1.724 ± 0.07 g/cm³), the second group – IH15 – the rats with intermittent hypoxia during 15 days (mean heart mass – 0.851 ± 0.03 g; specific density of the heart 1.817 ± 0.07 g/cm³), the third group – IH60 – the rats with intermittent hypoxia during 60 days (mean heart mass – 0.902 ± 0.03 g; specific density of the heart 2.102 ± 0.26 g/cm³).

Hypoxic training was performed in a ventilated pressure chamber with a volume of 1.0 m³ at an altitude of 6000 m (pO₂ = 9.8 %) using a model widely used in the research of the Department of Pathological Physiology of ZSMU [9]. Animals were housed in the pressure chamber daily from 10 am to 4 pm. The training was conducted in the following mode: the 1st day oxygen tension in the pressure chamber corresponded to the height of 1 km, the 2nd day – 2 km, the 3rd – 3 km, the 4th – 4 km, on the 5th – 5 km, on the 6th and during the following days – 6 km. Hypoxic training at a height of 6 km was performed for 10 days for 15-day hypoxia and 55 days for 60-day. The “lift height” in the pressure chamber was registered by an altimeter.

The experimental part of the study was carried out exactly according to the National “Common Ethical Principles of Animal Experiments” (Ukraine, 2001), which are in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The protocol of the study is agreed with the local ethics committee (from March 1, 2018). [10].

The experiment was conducted on the basis of the Training Medical Laboratory Center (TMLC) of the Zaporizhzhia State Medical University. All devices used for study are certificated and undergo annual metrological control (certificate of technical competence № 033/18, dated December 25, 2018, valid until December 25, 2023; Laboratory of Experimental Pathophysiology, License 2CK2 YMK2 T6PB SG5N SJLS4).

Systolic and diastolic blood pressure (BP) levels were measured in all the rats using a system of non-invasive arterial pressure measurement BP-2000 (Visitech Systems, USA).

The animals were euthanized via rapid decapitation after thiopental anesthesia (45 mg/kg body weight, intraperitoneally). The study objects in the experimental animals were blood plasma, in which the nitrotyrosine level was determined, and the left ventricle fragment, which was divided into two parts, one of which was homogenized using a Silent Crusher S homogenizer (Heidolph, Germany), the second fragment of the heart after standard histological preparation was fixed in paraffin blocks.

The blood plasma nitrotyrosine concentration in the rats was determined by immunoassay according to the

instructions for the reagent set (Hycultbiotech, HK501 – Nitrotyrosine). The level of nitrites in homogenates of the first fragments of the left ventricular myocardium was determined by the biochemical Griess nitrite test on the Libra S 32 PC spectrophotometer [11].

The second fragment of the myocardium was sectioned into 5 µm-thick slices using a rotary microtome Microm-325 (MicromCorp, Germany). In these slices concentration of the immunoreactive material to NOS isoforms was determined with immunofluorescence method in accordance with the protocol of the immunohistochemical study [12].

To study nNOS and eNOS expression serial slices after procedure of deparaffinization and rehydration were incubated with primary polyclonal rabbit anti-nNOS and anti-eNOS antibodies, respectively, (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA). After rinsing sections were incubated with the secondary FITC-conjugated rabbit anti-mouse antibodies (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.). To determine the iNOS expression, the slices of the myocardium were incubated with monoclonal FITC-conjugated mouse antibodies against iNOS (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.).

The immunofluorescence study was performed separately in transverse and longitudinal fibers. The sections were examined with ultraviolet microscopy (AxioScope microscope, Carl Zeiss, Germany) in AxioVision 40 V 4.8.2.0 software program (License No. 3005339) with an excitation wavelength 390 nm, using a filter 38HE with high emission (Carl Zeiss, Germany). Zones with statistically significant fluorescence were identified while analyzing the images in the interactive mode and then analyzed in ImageJ software (National Institutes of Health, USA). At least 100 fields of view from each series were subjected for study.

The study of NOS mRNA isoforms expression in the left ventricular myocardium homogenates was carried out using a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in the Department of Molecular Genetic Researches of the TMLC of ZSMU [8]. For RT-PCR in real time with the gene specific primers CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories Inc., USA) were used in accordance with the manufacturer’s recommendations and Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) reagent kit (Thermo Fisher Scientific, Inc.).

All statistical computations were performed in the Microsoft Excel 2016 table processor (Microsoft Corp., USA). For all parameters, the arithmetic mean (M), its dispersion and mean error (m) were calculated. To determine the significance of differences between the results of the research in the experimental and control groups of the rats, the Student’s coefficient (t) was calculated, after that the significance of the difference between the samples (p) and the confidence interval of the mean according to the Student distribution tables were determined. Valid values for P_{st} < 0.05 were considered statistically significant [13].

Results

Analysis of the BP in the experimental rats showed that the systolic and diastolic pressure was in the normotensive

range, but in the IH15 rat group, the systolic pressure significantly increased by 8 % in comparison with the control group.

Moreover, IH60 showed a significant increase of both systolic by 17.4 % and diastolic pressure by 21.3 % compared to the control values (Table 1). Increase of blood pressure occurred both with an increase in mean heart mass and specific heart density of the rats in the IH15 group by 17.9 % and by 5.4 %, in rats with IH60 by 25.0 % and 21.9 %, respectively, compared with controls.

The study of mRNA expression of all three NOS isoforms demonstrated that intermittent hypoxia, regardless of its duration, leads to increase of iNOS mRNA, whereas nNOS and eNOS mRNA increases only after prolonged training – IH60 (Fig. 1).

Analysis of the nNOS expression indices in IH15 group of the rats showed a significant decrease of the IRM content to nNOS in the transverse fibers by 20.6 %, while in the longitudinal ones the content of the IRM did not change compared to the control (Table 2). The nNOS mRNA content in the left ventricular myocardial homogenates did not change significantly (Fig. 1). IRM content of iNOS increased by 7.2 % compared to control in transverse fibers, and significantly increased by 14.7 % in longitudinal fibers (Table 2). At the same time, the content of iNOS mRNA in myocardial homogenates significantly increased by 2.9 times compared to the control (Fig. 1). The analysis of eNOS expression indices revealed a significant increase in the IRM content to eNOS by 6.6 % in the myocardial transverse fibers, whereas there were no significant changes in the longitudinal fibers (Table 2). The expression of eNOS mRNA in this group did not change significantly.

In the IH60 group, the expression of IRM to nNOS showed more significant changes than in the IH15 group as compared to control. At the same time, the transverse fibers showed a significant increase in the content of IRM to nNOS by 25.4 %. In the longitudinal fibers, the nNOS content was significantly increased by 45.7 % (Table 2), and the corresponding mRNA in myocardial homogenates was 2-fold increased compared to the control group (Fig. 1). In the study of the content of IRM to iNOS, both in transverse and longitudinal myocardial fibers, there was a significant decrease in the content by 26.1 % and 33.3 %, respectively, compared to the control (Table 2). The content of iNOS mRNA after a prolonged hypoxia dur-

ing 60 days increased 5.7 times significantly compared to the control (Fig. 1). In this group, compared to the control, there was a significant increase in the content of IRM to eNOS by 7.5 % in the transverse fibers, but a decrease of 11.9 % in the longitudinal fibers (Table 2). The mRNA content of this isoform demonstrated significant 4.1-fold increase compared to the control group (Fig. 1).

For better understanding of the myocardial nitric oxide system state during intermittent hypoxic exposure, it is necessary to investigate not only the isoform profile of the NOS enzyme, but also the terminal metabolites of NO: nitrite and nitrotyrosine. The nitrites concentration is considered by most scientists as the equivalent of NO formation, demonstrating the enzymatic activity of NOS and the physiological orientation of the effects of the nitric oxide system [14]. In our study, nitrites concentration in the IH15 group increased by 21 % compared to controls, but in the IH60 group, this indicator decreased significantly by 21.8 %. At the same time, nitrotyrosine, which is synthesized from the NO derivative – peroxynitrite under conditions of excessive formation of reactive oxygen species, is an indicator of nitrosative-oxidative stress, so it is considered as a marker of NO-dependent damage in vivo [15]. The concentration of the nitrotyrosine in the IH15 group significantly increased by 40.8 %, in the IH60 rats group – by 80.6 % compared to the control (Fig. 2).

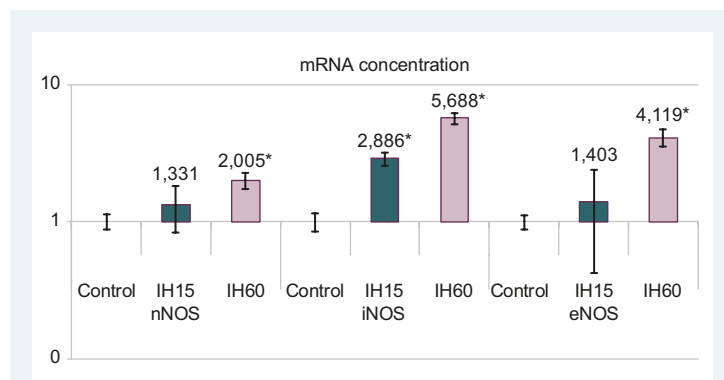


Fig. 1. mRNA expression of NOS isoforms in the left ventricular myocardium of experimental rats. The data are presented as M ± m.

*: significance of the differences in comparison with the control group P < 0.05.

Table 1. Blood pressure in the rats of experimental groups

BP, mmHg	Control	IH15	IH60
Systolic	115.05 ± 1.76	123.40 ± 2.05 [§]	135.10 ± 1.69 [†]
Diastolic	68.10 ± 1.23	69.30 ± 1.94 [§]	82.60 ± 3.18 [†]

*: significance of the differences in comparison with the control group P < 0.05; §: significance of the differences in comparison with the IH60 group P < 0.05.

Table 2. The content of IRM of NOS isoforms (nNOS, iNOS and eNOS) in the left ventricular myocardium of the experimental rats, M ± m

	Control		IH15		IH60	
	transv. fibers	longitud. fibers	transv. fibers	longitud. fibers	transv. fibers	longitud. fibers
nNOS	1198.0 ± 19.7	1236.0 ± 29.6	951.7 ± 25.9 [†]	1218.6 ± 30.8	1501.8 ± 33.8 [§]	1800.8 ± 26.4 [§]
iNOS	1102.1 ± 16.8	1185.2 ± 21.9	1181.7 ± 36.6 [†]	1359.8 ± 32.1 [†]	814.6 ± 27.9 [§]	790.3 ± 22.9 [§]
eNOS	1099.6 ± 18.5	1252.7 ± 17.7	1172.7 ± 22.3 [†]	1254.7 ± 35.5	1182.0 ± 23.4 [†]	1103.9 ± 21.2 [§]

*: significance of the differences in comparison with the control group P < 0.05;

§: significance of the differences in comparison with the IH60 group P < 0.05.

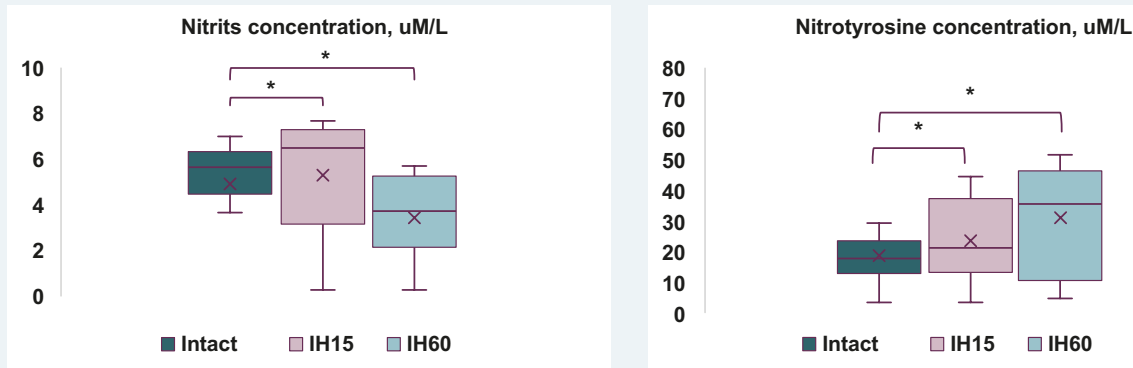


Fig. 2. Concentration of nitrites in left ventricular myocardium homogenates and nitrotyrosine in blood plasma of the experimental rat groups. The data are presented as median, the 1st and the 3rd quartiles, min and max.

*: significance of the differences $P < 0.05$.

Discussion

An interesting result of our study was an increase in systolic pressure in IH15 rats and both systolic and diastolic in IH60 compared to the control group. Such increased BP is within the reference values and may be associated with an increase of stroke volume. It is possible that the increase in stroke volume is explained by myocardial hypertrophy, as it is evidenced by the gradual increase in mean heart mass and specific density of the rat's heart. Normally, the phenomenon of Euler-Liljestrand develops as the component of adaptation to hypoxic condition. The essence of the phenomenon is the decrease in the tone of the systemic circulation vessels, their vasodilation, which reduces the peripheral vascular resistance and compensates for the oxygen demand of organs and the heart, in particular. These processes are accompanied by an increase in the vascular reserve, which enhances myocardial capacity, improves blood supply and contractility in conditions of increased pumping function [16,17]. The BP of the rats with long-term hypoxia suggests a possible increase in total vascular resistance. Moreover, it evidences the presence of these systemic rearrangements that is based on structural and functional changes at the cellular level which is provided with the whole complex of neurotransmitter and mediator systems, the key element of which is the NO system.

The obtained data of the myocardium NO system of the rats with intermittent hypoxia prove numerous facts of other researchers who argue that the short-term intermittent hypoxia leads to activation of urgent adaptation mechanisms, an important component of which they considered nitric oxide and NOS isoforms [1,4,5]. Zhang Y. (2017) considers that the features of compartmentalization, translocation, transcription, and post-translational modifications of constitutive NOS isoforms mediate the effects of NO in the myocardium during physiological and pathological stress [18]. Interestingly, their expression is regulated by negative feedback: if nNOS expression increases, eNOS expression decreases. Such interrelation is aimed to prevent NO overproduction under normal conditions and maintain its stable level under stress. In the case of "blocking" of one

isoform the other isoform will compensate for the lack of NO due to its increased expression and activity [19]. In our case, the increase in the IRM content of nNOS and eNOS in IH15 rats along with an increase in their mRNA can be considered as confirmation of this hypothesis and considered as the one of the components of urgent adaptation to hypoxia in the myocardium. Such activation of the constitutive isoforms expression is likely to improve cardiomyocyte contractility, modulation of sympathetic and parasympathetic effects, control of cardiac rhythm and regulation of cell metabolism, by improving local vascularization and innervation.

Several years ago, the increase in iNOS expression in the myocardium in IH15 rats was explained by its injuring ability, but recent studies have proven the cardioprotective role of inducible NOS isoforms. So, according to D. J. Lefer, iNOS is the primary source of cardioprotective NO, which modulates coronary circulation, mitochondrial function, cellular respiration and reduces platelet aggregation [20]. In the condition of oxygen deficiency and insufficient activity of constitutive NOS isoforms, iNOS activation is believed to be a component of the adaptive response to hypoxia and maintenance of stable NO level. But iNOS excessive activity leads to the explosive formation of NO, which has a cytostatic effect, due to the excessive formation of the free radicals. An interesting finding was that the mRNA increase of this isoform was 2.9-fold with 15-day hypoxia compared to control. Such an increase in mRNA is likely to indicate myocardium significant need for iNOS with the stimulation of transcriptional mechanisms [21].

In our opinion, a 21% increase in nitrites level in IH15 rat myocardial homogenates is an important indicator of increased NO synthesis due to the high activity and expression of NOS. The same pattern was obtained by La Padula (2018) group, who proved the effect of intermittent hypoxia on the increase of terminal metabolites of NO level [22].

Another result of the study was the establishment of elevated nitrotyrosine level in myocardial homogenates after 15 days of hypoxic training. Today, the mechanism of nitrotyrosine formation and its role in pathological conditions is well defined, so the increase in its level

together with the high expression of all 3 isoforms, especially iNOS, is associated with the switching of NOS from NO-production to ROS formation and the development of the nitrosative-oxidative stress. That is, 15-day hypoxic training contributes not only to the activation of adaptive abilities of the body, as it is defined in our work. Whereas, there are pathological changes, isoform imbalance in the NO system, which contributes for the development of oxidative stress at this stage.

Long-term 60-day hypoxic training also led to significant changes in the myocardial nitric oxide system, which is characterized by an increase in constitutive isoforms with a simultaneous decrease in iNOS and a significant increase in concentrations of stable NO metabolites, and these changes had significant difference compared to IH15 results. The study of the NOS isoform profile showed increased expression of nNOS in the both transverse and longitudinal fibers of the myocardium sections with a 2-fold increase in its mRNA compared to the control. Moreover, the nNOS content in transverse and longitudinal fibers increased by more than one third compared to IH15. This high expression of nNOS, according to other researchers, is associated with its proven cardioprotective role. Along with the synthesis of NO nNOS also forms H_2O_2 in the wall of large vessels forms, which improves vascularization and is a component of adaptation to hypoxia. At the same time, nNOS inhibits cardiac oxidases, decreases sources of oxidative stress, thus exhibiting antioxidant properties [23].

Expression of eNOS isoform in transverse fibers of IH60 rats increased compared to control. This occurred with a significant 4.1-fold raise in its mRNA, which indicates an increase in eNOS synthesis and content after prolonged hypoxic training is related to its cardioprotective properties [24]. According to many studies, this isoform is associated with the activation of vasodilation and collateral circulation that maintain the metabolism of cardiomyocytes and protects it from free radical damage. Hypoxia has been shown to increase Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels, which activates eNOS and stabilizes HIF-1, thereby maintaining a feedback loop. All these reactions lead to the enhancement of NO synthesis and myocardial adaptation development [25,26].

Analysis of iNOS expression indices after prolonged hypoxic training for 60 days showed a decrease in its content compared to the control, in contrast to its increased expression as in IH15. However, this was accompanied with significant 5.7-fold increase in iNOS mRNA compared to control and almost 2-fold increase compared to IH15. Such ambiguous results, in our opinion, indicate genome activation, the presence of the transcriptional block of iNOS expression and the accelerated destruction of the enzyme in the myocardium. Rus A. (2011) supposed that negative effects associated with the lack of protective NO in the myocardium are formed, which reduces the activity of antioxidant enzymes and the expression of the coding genes, accelerates lipid peroxidation, increases the formation of ROS [27]. The decrease in the concentration of nitrites along with increased levels of the nitrotyrosine is an indirect fact that confirmed this assumption. The data obtained indicate the reduction of NO formation by NO enzymatic pathway and demonstrate the switching of the

NO system to nitrosative-oxidative stress, which obtains a systemic character.

Thus, the results of our study revealed that hypoxic effects, regardless of their duration, activate the NO system in the myocardium by quantitative increase in content of NOS isoforms and terminal NO metabolites. Whereas, it should be noted that the nature of the NOS isoform profile and the type of the terminal metabolite NO depend on the duration of hypoxic exposure. Thus, in short-term training an increase in endothelial vasodilating factor NO due to excessive synthesis of iNOS, which activity, unlike constitutive isoforms, remains high, regardless of oxygen concentration and intracellular Ca^{2+} level to compensate blood flow in the myocardium. Whereas, under the action of long-term hypoxia, the mechanisms of adaptation involved in the classical scheme of a "systemic structural trace" formation are activated: maintenance of metabolic processes, restoration of blood supply, genome activation, and stimulation of mRNA expression of all three NOS isoforms. But the large amount of NO which is formed with excess of peroxyxynitrite and nitrotyrosine in hypoxic condition that damages the tissue components of the myocardium trigger a cascade of reactions which yields in nitrosative-oxidative stress. The last one, in turn, has additional injuring effect on the myocardium, causing its pathological remodeling instead of physiological one.

Conclusions

1. 15-day intermittent hypoxia leads to a change in the myocardial NOS isoform profile, an increase in the expression of iNOS to all 3 isoforms, an increase in the nitrite and nitrotyrosine content. iNOS becomes the predominant form of the enzyme in the myocardium that is proved with increasing its mRNA.

2. 60-day hypoxia, compared with 15-day hypoxia, results in opposite changes in the isoform composition of myocardial NOS. The profile of the NOS enzyme is characterized by increased expression of constitutive isoforms and decreased inducible with significant increase in mRNA of all three isoforms. The level of terminal metabolites of NO is characterized by a decrease in the nitrite content while the nitrotyrosine content increased.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2019
Після доопрацювання / Revised: 23.10.2019
Прийнято до друку / Accepted: 11.11.2019

Information about authors:

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Rector of Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Isachenko M. I., MD, Postgraduate Student of the Department of Pathophysiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3026-1012

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

ORCID ID: 0000-0002-6807-8440

Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор Запорізького державного медичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.

Ісаченко М. І., очний аспірант каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

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

Сведения об авторах:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор Запорожского государственного медицинского университета, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Исаченко М. И., очный аспирант 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] De Haas, S., Ghossein-Doha, C., Geerts, L., van Kuijk, S. M. J., van Drongelen, J., & Spaanderman, M. E. A. (2017). Cardiac remodeling in normotensive pregnancy and in pregnancy complicated by hypertension: Systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 50(6), 683-696. <https://doi.org/10.1002/uog.17410>
- [2] Yalcin, F., Kucukler, N., Cingolani, O., Mbiyangandu, B., Sorensen, L., Pinheiro, A., ... Abraham, T. P. (2019). Evolution of ventricular hypertrophy and myocardial mechanics in physiological and pathological hypertrophy. *Journal of Applied Physiology*, 126(2), 354-362. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00199.2016>
- [3] Haque, Z. K., & Wang, D. (2017). How cardiomyocytes sense pathophysiological stresses for cardiac remodeling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(6), 983-1000. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2373-0>
- [4] Manukhina, E. B., Downey, H. F., & Mallet, R. T. (2006). Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. *Experimental Biology and Medicine*, 231(4), 343-365. <https://doi.org/10.1177/153537020623100401>
- [5] Treuer, A. V., & Gonzalez, D. R. (2015). Nitric oxide synthases, S-nitrosylation and cardiovascular health: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities (review). *Molecular Medicine Reports*, 11(3), 1555-1565. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2968>
- [6] Manukhina, E. B., Downey, H. F., Mallet, R. T., Malyshev, I. Yu., & Vanin, A. F. (2012). Depo oksida azota (NO) i ego adaptivnaya rol' v serdechno-sosudistoi sisteme. [Nitric oxide (NO) stores and their adaptive function in the cardiovascular system]. *Patogenez*, 10(2), 19-27. [in Russian].
- [7] Abe, H., Semba, H., & Takeda, N. (2017). The Roles of Hypoxia Signaling in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 24(9), 884-894. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17009>
- [8] Kolesnyk, Y. M., Isachenko, M. I., Melnikova, O. V., & Hrekova, T. A. (2018). Characteristics of the nitric oxide system indicators in the left ventricle myocardium in SHR. *Pathologia*(3), 278-283. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151670>
- [9] Kolesnyk, Y. M., Hancheva, O. V., Abramov, A. V., Ivanenko, T. V., Fedotova, M. I., & Danukalo, M. V. (2016). *Sposib modeliuвання fiziologichnoho remodeluvannya miokarda u dribnykh hryzuniv [Method for modeling physiological myocardial remodeling in small rodents]. Ukraine Patent UA 112290*. Retrieved from <https://base.uipv.org/search/INV/search.php?action=viewdetails&ldClaim=230277>
- [10] Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia. Zakon Ukrainy vid 21.02.2006 no 3447-IV [On the Protection of Animals from Brutal Treatment. Law of Ukraine on February 21, 2006 no 3447-IV] Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/main/3447-IV>
- [11] Gorbunov, N. V. (1995). Opredelenie stabil'nykh metabolitov oksida azota po Grissu v biologicheskom material [Determination of stable nitric oxide metabolites by Griss in biological material]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny*, 120(7), 40-48. [in Russian].
- [12] Fedotova, M. I., Kovalov, M. M., Zhulinskyi, V. O., & Kadzharian, Ye. V. (2017). Osoblyvosti ekspresii izoform syntazy oksydu azotu u miokardi livoho shlunochka shchuriv pry arterialnii hipertenzii riznogo henezu [Peculiarities of expression of nitric oxide synthase isoforms in left ventricular myocardium of rats in arterial hypertension of various geneses]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny*, 17(4.2), 91-95. [in Ukrainian].
- [13] Zaitsev, V. M., Lifyandskii, V. G., & Marinkin, V. I. (2006). *Prikladnaya meditsinskaya statistika. [Applied Medical Statistics]*. St. Petersburg: Foliant [in Russian].
- [14] Chis, I. C., Baltaru, D., Dumitrovici, A., Coseriu, A., Radu, B. C., Moldovan, R., & Muresan, A. (2018). Protective effects of quercetin from oxidative/nitrosative stress under intermittent hypobaric hypoxia exposure in the rat's heart. *Physiology International*, 105(3), 233-246. <https://doi.org/10.1556/2060.105.2018.3.23>
- [15] Na, H., Chung, H., Ha, K., Lee, H., Kwon, Y., Billiar, T. R., & Kim, Y. (2008). Chapter 17 detection and measurement for the modification and inactivation of caspase by nitrosative stress in vitro and in vivo. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)01217-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)01217-2)
- [16] Rossier, B. C., Bochud, M., & Devuyst, O. (2017). The hypertension pandemic: An evolutionary perspective. *Physiology*, 32(2), 112-125. <https://doi.org/10.1152/physiol.00026.2016>
- [17] Meerson, F. Z., & Pshennikova, M. G. (1988). *Adaptatsiya k stressovym situatsiyam i fizicheskim nagruzkam [Adaptation to stressful situations and physical activity]*. Moscow: Izdatelstvo Meditsina. [in Russian].
- [18] Zhang, Y. H. (2017). Nitric oxide signalling and neuronal nitric oxide synthase in the heart under stress. *F1000Research*, 6 <https://doi.org/10.12688/f1000research.10128.1>
- [19] Carnicer, R., Suffredini, S., Liu, X., Reilly, S., Simon, J. N., Surdo, N. C., ... Casadei, B. (2017). The subcellular localization of neuronal nitric oxide synthase determines the downstream effects of NO on myocardial function. *Cardiovascular Research*, 113(3), 321-331. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx002>
- [20] Lefer, D. J. (2006). Induction of HIF-1 α and iNOS with siRNA: A novel mechanism for myocardial protection. *Circulation Research*, 98(1), 10-11. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000200398.52220.cc>
- [21] Ding, H., Zhu, H., Dong, J., Zhu, W., Yang, W., Yang, H., & Zhou, Z. (2005). Inducible nitric oxide synthase contributes to intermittent hypoxia against ischemia/reperfusion injury. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(3), 315-322. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00046.x>
- [22] La Padula, P. H., Etchegoyen, M., Czerniczyniec, A., Piotrkowski, B., Amaiz, S. L., Milei, J., & Costa, L. E. (2018). Cardioprotection after acute exposure to simulated high altitude in rats. role of nitric oxide. *Nitric Oxide – Biology and Chemistry*, 73, 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.12.007>
- [23] Capellini, L. S. A., Cortes, S. F., & Lemos, V. S. (2010). Relative contribution of eNOS and nNOS to endothelium-dependent vasodilation in the mouse aorta. *European Journal of Pharmacology*, 643(2-3), 260-266. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.06.066>
- [24] Forstermann, U., & Munzel, T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease – From marvel to menace. *Circulation*, 113(13), 1708-1714. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.105.602532>
- [25] Macdonald, W. A., & Hool, L. C. (2008). The effect of acute hypoxia on excitability in the heart and the L-type calcium channel as a therapeutic target. *Current Drug Discovery Technologies*, 5(4), 302-311. <https://doi.org/10.2174/157016308786733546>
- [26] Wyatt, A. W., Steinert, J. R., & Mann, G. E. (2004). *Modulation of the L-arginine/nitric oxide signalling pathway in vascular endothelial cells* <https://doi.org/10.1042/bss0710143>
- [27] Rus, A., del Moral, M., Molina, F., & Peinado, M. (2011). Does inducible NOS have a protective role against hypoxia / reoxygenation injury in rat heart? *Cardiovascular Pathology*, 20(1), e17-e25. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2010.01.002>

Ремоделювання міокарда та жорсткість артерій залежно від рівня альдостерону в пацієнтів із хронічною хворобою нирок та артеріальною гіпертензією

О. В. Курята*^{A-F}, В. В. Семенов^{A-F}

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

Мета роботи – визначити зв'язок між рівнем альдостерону в сироватці крові та ремоделюванням міокарда, змінами пружно-еластичних властивостей артерій у пацієнтів із хронічною хворобою нирок (ХХН) та артеріальною гіпертензією (АГ).

Матеріали та методи. Здійснили одномоментне дослідження 44 пацієнтів (14 чоловіків і 30 жінок віком 56,0 [52,0; 60,5] року) із ХХН та АГ, які приймали інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту або блокатори рецепторів ангіотензину у стабільній дозі протягом 3 або більше місяців. Вивчали рівень альдостерону сироватки крові, пружно-еластичні властивості артерій і виконували трансторакальну ехокардіографію за стандартною методикою. Жорсткість артерій визначали як швидкість поширення пульсової хвилі, котру обчислювали за формулою, що запропонована Товариством артеріальної жорсткості, та вимірювали за допомогою пристрою ВАТ41-2.

Результати. У 8 пацієнтів (18,2 %) встановили рівень альдостерону сироватки понад 90 пг/мл. Кількість жінок серед пацієнтів із нормальним рівнем альдостерону була вірогідно більшою ($p = 0,03$). У пацієнтів із підвищенням рівня альдостерону зареєстровано на 5 років більший середній вік і на 10 мл/хв меншу швидкість клубочкової фільтрації. Рівень альдостерону сироватки крові вірогідно корелював із показниками структурно-функціонального стану міокарда (кінцево-діастолічний і кінцево-систолический розміри лівого шлуночка (ЛШ), кінцево-діастолічний і кінцево-систолический об'єми ЛШ, маса міокарда (ММЛШ), індекс маси міокарда (ИММЛШ), товщина міжшлуночкової перетинки) у чоловіків і пацієнтів віком понад 55 років. У жінок виявили слабкий зворотний взаємозв'язок рівня альдостерону із систолическим і діастолічним артеріальним тиском.

Висновки. Встановили зв'язок між рівнем альдостерону сироватки крові понад 90 пг/мл у пацієнтів із ХХН та АГ із дилатацією порожнин лівого шлуночка та передсердь, а також з гіпертрофією лівого шлуночка (за показниками ММЛШ і ИММЛШ). Ця залежність мала більше статистичне значення для пацієнтів чоловічої статі та для пацієнтів віком понад 55 років. Зв'язок між рівнем альдостерону та жорсткістю артерій (індекс аугментації на плечовій артерії та аорті) виявили тільки в пацієнтів, які старші за 55 років.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок, артеріальна гіпертензія, альдостерон, ремоделювання міокарда, жорсткість артерій.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 315–322

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188790

***E-mail:** gt1@dsma.dp.ua

Ремоделирование миокарда и жесткость артерий в зависимости от уровня альдостерона у пациентов с хронической болезнью почек и артериальной гипертензией

А. В. Курята, В. В. Семенов

Цель работы – определить связь между уровнем альдостерона в сыворотке крови и ремоделированием миокарда и изменениями упруго-эластических свойств артерий у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) и артериальной гипертензией (АГ).

Материалы и методы. Проведено одномоментное исследование 44 пациентов (14 мужчин и 30 женщин в возрасте 56,0 [52,0; 60,5] лет) с ХБП и АГ, принимавших ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или блокаторы рецепторов ангиотензина в стабильной дозе в течение 3 или более месяцев. Проводили исследования уровня альдостерона сыворотки крови, упруго-эластических свойств артерий и трансторакальную эхокардиографию по стандартной методике. Жесткость артерий определяли как скорость распространения пульсовой волны, которую вычисляли по формуле, предложенной Обществом артериальной жесткости, и измеряли с помощью устройства ВАТ41-2.

Результаты. У 8 пациентов (18,2 %) в исследовании установлен уровень альдостерона сыворотки выше 90 пг/мл. Среди пациентов с нормальным уровнем альдостерона было достоверно больше женщин ($p = 0,03$). У пациентов с повышением уровня альдостерона зарегистрировано на 5 лет больший средний возраст и на 10 мл/мин меньшую скорость клубочковой фильтрации. Уровень альдостерона сыворотки крови достоверно коррелировал с показателями структурно-функционального состояния миокарда (конечно-диастолический и конечно-систолический размеры левого желудочка (ЛЖ), конечно-диастолический и конечно-систолический объемы ЛЖ, масса миокарда (ММЛЖ), индекс массы миокарда (ИММЛЖ), толщина межжелудочковой перегородки) у мужчин и пациентов старше 55 лет. У женщин установлена слабая обратная корреляция уровня альдостерона с систолическим и диастолическим артериальным давлением.

Выводы. Установлена связь между уровнем альдостерона сыворотки крови выше 90 пг/мл у пациентов с ХБП и АГ с дилатацией полостей левого желудочка и предсердий, а также с гипертрофией левого желудочка (по показателям ММЛЖ и ИММЛЖ). Эта зависимость имела большую статистическую значимость для пациентов мужского пола и для пациентов в возрасте старше 55 лет. Связь между уровнем альдостерона и жесткостью артерий (индекс аугментации на плечевой артерии и аорте) установлена только у пациентов старше 55 лет.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, артериальная гипертензия, альдостерон, ремоделирование миокарда, жесткость артерий.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 315–322

Key words:
chronic kidney
disease,
hypertension,
aldosterone,
myocardial
remodeling,
arterial stiffness.

Pathologia
2019; 16 (3), 315–322

Myocardial remodeling and arterial stiffness depending on aldosterone level in patients with chronic kidney disease and arterial hypertension

O. V. Kuryata, V. V. Semenov

The aim. To analyze the relationship between serum aldosterone levels and myocardial remodeling and changes in elastic properties of arteries in patients with chronic kidney disease (CKD) and hypertension (AH).

Materials and methods. A cross-sectional study of 44 patients (14 men and 30 women, aged 56.0 [52.0; 60.5] years) with CKD and AH who were treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers at a stable dose for at least of 3 months was performed. Serum aldosterone levels, elastic properties of the arteries, and transthoracic echocardiography using a standard method were performed. Arterial stiffness was defined as a pulse wave velocity, which was calculated using equation proposed by Arterial Stiffness Society and was measured using a device BAT41-2.

Results. In 8 patients (18.2 %) we detected serum aldosterone levels above 90 pg/ml. The proportion of female patients among patients with normal aldosterone levels was significantly higher ($P = 0.03$). Patients with elevated aldosterone levels had a 5-year higher median age and 10 ml/min lower glomerular filtration rate. Serum aldosterone levels correlated significantly with myocardial structural and functional parameters (left ventricle (LV) end-systolic and end-diastolic dimensions and volumes, LV myocardial mass and LV mass index, thickness of interventricular septum) in men and patients over 55 years of age. Women showed a weak correlation of aldosterone levels with systolic and diastolic blood pressure.

Conclusions. An association was found between serum aldosterone levels above 90 pg/ml in patients with CKD and hypertension with dilatation of left ventricular and atrial cavities, and with left ventricular hypertrophy (by LV mass and mass index). This association was stronger for males and for patients aged >55 years. A correlation between aldosterone level and arterial stiffness (augmentation index on the brachial artery and aorta) has only been found in patients over 55 years of age.

Пацієнти з хронічною хворобою нирок (ХХН) мають високий ризик смерті від серцево-судинної патології [1]. У майже 80 % випадків ХХН супроводжується артеріальною гіпертензією (АГ), зі збільшенням стадії ХХН досягнення цільового артеріального тиску стає більш проблематичним [2]. Навіть за умови успішного лікування ішемічної хвороби серця та АГ у пацієнтів із ХХН визначають високий ризик раптової серцевої смерті [3], цей ризик збільшується зі зниженням ниркової функції [1]. Інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту (іАПФ) та блокатори рецепторів ангіотензину (БРА) є препаратами вибору для лікування АГ при ХХН [4,5] і вірогідно впливають на ризику серцево-судинних ускладнень [6,7]. До 50 % пацієнтів, які приймають іАПФ, мають підвищений рівень альдостерону (меншою мірою це стосується БРА) [8]. Цей феномен отримав назву «вислизання альдостерону» [8]. У такому випадку на тлі стабільного центрального та периферичного артеріального тиску [8] альдостерон виявляє профібротичні та прозапальні властивості (негеномні ефекти альдостерону) [9], що погіршує клінічний прогноз пацієнтів переважно через ураження серцево-судинної системи [3].

Гіпертрофічне ремоделювання серця виявляють у більшості пацієнтів із ХХН [10], його вважають компенсаторною реакцією [11], наявність якої, однак, удвічі підвищує ризик раптової серцевої смерті [3]. Розвиток гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ) може бути пов'язаний із переважанням об'ємом, підвищеним рівнем запалення та іншими факторами, що супроводжують зниження ниркової функції [12]. Жорсткість артерій перебуває в щільному функціональному взаємозв'язку з лівим шлуночком і може впливати на тип розвитку серцевої недостатності. Водночас жорсткість артерій є перспективним фактором ризику серцево-судинних захворювань [13,14]. У численних дослідженнях показано асоціацію альдостерону з міокардальним фіброзом, ендотеліальною дисфункцією, протромботичною активністю крові, ризиком розвитку АГ [9,15,16]. У

клінічних дослідженнях застосування антагоністів мінералокортикоїдних рецепторів (АМР) призводило до зворотних змін у міокарді та артеріальній стінці [17–19]. Дослідження асоціації рівня альдостерону зі змінами серцево-судинної системи в умовах попереднього застосування іАПФ або БРА є нечисленними [20]. Результати дослідження RALES [21], у якому ступінь зниження летальності на тлі застосування спіронолактону зумовив дострокове припинення дослідження, та досліджень ASPIRANT-EXT [22] і PATHWAY-2 [23], у яких продемонстровано пріоритет спіронолактону під час лікування резистентної АГ, додають важливості вивченню ефектів альдостерону у пацієнтів різних клінічних груп.

Переважаючі органи серцево-судинної системи серед мішеней альдостерону [9] вплинуло на вибір ехокардіографії та вимірювання жорсткості артерій для дослідження впливу рівня альдостерону сироватки.

Мета роботи

Визначити зв'язок між рівнем альдостерону у сироватці крові та ступенем ремоделювання міокарда та змінами пружно-еластичних властивостей артерій у пацієнтів із ХХН та АГ.

Матеріали і методи дослідження

На базі КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І. І. Мечникова» здійснили одномоментне дослідження 44 пацієнтів (14 чоловіків і 30 жінок) із ХХН та АГ. Критерії залучення в дослідження: ХХН 1–3а стадії (швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) ≥ 45 мл/хв) [24], АГ I–II ступеня, приймання іАПФ або БРА у стабільній дозі протягом 3 або більше місяців. Критерії виключення з дослідження: ХХН стадії 3б і вище (ШКФ < 45 мл/хв), нефротичний синдром (протеїнурія $> 3,5$ г/добу), гіперкаліємія ($> 5,5$ ммоль/л),

гіпокаліємія (<3,0 ммоль/л), інфаркт міокарда або інсульт в анамнезі, порушення ритму серця, що потребують медикаментозної корекції, цукровий діабет 1 або 2 типу, що потребує призначення інсулінотерапії, порушення функції щитоподібної залози, наявність доброякісних чи злоякісних новоутворень, уроджені захворювання нирок (полікістоз, аномалії розвитку).

Діагноз АГ базувався на рекомендаціях Європейського товариства кардіологів 2013 р. щодо ведення пацієнтів з АГ [6]. Діагноз ХХН встановлювали на підставі рекомендацій KDIGO 2012 р. [24]. 13 пацієнтам (29,5 %) призначили іАПФ, 31 пацієнту (70,5 %) – БРА у складі комбінованої антигіпертензивної терапії. Усім пацієнтам терапія призначена згідно з Європейськими та локальними стандартами [6,24,25].

ШКФ визначали за допомогою формули СКД-ЕРІ [24]. Креатинін крові визначали за стандартною методикою. Трансторакальну ехокардіографію виконали за стандартною методикою на апараті Vivid 7 PRO, General Electric Medical System.

Дослідження рівня альдостерону сироватки крові здійснили, використовуючи реактив Diagnostics Biochem Canada Aldosterone Elisa Kit, CAN-ALD-450. Кров для дослідження альдостерону сироватки брали натще після перебування пацієнта в сидячому положенні протягом 15 хвилин. негайно після взяття кров центрифугували при кімнатній температурі на швидкості 2000 обертів за хвилину протягом 15 хвилин. Сироватку зберігали при температурі -20 °С. Підвищення рівня альдостерону визначали при рівні альдостерону сироватки 90 пг/мл і більше [26]. Дослідження виконали за допомогою автоматизованого аналізатора мікропланшетів ELx808 (BIO-TEK® INSTRUMENTS, INC., Highland Park, P.O. Box 998, Winooski, Vermont 05404-0998 USA).

Жорсткість артерій визначали як швидкість поширення пульсової хвилі, котру обчислювали за формулою, що запропонована Товариством артеріальної жорсткості [27] (розрахована), та вимірювали за допомогою пристрою VAt41-2 (каротидно-феморальна) [28].

Опрацювання, аналіз даних здійснювали за допомогою пакетів програм Libre Office та R [29–31]. Понад 50 % даних мали відмінний від нормального тип

розподілу за тестом Шапіро–Уїлка, тому під час аналізу використали методи непараметричної статистики, дані описували як медіану та 25 і 75 квартилі. Порівнюючи кількісні показники, використовували тест Манна–Уїтні; порівнюючи якісні показники, використовували тест Хі-квадрат (χ^2) Пірсона. Кореляційний аналіз виконали за допомогою непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена (ρ). Лінії тренду на діаграмах відповідають лінії лінійної регресії. Критичний рівень p при перевірці статистичних гіпотез взято <0,05.

Дослідження здійснили відповідно принципів Гельсінської Декларації, схвалене етичними комісіями ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І. І. Мечникова». Усі пацієнти дали інформовану письмову згоду на збір та обробку інформації.

Результати

У 8 із 44 пацієнтів (18,2 %) в дослідженні виявлено рівень альдостерону сироватки понад 90 пг/мл (табл. 1). Серед пацієнтів із нормальним рівнем альдостерону було вірогідно більше жінок ($p = 0,03$). У пацієнтів із підвищенням рівня альдостерону зареєстровано на 5 років вищий середній вік і на 10 мл/хв нижчу ШКФ.

Встановили статистично вірогідно ($p < 0,05$) вищі середні показники СТЛА, кінцево-діастолічного розміру лівого шлуночка (КДР ЛШ), кінцево-систолічного розміру ЛШ (КСР ЛШ), маси міокарда ЛШ (ММЛШ), а також більший розмір лівого передсердя та більшу площу правого передсердя у пацієнтів з альдостероном сироватки понад 90 пг/мл (табл. 2). Встановили тенденцію ($p < 0,10$) до відмінності індексу маси міокарда ЛШ (ІММЛШ) і товщини міжшлуночкової перетинки (ТМШП) між групами за рівнем альдостерону сироватки крові, що не набула статистичної вірогідності. За жодним із показників пружно-еластичних властивостей артерій значущі відмінності не виявили.

Кореляційний аналіз із залученням усіх пацієнтів у дослідженні не виявив взаємозв'язки рівня альдостерону сироватки з проаналізованими показниками. Після розподілу пацієнтів за рівнем альдостерону встановили сильний позитивний зв'язок рівня аль-

Таблиця 1. Порівняння клінічних характеристик пацієнтів із нормальним і високим рівнем альдостерону сироватки крові

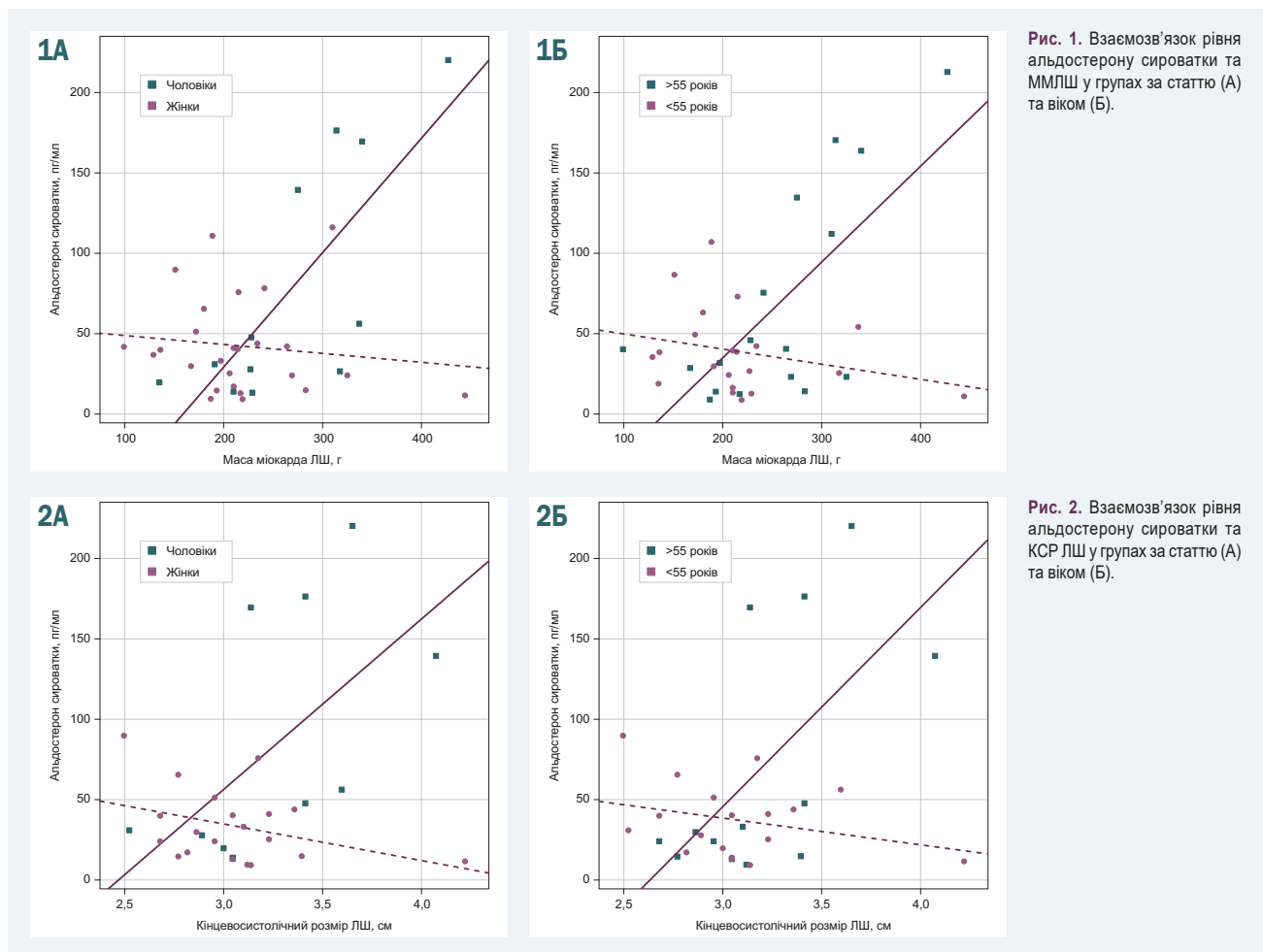
Параметр, одиниці вимірювання	Усі пацієнти (n = 44)	Альдостерон сироватки <90 пг/мл (n = 36)	Альдостерон сироватки ≥90 пг/мл (n = 8)	p
Жінки, n (%)	30 (68,2)	27 (75,0)	3 (37,5)	0,03
Цукровий діабет, n (%)	10 (22,7)	9 (25,0)	1 (12,5)	0,44
Вік, роки	56,0 [52,0; 60,5]	55,0 [50,0; 59,2]	60,0 [56,5; 62,5]	0,09
ІМТ, кг/м ²	32,0 [27,5; 34,5]	31,2 [26,3; 34,2]	34,4 [30,9; 42,0]	0,12
САТ, мм рт. ст.	140,0 [130,0; 150,0]	140,0 [130,0; 150,0]	140,0 [135,0; 162,5]	0,61
ДАТ, мм рт. ст.	90,0 [80,0; 100,0]	90,0 [80,0; 100,0]	90,0 [87,5; 100,0]	0,38
Гемоглобін, г/л	143,0 [133,5; 149,0]	143,0 [135,5; 148,5]	148,0 [133,0; 151,5]	0,77
ШКФ, мл/хв	75,8 [66,9; 85,1]	77,7 [68,0; 87,0]	67,8 [65,1; 75,4]	0,06
Глюкоза сироватки, ммоль/л	5,4 [4,9; 6,2]	5,4 [4,9; 6,2]	5,2 [5,0; 6,7]	0,82
Загальний холестерин, ммоль/л	5,5 [4,4; 6,2]	5,5 [4,9; 6,1]	4,3 [3,9; 6,1]	0,52
Сечова кислота, ммоль/л	354,0 [281,0; 421,0]	339,0 [275,0; 427,0]	380,0 [318,0; 407,0]	0,83
Протеїнурія, n (%)	27 (62,7)	21 (58,3)	6 (85,7)	0,17
Добова протеїнурія, мг/добу	0 [0; 115]	0 [0; 110]	37,5 [0; 333]	0,66

ІМТ: індекс маси тіла; САТ: систолічний артеріальний тиск; ДАТ: діастолічний артеріальний тиск; ШКФ: швидкість клубочкової фільтрації.

Таблиця 2. Показники структурно-функціонального стану міокарда та жорсткість артерій залежно від рівня альдостерону сироватки

Параметр, одиниці вимірювання	Альдостерон сироватки <90 пг/мл (n = 36)	Альдостерон сироватки ≥90 пг/мл (n = 8)	p
СТЛА, мм рт. ст.	23,0 [19,5; 25,4]	32,5 [29,8; 34,5]	0,001
КДР ЛШ, см	4,7 [4,5; 4,9]	5,6 [5,0; 6,1]	0,05
КСР ЛШ, см	3,1 [2,9; 3,3]	3,6 [3,4; 3,9]	0,02
КДО ЛШ, мл	100,0 [92,0; 112,0]	153,5 [110,5; 189,8]	0,15
КСО ЛШ, мл	37,0 [32,5; 44,0]	54,5 [48,5; 63,2]	0,02
УО, мл	63,0 [57,5; 74,5]	80,5 [63,2; 106,0]	0,17
ФВ, %	64,0 [59,5; 66,5]	60,0 [56,5; 63,5]	0,15
ММЛШ, г	212,0 [185,2; 235,8]	312,0 [283,8; 333,5]	0,02
ІММЛШ, г/м ²	111,0 [95,2; 124,8]	140,0 [136,8; 149,2]	0,06
ІВТС ЛШ, мм	0,5 [0,4; 0,5]	0,5 [0,4; 0,6]	0,86
ТМШП, см	1,2 [1,1; 1,3]	1,5 [1,3; 1,6]	0,09
Ліве передсердя (розмір), см	3,8 [3,5; 4,0]	4,2 [3,8; 4,6]	0,001
Праве передсердя (площа), см ²	14,1 [12,6; 15,4]	22,9 [22,2; 23,6]	0,002
кфШППХ, м/с	9,1 [8,6; 9,8]	9,2 [8,8; 10,1]	0,62
рШППХ, м/с	8,7 [7,8; 10,9]	9,1 [8,3; 13,1]	0,46

СТЛА: середній тиск в легеневій артерії; **КДР ЛШ:** кінцево-діастолічний розмір лівого шлуночка; **КСР ЛШ:** кінцево-сistolічний розмір лівого шлуночка; **КДО ЛШ:** кінцево-діастолічний об'єм лівого шлуночка; **КСО ЛШ:** кінцево-сistolічний об'єм лівого шлуночка; **УО:** ударний об'єм; **ФВ:** фракція викиду; **ММЛШ:** маса міокарда лівого шлуночка; **ІММЛШ:** індекс маси міокарда лівого шлуночка; **ІВТС ЛШ:** індекс відносної товщини стінки лівого шлуночка; **ТМШП:** товщина міжшлуночкової перетинки; **кфШППВ:** каротидно-феморальна швидкість поширення пульсової хвилі; **рШППХ:** розрахована швидкість поширення пульсової хвилі.



достерону сироватки з ММЛШ ($\rho = +0,89$; $p < 0,05$) та з ІММЛШ ($\rho = +0,83$; $p < 0,05$) у групі пацієнтів із підвищенням альдостерону сироватки крові.

Беручи до уваги статистично значущу відмінність між групами за розподілом за статтю та суттєву різницю за віком, виконали кореляційний аналіз рівня альдо-

стерону з показниками, які досліджували, після стратифікації пацієнтів за статтю та медіаною віку (55 років).

У групі чоловіків виявили середньої сили взаємозв'язок між рівнем альдостерону та КДР ЛШ ($\rho = +0,55$; $p = 0,08$), КСР ЛШ ($\rho = +0,68$; $p < 0,05$), КДО ЛШ ($\rho = +0,57$; $p = 0,06$), КСО ЛШ ($\rho = +0,67$; $p < 0,05$), ММЛШ

($\rho = +0,67$; $p < 0,05$), ІММЛШ ($\rho = +0,57$; $p = 0,06$), ТМШП ($\rho = +0,65$; $p < 0,05$). У групі жінок виявили слабкий зворотний взаємозв'язок рівня альдостерону з систолічним ($\rho = -0,34$; $p = 0,06$) і діастолічним ($\rho = -0,37$; $p < 0,05$) артеріальним тиском (АТ). Серед пацієнтів віком понад 55 років рівень альдостерону корелював із КСРЛШ ($\rho = +0,62$; $p < 0,05$), КСО ЛШ ($\rho = +0,64$; $p < 0,05$), ММЛШ ($\rho = +0,58$; $p < 0,05$), ІММЛШ ($\rho = +0,47$; $p = 0,06$), індексом аугментації на плечовій артерії ($\rho = -0,42$; $p = 0,07$) та аорті ($\rho = -0,42$; $p = 0,07$). У групі пацієнтів віком менше ніж 55 років статистично значущих кореляційних зв'язків не було. На рис. 1 і рис. 2 наведений взаємозв'язок між рівнем альдостерону сироватки і ММЛШ і КСО ЛШ у групах за статтю та віком.

Обговорення

Перший результат роботи – виявлення високого відсотка (18,2 %) пацієнтів із підвищенням альдостерону сироватки на тлі приймання іАПФ/БРА, що може бути пов'язане з феноменом «вислизання альдостерону» (табл. 1). У пацієнтів із високим і нормальним альдостероном системний АТ, що суттєво впливає на ремоделювання серця [32], відрізнявся несуттєво.

Другий результат дослідження – встановлення асоціації між рівнем альдостерону та показниками структурно-функціонального стану міокарда (табл. 2). Усі пацієнти, залучені у дослідження, отримували іАПФ або БРА у складі антигіпертензивної терапії, хоча середній АТ в обох групах був вищим від оптимального ($\geq 140/90$ мм рт. ст.). Частота досягнення цільового рівня АТ $< 140/90$ мм рт. ст. у групах із нормальним і високим альдостероном значущо не відрізнялася (11 (30,5 %) і 3 (37,5 %), $p = 0,91$). Більша товщина стінок і розміри камер серця у групі з високим альдостероном сироватки можуть вказувати на суттєвий вплив альдостерону на ремоделювання серця та доцільність застосування АМР у цій групі пацієнтів. Вираженіші зміни структурно-функціонального стану міокарда в пацієнтів із підвищенням рівня альдостерону сироватки при схожих показниках системного АТ (табл. 1) підтверджують цю тезу.

Виявили різноспрямований взаємозв'язок між підвищенням альдостерону сироватки крові та жорсткістю артерій. У всій вибірці пацієнтів не було суттєвих відмінностей за жорсткістю артерій при нормальному й високому альдостероні сироватки крові. Кореляція між рівнем альдостерону та індексом аугментації на плечовій артерії та аорті у групі пацієнтів віком понад 55 років збігається з результатами дослідження PARAMETER [33], в якому застосування АМР призвело до зменшення жорсткості артерій у старших за 60 років пацієнтів. Накопичено дані про позитивний вплив іАПФ/БРА на рівень протеїнуриї та ендотеліальну функцію при ХХН [34]. У численних дослідженнях виявили вірогідний вплив альдостерону на жорсткість артерій та ендотеліальну функцію [15, 16, 35], але в усіх цих дослідженнях брали участь пацієнти з загальної популяції. Наявність у пацієнтів із ХХН додаткових факторів ризику серцево-судинних подій (перевантаження рідиною, вищий рівень запалення, порушення іонного балансу) може «маскувати» ефекти альдосте-

рону на судинну стінку [12]. Отримані дані збігаються з результатами дослідження за участю 19 пацієнтів із контрольованим АТ, котрі приймали іАПФ/БРА, в якому «вислизання» альдостерону також не асоціювалося зі змінами центральної гемодинаміки [20].

Вивчення причин судинного ремоделювання складне, і результати досліджень з цієї теми не повністю узгоджуються. Системний артеріальний тиск вважають значущим фактором збільшення жорсткості артерій [36], ця залежність покладена в основу формули для її розрахунку [27]. Однак в оглядовій статті D. R. Jacobs et al. викладена думка про суперечливі результати дослідження Chen et al., обговорено можливість первинних змін стінки артерій [36,37]. У дослідженні MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) товщина комплексу інтима-медіа сонних артерій була потужним предиктором розвитку АГ [38]. Негативна кореляція рівня альдостерону з систолічним, діастолічним АТ і відсутність інших закономірностей у групі жінок вказують на відмінності перебігу ремоделювання серця залежно від статі. Гендерні відмінності ремоделювання серцево-судинної системи можна пояснити протективним впливом жіночих статевих гормонів [39]. При медіані віку жінок у нашому дослідженні 56 [52; 60] років імовірно, що в більшості пацієнток менопауза вже настала. Це дає можливість пояснити відсутність різниці за жорсткістю артерій між групами та відзначити зв'язок наших результатів із роботою T. Continho et al., які спостерігали більшу жорсткість артерій у жінок, ніж у чоловіків [40].

Ремоделювання камер і стінок серця передуює розвитку серцевої недостатності, ризик розвитку якої для пацієнтів із ХХН утричі вищий, ніж для загальної популяції [11]. ММЛШ є предиктором серцево-судинних подій, особливо для пацієнтів старшої вікової групи (понад 65 років) [41]. Наявність безсимптомної гіпертрофії міокарда, згідно з рекомендаціями Американської колегії кардіологів, класифікують як стадію В серцевої недостатності, що потребує призначення іАПФ/БРА для профілактики маніфестної серцевої недостатності [42]. Серцева недостатність складно піддається лікуванню, але можливо сповільнити її розвиток через зменшення гіпертрофії міокарда [42]. Призначення АМР є перспективним для поліпшення діастолічної функції, але їхнє застосування в пацієнтів зі зниженою нирковою функцією обмежене [42]. Визначення рівня альдостерону перед ініціацією терапії допоможе визначити пацієнтів, для яких користь від терапії переважить потенційний ризик побічних ефектів (передусім гіперкаліємії) [6].

Висновки

1. Виявлено зв'язок між рівнем альдостерону сироватки крові понад 90 пг/мл у пацієнтів із ХХН та АГ із дилатацією порожнин лівого шлуночка та передсердь, а також із гіпертрофією лівого шлуночка. Ця залежність мала більше статистичне значення для пацієнтів чоловічої статі та для пацієнтів віком понад 55 років.
2. Зв'язок між рівнем альдостерону та жорсткістю артерій (індекс аугментації на плечовій артерії та аорті) виявили тільки в пацієнтів віком понад 55 років.

Обмеження дослідження

1. Переважання чоловіків у групі пацієнтів віком понад 55 років могло вплинути на результати дослідження через відмінність нормативних показників порожнин і стінок серця в чоловіків і жінок [43]. Старший вік чоловіків разом із більш раннім дебютом АГ у них [6] могли зумовити довший термін перебігу АГ і розвиток ремоделювання серця з гемодинамічних причин.

2. Не досліджували ренін крові, що не дало змогу визначити генез підвищення альдостерону.

3. Не досліджували альдостерон крові перед початком антигіпертензивної терапії, тому неможливо пояснити підвищення його рівня в частини пацієнтів феноменом «вислизання».

Перспективи подальших досліджень. Необхідні додаткові дослідження ефектів препаратів для контролю калію крові для пацієнтів із ХХН, що отримують АМР (визначення інтенсивності лікування, необхідності корекції дози залежно від рівня калію та функції нирок, цільових категорій пацієнтів, що потребують призначення цих препаратів). Перспективними шляхами корекції та профілактики гіперкаліємії є застосування препаратів, що посилюють виведення калію через шлунково-кишковий тракт (калієві біндери) або використання нових препаратів із класу АМР, як-от фінеренон [44].

Подяка

Автори висловлюють вдячність ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» за фінансову допомогу під час закупівлі реактиву для визначення рівня альдостерону сироватки крові та проведення дослідження.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.09.2019

Після доопрацювання / Revised: 28.10.2019

Прийнято до друку / Accepted: 04.11.2019

Відомості про авторів

Курята О. В., д-р мед. наук, професор каф. внутрішньої медицини 2 і фізіотрії, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
ORCID ID: 0000-0001-7642-0077

Семенов В. В., аспірант каф. внутрішньої медицини 2 і фізіотрії, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
ORCID ID: 0000-0003-3363-0159

Сведения об авторах:

Курята А. В., д-р мед. наук, профессор каф. внутренней медицины 2 и физиотрии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Семенов В. В., аспирант каф. внутренней медицины 2 и физиотрии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Information about authors:

Kuryata O. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Internal Medicine 2 and Phthisiology, SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.
Semenov V. V., PhD student of the Department of Internal Medicine 2 and Phthisiology, SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Список літератури

- [1] Cause of Death in Patients with Reduced Kidney Function / S. Thompson, M. James, N. Wiebe et al. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2015. Vol. 26, Iss. 10. P. 2504-2511. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014070714>
- [2] Judd E., Calhoun D. A. Management of Hypertension in CKD: Beyond the Guidelines. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2015. Vol. 22, Iss. 2. P. 116-122. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.12.001>
- [3] Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients: From Pathophysiology to Treatment / L. Di Lullo, A. Gorini, D. Russo et al. *Cardiorenal Medicine*. 2015. Vol. 5, Iss. 4. P. 254-266. <https://doi.org/10.1159/000435838>
- [4] Carey R. M., Whelton P. K., Wri A. A. H. G. Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline. *Annals of Internal Medicine*. 2018. Vol. 168, Iss. 5. 351. <https://doi.org/10.7326/m17-3203>
- [5] Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) blood pressure work group. KDIGO clinical practice guideline for the management of blood pressure in chronic kidney disease / G. J. Becker, D. C. Wheeler, D. De Zeeuw et al. *Kidney International Supplements*. 2012. Vol. 2, Iss. 5. P. 337-414. doi:10.1038/kisup.2012.46
- [6] 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz et al. *European Heart Journal*. 2013. Vol. 34, Iss. 28. P. 2159-2219. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh1151>
- [7] 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice / M. F. Piepoli, A. W. Hoes, S. Agewall et al. *European Heart Journal*. 2016. Vol. 37, Iss. 29. P. 2315. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106>
- [8] Narayan H., Webb D. J., Webb, D. J. New Evidence Supporting the Use of Mineralocorticoid Receptor Blockers in Drug-Resistant Hypertension. *Current Hypertension Report*. 2016. Vol. 18, Iss. 5. P. 34. <https://doi.org/10.1007/s11906-016-0643-8>
- [9] Latest aspects of aldosterone actions on the heart muscle / A. A. Kritis, C. P. Gouta, E. I. Liaretidou, K. I. Kallaras. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2016. Vol. 67, Iss. 1. P. 21-30.
- [10] Kidney disease measures and left ventricular structure and function: The atherosclerosis risk in communities study / K. Matsushita, L. Kwak, Y. Sang et al. *Journal of the American Heart Association*. 2017. Vol. 6, Iss. 9 <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.006259>
- [11] Segall L., Nistor I., Covic A. Heart Failure in Patients with Chronic Kidney Disease: A Systematic Integrative Review. *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014. P. 1-21. <https://doi.org/10.1155/2014/937398>
- [12] Tsuruya K., Eriguchi M. Cardiorenal syndrome in chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2015. Vol. 24, Iss. 2. P. 154-162. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000099>
- [13] Greve S. V., Laurent S., Olsen, M. H. Estimated Pulse Wave Velocity Calculated from Age and Mean Arterial Blood Pressure. *Pulse*. 2016. Vol. 4, Iss. 4. P. 175-179. <https://doi.org/10.1159/000453073>
- [14] Vlachopoulos C., Aznaouridis K., Stefanadis C. Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010. Vol. 55, Iss. 13. P. 1318-1327. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.10.061>
- [15] Plasma Aldosterone Concentration Is Positively Associated With Pulse Pressure in Patients With Primary Hypertension / X. G. Yao, N. F. Li, Y. J. Zhang et al. *Medicine*. 2015. Vol. 94, Iss. 10. P. e614. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000000614>
- [16] Role of Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor in Cardiovascular Aging / S. Gorini, S. K. Kim, M. Infante et al. *Frontiers in Endocrinology*. 2019. Vol. 10. P. 584. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00584>
- [17] Effect of Spironolactone on Exercise Tolerance and Arterial Function in Older Adults with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction / B. Upadhyay, W. G. Hundley, P. H. Brubaker et al. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2017. Vol. 65, Iss. 11. P. 2374-2382. <https://doi.org/10.1111/jgs.14940>
- [18] Low dose-eplerenone treatment decreases aortic stiffness in patients with resistant hypertension / T. Kalizki, B. M. W. Schmidt, U. Raff et al. *Journal of Clinical Hypertension*. 2017. Vol. 19, Iss. 7. P. 669-676. <https://doi.org/10.1111/jch.12986>
- [19] Effect of eplerenone on the severity of obstructive sleep apnea and arterial stiffness in patients with resistant arterial hypertension / B. Krasinska, A. Miazga, S. Cofta et al. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej-Polish Archives of Internal Medicine*. 2016. Vol. 126, Iss. 5. P. 330-339. <https://doi.org/10.20452/pamw.3410>
- [20] Beenken A., Bomback A. S. Aldosterone breakthrough does not alter central hemodynamics. *JRAAS – Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 2017. Vol. 18, Iss. 4. P. 1-5. doi:10.1177/1470320317735002

- [21] The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure / B. Pitt, F. Zannad, W. J. Remme et al. *New England Journal of Medicine*. 1999. Vol. 341, Iss. 10. P. 709-717. <https://doi.org/10.1056/nejm19990923411001>
- [22] Effect of Spironolactone in Resistant Arterial Hypertension A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial (ASPIRANT-EXT) / J. Vaclavik, R. Sedlak, J. Jarkovsky et al. *Medicine*. 2014. Vol. 93, Iss. 27. P. e162. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000000162>
- [23] Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial / B. Williams, T. M MacDonald, S. Morant et al. *Lancet*. 2015. Vol. 386, Iss. 10008. P. 2059-2068. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00257-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00257-3)
- [24] KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease / G. Eknoyan, N. Lameire, K. Echarid et al. *Kidney International Supplements*. 2013. Vol. 3, Iss. 1. P. 1-150. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.76>
- [25] Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при артеріальній гіпертензії. Наказ МОЗ України від 24.05.2012 № 384. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0384282-12?lang=uk>
- [26] Мостовой Ю. М., Сідоров А. А. Аналізи: Нормативні показники, трактування змін: довідник для лікарів-терапевтів та сімейних лікарів. Київ, 2016. 108 с.
- [27] Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values' / F. U. S. Mattace-Raso, A. Hofman, G. C. Verwoert et al. *European Heart Journal*. 2010. Vol. 31, Iss. 19. P. 2338-2350. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq165>
- [28] Вимірювач артеріального тиску ВАТ41-2: посібник з експлуатації. URL: <https://www.google.com.ua/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi6pbXz5avmAhXAwcQBHaUoB5sQFjABegQIAxAK&url=http%3A%2F%2Fwww.ics-tech.kiev.ua%2Fdownload%2Fvat41-2.pdf&usq=AovVaw2wnrwsCSMk9VAK2hDYFour>
- [29] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing / R Foundation for Statistical Computing. Vienna, 2019. URL: <http://www.R-project.org/>
- [30] Sarkar D. Lattice: Multivariate Data Visualization with R. New York : Springer, 2008. URL: <http://mdvr.r-forge.r-project.org>
- [31] Firke S. Janitor: Simple Tools for Examining and Cleaning Dirty Data. 2018. URL: <https://cran.r-project.org/package=janitor>
- [32] Tomek J., Bub G. Hypertension-induced remodeling: on the interactions of cardiac risk factors. *Journal of Physiology-London*. 2017. Vol. 595, Iss. 12. P. 4027-4036. <https://doi.org/10.1113/jp273043>
- [33] Effects of Sacubitril/Valsartan Versus Olmesartan on Central Hemodynamics in the Elderly With Systolic Hypertension The PARAMETER Study / B. Williams, J. R. Cockcroft, K. Kario et al. *Hypertension*. 2017. Vol. 69, Iss. 3. P. 411. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.116.08556>
- [34] Курята О. В., Гармш І. П. Рівень протеїнуриї та стан ендотеліальної функції судин у хворих на хронічну хворобу нирок у поєднанні із субклінічним гіпотиреозом під впливом комбінованої антигіпертензивної терапії. *Медичні перспективи*. 2018. Т. 23, № 2. С. 19-24. [https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2\(part1\).129510](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2(part1).129510)
- [35] Multimarker Approach to Evaluate Correlates of Vascular Stiffness The Framingham Heart Study / W. Lieb, M. G. Larson, E. J. Benjamin et al. *Circulation*. 2009. Vol. 119, Iss. 1. P. 37-43. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.108.816108>
- [36] Temporal Relationship Between Elevated Blood Pressure and Arterial Stiffening Among Middle-Aged Black and White Adults / W. Chen, S. X. Li, C. Fernandez et al. *American Journal of Epidemiology*. 2016. Vol. 183, Iss. 7. P. 599-608. <https://doi.org/10.1093/aje/kwv274>
- [37] Jacobs D. R., Duprez D. A., Shimbo D. Invited Commentary: Hypertension and Arterial Stiffness—Origins Remain a Dilemma. *American Journal of Epidemiology*. 2016. Vol. 183, Iss. 7. P. 609-612. <https://doi.org/10.1093/aje/kwv276>
- [38] Structural and Functional Vascular Alterations and Incident Hypertension in Normotensive Adults / C. A. Peralta, K. L. Adeney, M. G. Shlipak et al. *American Journal of Epidemiology*. 2010. Vol. 171, Iss. 1. P. 63-71. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp319>
- [39] Moss M. E., Carvajal B., Jaffe I. Z. The endothelial mineralocorticoid receptor: Contributions to sex differences in cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*. 2019. Vol. 203. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.06.009>
- [40] Sex Differences in Arterial Stiffness and Ventricular-Arterial Interactions / T. Coutinho, B. A. Borlaug, P. A. Pellikka et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013. Vol. 61, Iss. 1. P. 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.08.997>
- [41] Left Ventricular Mass as a Predictor of Cardiovascular Disease Events in Elderly Subjects With Metabolic Syndrome and Diabetes / K. Hoang, B. Lee, J. Gardin et al. *Circulation*. 2009. Vol. 120, Iss. 18. P. S544-S545.
- [42] 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure / C. W. Yancy, M. Jessup, B. Bozkurt et al. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017. Vol. 70, Iss. 6. P. 776. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.04.025>
- [43] Echocardiographic reference ranges for normal cardiac chamber size: results from the NORRE study / S. Kou, L. Caballero, R. Dulgheru et al. *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging*. 2014. Vol. 15, Iss. 6. P. 680-690. <https://doi.org/10.1093/ehjci/et284>
- [44] Zannad F., Ferreira J. P., Pitt B. Potassium binders for the prevention of hyperkalaemia in heart failure patients: implementation issues and future developments. *European Heart Journal Supplements*. 2019. Vol. 21(A). P. A55-A60. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suy034>

References

- [1] Thompson, S., James, M., Wiebe, N., Hemmelgarn, B., Manns, B., Klarenbach, S., & Tonelli, M. (2015). Cause of Death in Patients with Reduced Kidney Function. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(10), 2504-2511. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014070714>
- [2] Judd, E., & Calhoun, D. A. (2015). Management of Hypertension in CKD: Beyond the Guidelines. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 22(2), 116-122. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.12.001>
- [3] Di Lullo, L., Gorini, A., Russo, D., Santoboni, A., & Ronco, C. (2015). Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients : From Pathophysiology to Treatment. *Cardiorenal Medicine*, 5, 254-266. <https://doi.org/10.1159/000435838>
- [4] Carey, R. M., Whelton, P. K., & Wri, A. A. H. G. (2018). Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline. *Annals of Internal Medicine*, 168(5), 351-+. <https://doi.org/10.7326/m17-3203>
- [5] Becker, G. J., Wheeler, D. C., De Zeeuw, D., Fujita, T., Furth, S. L., Holdaas, H., . . . Zoccali, C. (2012). Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) blood pressure work group. KDIGO clinical practice guideline for the management of blood pressure in chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*, 2(5), 337-414. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.46>
- [6] Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Bohm, M., & Task Force, M. (2013). 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*, 34(28), 2159-2219. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz151>
- [7] Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., & Verschuren, W. M. M. (2016). 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*, 37(29), 2315-+. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106>
- [8] Narayan, H., & Webb, D. J. (2016). New Evidence Supporting the Use of Mineralocorticoid Receptor Blockers in Drug-Resistant Hypertension. *Current Hypertension Reports*, 18(5), Article 34. <https://doi.org/10.1007/s11906-016-0643-8>
- [9] Kritis, A. A., Gouta, C. P., Liaretidou, E. I., & Kallaras, K. I. (2016). Latest aspects of aldosterone actions on the heart muscle. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 67(1), 21-30.
- [10] Matsushita, K., Kwak, L., Sang, Y., Ballew, S. H., Skali, H., Shah, A. M., . . . Solomon, S. (2017). Kidney disease measures and left ventricular structure and function: The atherosclerosis risk in communities study. *Journal of the American Heart Association*, 6(9) <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.006259>
- [11] Segall, L., Nistor, I., & Covic, A. (2014). Heart Failure in Patients with Chronic Kidney Disease: A Systematic Integrative Review. *BioMed Research International*, 2014, 1-21. <https://doi.org/10.1155/2014/937398>
- [12] Tsuruya, K., & Eriguchi, M. (2015). Cardiorenal syndrome in chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 24(2), 154-162. <https://doi.org/10.1097/mnh.0000000000000099>
- [13] Greve, S. V., Laurent, S., & Olsen, M. H. (2016). Estimated Pulse Wave Velocity Calculated from Age and Mean Arterial Blood Pressure. *Pulse*, 4(4), 175-179. <https://doi.org/10.1159/000453073>
- [14] Vlachopoulos, C., Aznaouridis, K., & Stefanadis, C. (2010). Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(13), 1318-1327. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.10.061>
- [15] Yao, X. G., Li, N. F., Zhang, Y. J., Zhang, J. H., Abulikh, S., Zhang, D. L., . . . Kong, J. Q. (2015). Plasma Aldosterone Concentration Is Positively Associated With Pulse Pressure in Patients With Primary Hypertension. *Medicine*, 94(10), Article e614. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000000614>
- [16] Gorini, S., Kim, S. K., Infante, M., Mammi, C., La Vignera, S., Fabbri, A., . . . Caprio, M. (2019). Role of Aldosterone and Mineralocorticoid Receptor in Cardiovascular Aging. *Frontiers in Endocrinology*, 10, Article 584. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00584>

- [17] Upadhyay, B., Hundley, W. G., Brubaker, P. H., Morgan, T. M., Stewart, K. P., & Kitzman, D. W. (2017). Effect of Spironolactone on Exercise Tolerance and Arterial Function in Older Adults with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(11), 2374-2382. <https://doi.org/10.1111/jgs.14940>
- [18] Kalizki, T., Schmidt, B. M. W., Raff, U., Reinold, A., Schwarz, T. K., Schneider, M. P., Schmieder, R. E., & Schneider, A. (2017). Low dose-epplerenone treatment decreases aortic stiffness in patients with resistant hypertension. *Journal of Clinical Hypertension*, 19(7), 669-676. <https://doi.org/10.1111/jch.12986>
- [19] Krasinska, B., Miazga, A., Cofta, S., Szczepaniak-Chichel, L., Trafas, T., Krasinski, Z., ... Tykarski, A. (2016). Effect of eplerenone on the severity of obstructive sleep apnea and arterial stiffness in patients with resistant arterial hypertension. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej-Polish Archives of Internal Medicine*, 126(5), 330-339. <https://doi.org/10.20452/pamw.3410>
- [20] Beenken, A., & Bombardieri, A. S. (2017). Aldosterone breakthrough does not alter central hemodynamics. *JRAAS – Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 18(4), 1-5. doi:10.1177/1470320317735002
- [21] Pitt, B., Zannad, F., Remme, W. J., Cody, R., Castaigne, A., Perez, A., ... Randomized Aldactone Evaluation Study, I. (1999). The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 709-717. <https://doi.org/10.1056/nejm199909023411001>
- [22] Vaclavik, J., Sedlak, R., Jarkovsky, J., Kocianova, E., & Taborsky, M. (2014). Effect of Spironolactone in Resistant Arterial Hypertension A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial (ASPIRANT-EXT). *Medicine*, 93(27), Article e162. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000000162>
- [23] Williams, B., MacDonald, T. M., Morant, S., Webb, D. J., Sever, P., McInnes, G., ... British Hypertension Soc, P. S. (2015). Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet*, 386(10008), 2059-2068. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00257-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00257-3)
- [24] Eknoyan, G., Lameire, N., Echardt, K., Kasiske, B., Wheeler, D., & Abboud, O. (2013). KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements*, 3(1), 1-150. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.76>
- [25] Pro zatverdzhennia ta vprovadzhenia medyko-tekhnohichnykh dokumentiv z standartyzatsii medychnoi dopomohy pry arterialnii hipertenzii. Nakaz MOZ Ukrainy vid 24.05.2012 No. 384 [Ministry of Health of Ukraine (2012, May 24). On approval and implementation of medical and technological documents on standardization of medical care for arterial hypertension (No. 384)]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0384282-12?lang=en> [in Ukrainian].
- [26] Mostovoi, Yu. M., & Sidorov, A. A. (2016). *Analizy: Normatyvni pokaznyky, traktuvannya zmin: dovidnyk dlia likariv-terapevtiv ta simeinykh likariv [Analyzes: normal ranges, interpretation of changes]*. Kyiv. [in Ukrainian].
- [27] Mattace-Raso, F. U. S., Hofman, A., Verwoert, G. C., Witteman, J. C. M., Wilkinson, I., Cockcroft, J., ... Reference Values Arterial, S. (2010). Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *European Heart Journal*, 31(19), 2338-2350. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq165>
- [28] *Vymiruvach arterialnoho tysku VAT41-2: posibnyk z ekspluatatsii [Blood pressure meter VAT41-2. User manual regarding]*. Retrieved from <https://www.google.com.ua/url?sa=t&rc=tj&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi6pbXz5avmAhXAawcQBHaUoB5sQFjABegQIAxAK&url=http%3A%2F%2Fwww.ics-tech.kiev.ua%2Fdoccont%2Fvat41-2.pdf&usq=A0vVaw2wn-wrsCSMk9Vak2hDYFour> [in Ukrainian].
- [29] R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: Austria. Retrieved from <http://www.R-project.org/>
- [30] Sarkar, D. (2008). *Lattice*. New York, NY: Springer-Verlag New York. Retrieved from <http://lmdvr.r-forge.r-project.org>
- [31] Firke, S. (2018). *Janitor: Simple tools for examining and cleaning dirty data*. Retrieved from <https://cran.r-project.org/package=janitor>
- [32] Tomek, J., & Bub, G. (2017). Hypertension-induced remodelling: on the interactions of cardiac risk factors. *Journal of Physiology-London*, 595(12), 4027-4036. <https://doi.org/10.1113/jp273043>
- [33] Williams, B., Cockcroft, J. R., Kario, K., Zappe, D. H., Brunel, P. C., Wang, Q., & Guo, W. N. (2017). Effects of Sacubitril/Valsartan Versus Olmesartan on Central Hemodynamics in the Elderly With Systolic Hypertension The PARAMETER Study. *Hypertension*, 69(3), 411-+. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.116.08556>
- [34] Kuryata, O. V., & Garmish, I. P. (2018). Riven proteinurii ta stan endotelialnoi funktsii sudyn u khvorykh na khronichnu khvorobu nyrok u poiednanni z subklinichnym hipotyreozyom pid vplyvom antyhipertensyynoi terapii [The level of proteinuria and the state of endothelial function in patients with chronic kidney disease combined with subclinical hypothyroidism under the influence of combined antihypertensive therapy]. *Medycyni Perspektivi*, 23(2), 19-24. [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2\(part1\).129510](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2018.2(part1).129510)
- [35] Lieb, W., Larson, M. G., Benjamin, E. J., Yin, X., Tofler, G. H., Selhub, J., ... Mitchell, G. F. (2009). Multimarker Approach to Evaluate Correlates of Vascular Stiffness The Framingham Heart Study. *Circulation*, 119(1), 37-43. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.108.816108>
- [36] Chen, W., Li, S. X., Fernandez, C., Sun, D. J. Y., Lai, C. C., Zhang, T., ... Deng, H. W. (2016). Temporal Relationship Between Elevated Blood Pressure and Arterial Stiffening Among Middle-Aged Black and White Adults. *American Journal of Epidemiology*, 183(7), 599-608. <https://doi.org/10.1093/aje/kwv274>
- [37] Jacobs, D. R., Duprez, D. A., & Shimbo, D. (2016). Invited Commentary: Hypertension and Arterial Stiffness-Origins Remain a Dilemma. *American Journal of Epidemiology*, 183(7), 609-612. <https://doi.org/10.1093/aje/kwv276>
- [38] Peralta, C. A., Adeney, K. L., Shlipak, M. G., Jacobs, D., Duprez, D., Bluemke, D., ... Kestenbaum, B. R. (2010). Structural and Functional Vascular Alterations and Incident Hypertension in Normotensive Adults. *American Journal of Epidemiology*, 171(1), 63-71. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp319>
- [39] Moss, M. E., Carvajal, B., & Jaffe, I. Z. (2019). The endothelial mineralocorticoid receptor: Contributions to sex differences in cardiovascular disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 203. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.06.009>
- [40] Coutinho, T., Borlaug, B. A., Pellikka, P. A., Turner, S. T., & Kullo, I. J. (2013). Sex Differences in Arterial Stiffness and Ventricular-Arterial Interactions. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(1), 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.08.997>
- [41] Hoang, K., Lee, B., Gardin, J., Carnethon, M., Mukamal, K., Yanez, D., & Wong, N. (2009). Left Ventricular Mass as a Predictor of Cardiovascular Disease Events in Elderly Subjects With Metabolic Syndrome and Diabetes. *Circulation*, 120(18), S544-S545.
- [42] Yancy, C. W., Jessup, M., Bozkurt, B., Butler, J., Casey, D. E., Colvin, M. M., ... Westlake, C. (2017). 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(6), 776-+. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.04.025>
- [43] Kou, S., Caballero, L., Dulgheru, R., Voilliot, D., De Sousa, C., Kacharava, G., ... Lancellotti, P. (2014). Echocardiographic reference ranges for normal cardiac chamber size: results from the NORRE study. *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging*, 15(6), 680-690. <https://doi.org/10.1093/ehjci/et284>
- [44] Zannad, F., Ferreira, J. P., & Pitt, B. (2019). Potassium binders for the prevention of hyperkalaemia in heart failure patients: implementation issues and future developments. *European Heart Journal Supplements*, 21(A), A55-A60. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suy034>

Інгібування полі(АДФ-рибозо)полімерази сприяє зменшенню оксидативного стресу в печінці мишей за умов експериментальної ендотоксемії

Н. Г. Грушка*^{A-D,F}, О. А. Кондрацька^{B,C,F}, С. І. Павлович^{A,B,F}, Н. О. Пількевич^B, Р. І. Янчій^{E,F}

Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН 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

Мета роботи – дослідити дію інгібітора ферменту полі(АДФ-рибозо)полімерази 1 (ПАРП-1), 4-гідроксиквіназоліну (4-ГК), на стан про- та антиоксидантної системи печінки мишей при запаленні, що індуковане ліпополісахаридом (ЛПС).

Матеріали та методи. Системну ендотоксемию в мишей моделювали за допомогою внутрішньоочеревинного (в/о) введення ЛПС (*E. coli* 0111:B4; 3 мг/кг). Розчин 4-ГК застосовували в/о в дозі 100 мг/кг за 1 годину до введення ЛПС. Процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом у тканині печінки кінцевих продуктів ПОЛ у реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Концентрацію відновленого глутатіону (ВГл) у печінці визначали спектрофотометричним методом Елмана. Рівень церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові оцінювали колориметричним методом Равіна за допомогою тест-набору (ПрАТ «Реагент», Україна) відповідно до інструкції виробника та виражали у мг/л.

Результати. Встановили, що через 24 год після введення ЛПС значно збільшувався вміст ТБК-реактивних продуктів (ТБК-РП) у тканині печінки, що вказує на посилення ПОЛ. За умов дії ЛПС знижувалися кількість ВГл та активність ЦП у сироватці крові. Застосування на тлі ендотоксемії інгібітора ПАРП-1, 4-ГК призводило до зменшення в 1,7 раза кількості ТБК-РП у тканині печінки ($p < 0,05$ порівняно з ЛПС) і підвищувало вміст ВГл (в 2,9 раза; $p < 0,05$) та ЦП (в 1,2 раза; $p < 0,05$).

Висновки. Отримані на моделі ендотоксемії дані свідчать про залучення ПАРП-1 до інтенсифікації ПОЛ. Фармакологічне інгібування цього ферменту сприяло послабленню оксидативного стресу в печінці мишей і поліпшувало стан антиоксидантного захисту організму, тобто чинило виражений протективний ефект за умов експериментальної ендотоксемії.

Ключові слова: експериментальна ендотоксемія, печінка, оксидативний стрес, полі(АДФ-рибозо)-полімераза.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 323–327

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188796

***E-mail:** grunay@i.ua

Ингибирование поли(АДФ-рибоза)полимеразы способствует уменьшению оксидативного стресса в печени мышей в условиях экспериментальной эндотоксемии

Н. Г. Грушка, Е. А. Кондрацкая, С. И. Павлович, Н. А. Пилькевич, Р. И. Янчий

Цель работы – исследовать действие ингибитора фермента поли(АДФ-рибоза)полимеразы 1 (ПАРП-1), 4-гидрокси-квіназоліну (4-ГК), на состояние про- и антиоксидантної системи печені мишей при воспалении, индуцированном липополисахаридом (ЛПС).

Материалы и методы. Системную эндотоксемию у мышей моделировали с помощью внутрибрюшинного (в/б) введения ЛПС (*E. coli* 0111:B4; 3 мг/кг). Раствор 4-ГК применяли в/б в дозе 100 мг/кг за 1 час до введения ЛПС. Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в ткани печени конечных продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Концентрацию восстановленного глутатиона (ВГл) в печени определяли спектрофотометрическим методом Элмана. Уровень церулоплазмина (ЦП) в сыворотке крови оценивали колориметрическим методом Равина с помощью тест набора (ЧАО «Реагент», Украина) в соответствии с инструкцией производителя и выражали в мг/л.

Результаты. Установлено, что через 24 ч после введения ЛПС значительно возросло содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) в ткани печени, что указывает на усиление ПОЛ. В условиях действия ЛПС существенно снижались количество ВГл и активность ЦП в сыворотке крови. Применение на фоне эндотоксемии ингибитора ПАРП-1, 4-ГК приводило к уменьшению в 1,7 раза количества ТБК-РП в ткани печени ($p < 0,05$ по сравнению с ЛПС) и значительно повышало содержание ВГл (в 2,9 раза, $p < 0,05$) и ЦП (в 1,2 раза, $p < 0,05$).

Выводы. Полученные на модели эндотоксемии данные свидетельствуют о вовлечении ПАРП-1 в интенсификацию ПОЛ. Фармакологическое ингибирование данного фермента способствовало ослаблению оксидативного стресса в печени мышей и улучшало состояние антиоксидантной защиты организма, то есть оказывало выраженный протективный эффект в условиях экспериментальной эндотоксемии.

Ключевые слова: экспериментальная эндотоксемия, печень, оксидативный стресс, поли(АДФ-рибоза)-полимераза.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 323–327

Inhibition of poly(ADP-ribose)polymerase contributes to the reduction of oxidative stress in murine liver under the conditions of experimental endotoxemia

N. H. Hrushka, S. I. Pavlovych, O. A. Kondratska, N. O. Pilkevych, R. I. Yanchii

The aim of the work is to investigate the effect of the enzyme poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP-1) inhibitor, 4-hydroxyquinazoline (4-HQN), on the state of the pro- and antioxidant system of murine liver, under the conditions of lipopolysaccharide (LPS) induced inflammation.

Key words:
experimental
endotoxemia, liver,
oxidative stress,
poly(ADP-ribose)-
polymerase.

Pathologia
2019; 16 (3), 323–327

Materials and methods. Systemic endotoxemia was induced by the administration of LPS (*E. coli* 0111:B4) at a dose of 3 mg/kg intraperitoneally (IP). A solution of 4-HQN was applied IP at a dose of 100 mg/kg an hour before LPS administration. The processes of lipid peroxidation (LPO) have been evaluated by the content of the end products of LPO in liver tissue by their reaction with thiobarbituric acid (TBA). The concentration of reduced glutathione (GSH) in liver was determined by Ellman's spectrophotometric method. The level of ceruloplasmin (CP) in serum was measured by colorimetric method of Ravin using a test kit (JSC Reagent, Ukraine) in accordance with the manufacturer's instructions and expressed in mg/l.

Results. It was established that 24 hours after LPS administration the content of TBA-reactive substances (TBARS) in liver tissue significantly increased, that indicates intensification of POL. The level of GSH and the activity of CP in serum significantly decreased under the conditions of LPS action. The use of the inhibitor PARP-1, 4-HQN, during endotoxemia resulted in 1.7-fold decrease in the amount of TBARS in liver tissue ($P < 0.05$ compared with LPS) and increased significantly the GSH content (2.9-fold, $P < 0.05$) and the CP (1.2-fold, $P < 0.05$).

Conclusions. The data obtained using murine model of endotoxemia indicate the involvement of PARP-1 in intensification of POL. Pharmacological inhibition of this enzyme contributed to the reduction of oxidative stress in murine liver and improved the state of antioxidant protection of the body, that is, it had a pronounced protective effect during endotoxemia.

Порушення балансу прооксидантної та антиоксидантної систем спричиняє виникнення оксидативного стресу. Провідна роль у розвитку оксидативного стресу клітин і тканин належить активним формам кисню (АФК), що індуюють процеси ПОЛ. Надлишкова продукція АФК, особливо разом із недостатніми компенсаторними можливостями антиоксидантного захисту, може призвести до розвитку нових або ускладнення вже наявних патологічних процесів (імунозапальні хвороби, серцево-судинні захворювання) [1,2], зокрема й патології, індуковані ендотоксемією [3,4]. Ендотоксемія, зумовлена наявністю в організмі бактеріального ендотоксину (як-от ліпополісахарид (ЛПС)-компонент бактеріальної стінки грамнегативних бактерій), є нагальною медичною проблемою, оскільки може бути причиною ушкодження клітин і тканин. Це може провокувати певні імунозапальні процеси в організмі людини, тварин і викликати захворювання різних органів і систем організму [5–7].

Відомо, що ЛПС через Toll-подібний рецептор 4 (TLR4) активує клітини неспецифічної резистентності й посилює їхні бактерицидні властивості (продукцію АФК, лізосомальних ферментів, фагоцитоз тощо). Результати, які отримали на використаній у цій роботі експериментальній моделі ендотоксемії, показали, що введення ЛПС мишам спричиняє значуще підвищення продукції супероксиду нейтрофілами [5]. Неадекватна активація нейтрофілів і макрофагів під впливом ЛПС призводить до секреції чималої кількості АФК і, за умов недостатнього антиоксидантного захисту, може спричинити оксидативний стрес клітин та органів. Це особливо стосується печінки, де перебігають складні процеси елімінації ендотоксину та яка є органом із найбільшою популяцією тканинних макрофагів в організмі (клітини Купфера) [8,9]. Проблема оксидативного стресу за умов ендотоксемії потребує детального вивчення для виявлення засобів відновлення балансу між інтенсивністю процесів вільнорадикального окиснення й антиоксидантного захисту. У цьому аспекті перспективним видається застосування інгібіторів ферменту полі(АДФ-рибозо)полімерази (ПАРП). ПАРП – родина із 18 ферментів. ПАРП-1, найпоширеніша ізоформа, відіграє важливу фізіологічну роль, здійснюючи посттрансляційну модифікацію білків. Фермент активується при розривах ДНК, синтезує ланцюги полімера АДФ-рибози та приєднує їх до гістонів, білків репарації ДНК, транскрипційних факторів тощо. Така посттранс-

ляційна модифікація білків долучена в ремодельованні структури хроматину, репарації ДНК, регулюванні експресії генів, у поділі та загибелі клітин тощо [10,11], що зумовлює фізіологічне значення ПАРП. Однак встановлено, що за умов надмірної активації цей фермент залучений у пошкодження тканин при низці хвороб. Він є ключовим медіатором клітинної загибелі при розвитку оксидативного та нітрозативного стресу, а також може перемикає шлях загибелі клітин з апоптозу на некроз із відповідним посиленням запалення [11]. Показано виражену протективну дію інгібіторів ПАРП на кількох моделях імуніопосередкованих хвороб, а також за умов індукованого ЛПС запалення в легенях, нирках і мозку [12,13]. Також є дані про участь цього ферменту в патогенезі захворювань печінки, оскільки при її ураженні виявляється високий рівень вільних радикалів і перекисного окислення ліпідів, що може призводити до надмірної активації ПАРП унаслідок розривів ДНК [14]. Отже, практичний інтерес становить вивчення здатності речовин, що пригнічують ПАРП, зменшувати оксидативний стрес при пошкодженні печінки, що викликане ЛПС.

Мета роботи

Дослідити дію інгібітора ПАРП-1, 4-гідроксиквіназоліну (4-ГК), на стан про- та антиоксидантної системи печінки мишей за умов ЛПС-індукованої ендотоксемії.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на статевозрілих самицях мишей лінії Альбіно (маса 18–22 г) у відділі імуніології Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України. Мишей утримували на стандартному раціоні віварію відповідно до «Стандартних правил по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)», дотримуючись загальних принципів біоетики відповідно до Гельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964). Протягом роботи також дотримувалися Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин Ради Європи (Страсбург, 1986). Системну ендотоксемію моделювали за допомогою внутрішньоочеревинного (в/о) введення ЛПС (*E. coli* 0111:B4, Sigma, USA). Для вивчення ефекту 4-ГК за умов ендотоксемії самиць поділили на 3 групи:

1) група ЛПС: миші, які отримали ЛПС у дозі 3 мг/кг;
2) 4-ГК + ЛПС: миші, які отримали в/о ін'єкції 4-ГК (Sigma, USA) у дозі 100 мг/кг за 1 годину до введення ЛПС;

3) контрольні тварини, яким вводили розчинник – фізіологічний розчин (ФР) у відповідному об'ємі.

Через 24 год тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для досліджень.

Інтенсивність процесів пероксидації ліпідів (ПОЛ) оцінювали за концентрацією в печінці кінцевих продуктів ПОЛ (малонового діальдегіду та інших альдегідів), що базується на їхній здатності взаємодіяти з 2-тіо-барбітуровою кислотою (ТБК). Гомогенат печінки для проведення реакції отримували шляхом розтирання 500 мг тканини в порцеляновій ступці на льоду в 5 мл PBS і центрифугували при 4 °С протягом 7 хв при 12 000 g. Вміст ТБК-реактивних продуктів (ТБК-РП) у супернатантах, що отримали, визначали колориметричним методом [15] і виражали в нмоль МДА на 1 г тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Для характеристики антиоксидантного захисту визначали рівень відновленого глутатіону (ВГл) у печінці та вміст церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові. Вміст ВГл визначали стандартним спектрофотометричним методом із застосуванням реактиву Елмана [16], використовуючи супернатанти гомогенізованої печінки, отримані методом, що вже описали. Рівень церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові оцінювали колориметричним методом Равіна за допомогою тест-набору (ПрАТ «Реагент», Україна) згідно з інструкцією та виражали в мг/л.

Для статистичного опрацювання результатів використовували програму GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, USA). Після перевірки на нормальність розподілу за критерієм Колмогорова–Смирнова (не менше ніж 7 мишей у кожній групі) статистичний аналіз виконували, використовуючи one-way ANOVA із наступним множинним порівнянням за тестом Newman–Keuls. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Результати наводили як $M \pm m$ (середнє \pm стандартна похибка).

Результати

Показано, що ЛПС *E. coli* (серотип 0111:B4) в дозі 3 мг/кг маси тіла миші, за результатами попередніх досліджень, спричиняла через 24 год зміни маси тварин, ректальної температури та лейкограми крові. За даними лейкограми, відсоток нейтрофільних гранулоцитів зростає у 3,1 раза, зокрема паличкоядерних у 4 рази ($p < 0,001$ порівняно з контролем в обох випадках), що свідчить про розвиток запального процесу [5].

Дослідуючи стан ПОЛ у печінці мишей за умов ендотоксемії, встановили: через 24 год після введення ЛПС вміст ТБК-РП у тканині зростає вдвічі щодо контролю ($p < 0,05$) (рис. 1А). За нашими даними, за умов ендотоксемії відбувалося суттєве зменшення вмісту важливого компонента системи антиоксидантного захисту – ВГл у печінці. Вміст іншого важливого компонента антиоксидантної системи – ЦП – за цих умов також значущо зменшувався (рис. 1Б). Отже, за умов

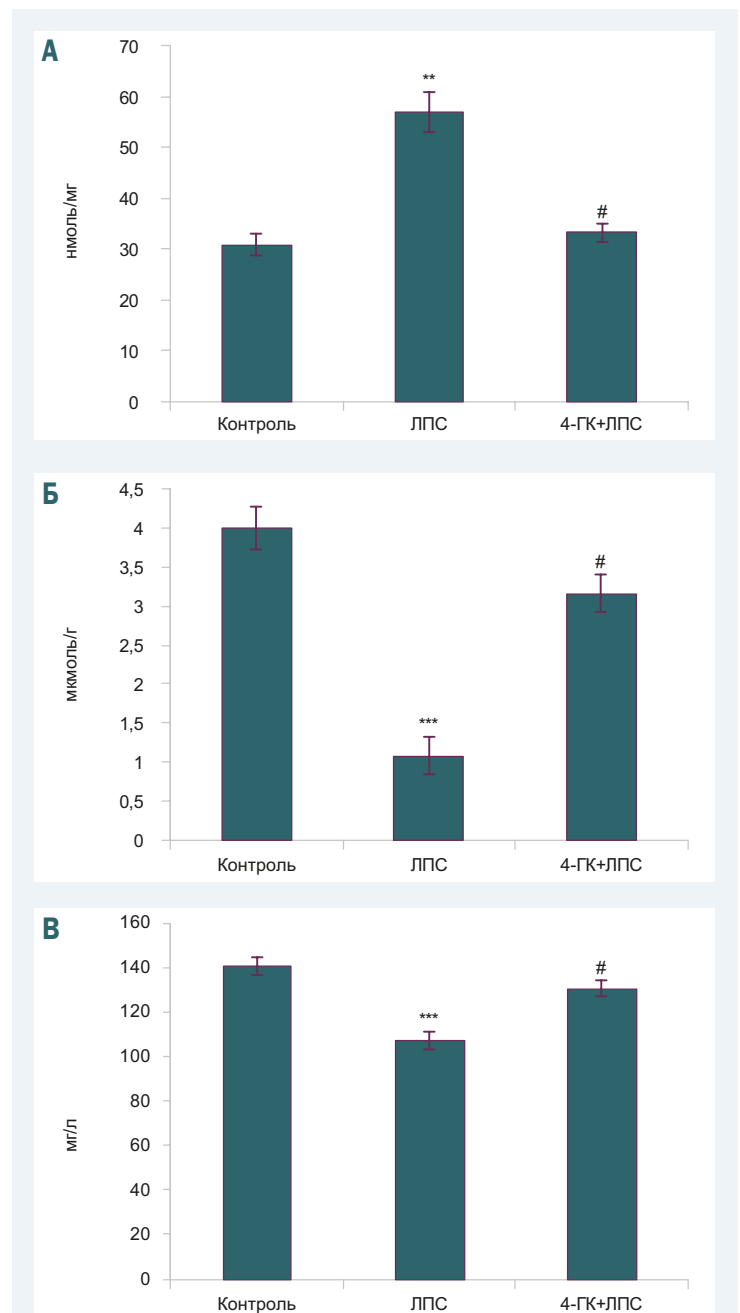


Рис. 1. Вміст ТБК-РП у тканині печінки, нмоль/мг (А), вміст ВГл у тканині печінки, ммоль/г (Б) і церулоплазміну у крові, мг/л (Б) у контрольних мишей за умов введення ЛПС і 4-ГК+ЛПС.

: $p < 0,01$; *: $p < 0,001$ щодо контролю; #: $p < 0,05$ щодо ЛПС.

ендотоксемії в печінці мишей відбувалося порушення рівноваги між процесами ліпопероксидації та активністю антиоксидантного захисту в бік активації ПОЛ.

Застосування інгібітора ПАРП-1, 4-ГК, за умов дії ЛПС призводило до значущого зменшення вмісту ТБК-РП в печінці – в 1,7 раза порівняно з дією ЛПС ($p < 0,05$) (рис. 1А). Введення 4-ГК мишам з ендотоксемією призводило до збільшення вмісту ВГл у печінці у 2,9 раза, а ЦП – в 1,2 раза (рис. 1Б,В). Отже, встановлено, що інгібування ПАРП-1 суттєво послаблювало оксидативний стрес, який індукований ЛПС, і сприяло посиленню системи антиоксидантного захисту мишей.

Обговорення

Введення ЛПС лабораторним тваринам – поширена апробована модель як системного, так і органного імуніндукованого запалення, однак різні види та лінії лабораторних тварин, а також особливості препаратів ЛПС *E. coli* різних серотипів зумовлюють вираженість реакції на ендотоксин. На тлі названих системних змін (маси, температури та лейкограми крові) відбувалося порушення функцій органів, зокрема печінки.

Маркером ушкодження клітин та оксидативного стресу, зокрема за умов генералізованої імунізапальної відповіді, вважають надлишкове утворення вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-РП, більшість із них становить малоновий діальдегід – МДА). Крім того, МДА є мутагеном і має виражену цитотоксичність, що спричиняє зміни у структурі клітинної мембрани і може призводити до її розриву [2]. Очевидно, що високий рівень ПОЛ, зумовлений введенням ЛПС мишам, є одним із механізмів, який призводить до виснаження антиоксидантної системи та може викликати нову хвилю ушкодження печінки.

Встановили, що захист тканин, органів від агресивної дії вільних радикалів і продуктів їх діяльності забезпечується дією антиоксидантної системи. Деструктивному впливу ПОЛ протистоїть внутрішньоклітинна антиоксидантна система, яка включає антиокислювальні ферменти, наприклад, відновлений глутатіон. ВГл – головний фактор підтримання внутрішньоклітинного редокс-гомеостазу, безпосередньо інактивує АФК, а також бере участь у регуляції активності ензимів і підтримці функцій мембран [2, 17]. ЦП – головний позаклітинний антиоксидант, інгібує перекисне окиснення ліпідів шляхом перехоплення та інактивації супероксидного радикала, має потужну протизапальну дію, здійснює транспорт міді тощо [2, 17].

Виражена протективна дія інгібіторів ПАРП-1, яку виявили, свідчить про можливість їхнього терапевтичного застосування за умов ендотоксемії. Можна припустити кілька механізмів такої дії. За даними, які отримали раніше, блокатор ПАРП-1 запобігає надмірній активації клітин-ефекторів запалення [18]. Активовані нейтрофіли й макрофаги генерують велику кількість АФК, які за недостатнього антиоксидантного захисту спричиняють оксидативний стрес. Інші механізми протективної дії інгібіторів ПАРП при ендотоксемії, котрі потребують продовження досліджень, можуть бути пов'язані з їхніми прямими антиоксидантними властивостями, протизапальними ефектами через модуляцію експресії прозапальних генів, що опосередкована NF- κ B та іншими транскрипційними факторами, а також пов'язані зі здатністю послаблювати некротичну загибель клітин [10, 11].

Висновки

1. Введення ЛПС через 24 години призводило до підвищення вмісту ТБК-РП у печінці мишей і до зменшення вмісту ВГл, ЦП, що вказує на порушення рівноваги між процесами ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в бік ПОЛ. Індукований ЛПС оксидативний стрес у поєднанні з послабленням ан-

тиоксидантного захисту може бути одним із механізмів посилення, підтримки надалі запалення в печінці.

2. Застосування 4-ГК на тлі ЛПС мало модульовальний вплив на проокисно-антиоксидантний гомеостаз у печінці, про що свідчить значуще зменшення ПОЛ у тканині й збільшення вмісту ВГл і ЦП.

3. Результати, що отримали на моделі ендотоксемії, показали позитивний вплив 4-ГК, який перешкоджає розвитку оксидативного стресу й забезпечує поліпшення антиоксидантного захисту організму мишей, що свідчить про перспективність застосування інгібіторів ПАРП-1 під час хвороб, які індуковані ЛПС.

Перспективи подальших досліджень. Перспективний напрям – пошук багатofункціональних антиоксидантів, що поєднують антиоксидантну та інші функціональні властивості. Такими багатofункціональними засобами є інгібітори ПАРП, які послаблюють оксидативний стрес, а також зменшують запальні процеси, надмірну активацію клітин-ефекторів запалення та некротичну загибель. Перспективність їхнього застосування потребує продовження дослідження за різних патологічних умов.

Фінансування

Робота виконана коштом бюджетної програми «Підтримка розвитку пріоритетних напрямів наукових досліджень» (КПКВК 6541230).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 14.08.2019

Після доопрацювання / Revised: 22.10.2019

Прийнято до друку / Accepted: 05.11.2019

Відомості про авторів:

Грушка Н. Г., канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу імунофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ.

Кондрацька О. А., канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу імунофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ.

Павлович С. І., канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу імунофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ.

Пилькевич Н. О., інженер відділу імунофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ.

Янчій Р. І., д-р біол. наук, професор, зав. відділу імунофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ.

Сведения об авторах:

Грушка Н. Г., канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела иммунофизиологии, Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев.

Кондрацкая Е. А., канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела иммунофизиологии, Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев.

Павлович С. И., канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела иммунофизиологии, Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев.

Пилькевич Н. А., инженер отдела иммунофизиологии, Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев.

Янчий Р. И., д-р биол. наук, профессор, зав. отделом иммунофизиологии, Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев.

Information about authors:

Hrushka N. H., PhD, Senior Researcher of the Department of Immunophysiology, O. O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.
 Pavlovych S. I., PhD, Senior Researcher of the Department of Immunophysiology, O. O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.
 Kondratska O. A., PhD, Senior Researcher of the Department of Immunophysiology, O. O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.
 Pilkevych N. O., Engineer of the Department of Immunophysiology, O. O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.
 Yanchii R. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Immunophysiology, O. O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.

Список літератури

- [1] Sinha N., Dabla P. K. Oxidative Stress and Antioxidants in Hypertension-A Current Review. *Current Hypertension Reviews*, 2015. Vol. 11, Iss. 2. P. 132-142. <https://doi.org/10.2174/157340211666150529130922>
- [2] Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини / О. Г. Резніков, О. М. Полумбрик, Я. Г. Бальон, М. О. Полумбрик. *Вісник Національної академії наук України*. 2014. № 10. С. 17-29.
- [3] Melatonin Stimulates the SIRT1/Nrf2 Signaling Pathway Counteracting Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Oxidative Stress to Rescue Postnatal Rat Brain / S. A. Shah et al. *Cns Neuroscience & Therapeutics*. 2017. Vol. 23, Iss. 1. P. 33-44. <https://doi.org/10.1111/cns.12588>
- [4] Multiorgan Development of Oxidative and Nitrosative Stress in LPS-Induced Endotoxemia in C57Bl/6 Mice: DHE-Based In Vivo Approach / B. Proniewski et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7838406>
- [5] Changes in DNA integrity and gene expression in ovarian follicular cells of lipopolysaccharide-treated female mice / E. Shepel et al. *Pharmacological Reports*. 2018. Vol. 70, Iss. 6. P. 1146-1149. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.06.005>
- [6] Особливості дисбіотичних порушень у пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу та неалкогольною жировою хворобою печінки / К. О. Кондратюк та ін. *Сімейна медицина*. 2015. № 3. С. 181-185.
- [7] Metabolic endotoxaemia in childhood obesity / M. C. Varma et al. *BMC Obesity*. 2016. Vol. 3, Iss. 3. <https://doi.org/10.1186/s40608-016-0083-7>
- [8] Sakaguchi S., Furusawa S. Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. *Fems Immunology and Medical Microbiology*, 47(2), 167-177. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00072.x>
- [9] Биохимические маркеры оксидантного стресса при эндотоксическом поражении печени / А. А. Бабанин и др. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2012. № 1. С. 44-47.
- [10] Role of parp and protein poly-ADP-ribosylation process in regulation of cell functions / V. R. Drel, I. O. Shymanskyi, N. O. Sybirna, M. M. Veliky. *Ukrain 'Skiy Biokhimichnyi Zhurnal*. 2011. Vol. 83, Iss. 6. P. 5-34.
- [11] Bai P. Biology of Poly(ADP-Ribose) Polymerases: The Factotoms of Cell Maintenance. *Molecular Cell*. 2015. Vol. 58, Iss. 6. P. 947-958. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.01.034>
- [12] PARP inhibitor, olaparib ameliorates acute lung and kidney injury upon intratracheal administration of LPS in mice / K. Kapoor, E. Singla, B. Sahu, A. Naura. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2015. Vol. 400, Iss. 1-2. P. 153-162. <https://doi.org/10.1007/s11010-014-2271-4>
- [13] Edaravone abrogates LPS-induced behavioral anomalies, neuroinflammation and PARP-1 / C. S. Sriram et al. *Physiology & Behavior*. 2016. Vol. 154. P. 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.10.029>
- [14] PARP inhibition protects against alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis / P. Mukhopadhyay et al. *Journal of Hepatology*. 2017. Vol. 66, Iss. 3. P. 589-600. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.10.023>
- [15] Камышников В. С. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*. 3-е изд. Москва : МЕДпресс-Информ, 2009. 896 с.
- [16] Micro-method for the determination of glutathione in human blood / D. Giustarini et al. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 964, 191-194. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.02.018>
- [17] Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І. Ф. Беленічев та ін. *Современные проблемы токсикологии*. 2002. № 3. С. 24-29.
- [18] Функціональна активність клітин уродженого імунітету при інгібуванні полі(АДФ-рибозо)полімеразы за умов експериментальної імунотоксичної патології / В. О. Срібна, Н. Г. Грушка, Т. В. Мартинова, Н. В. Макогон. *Експериментальна та клінічна медицина*. 2016. № 2. С. 189-193.

Стан тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом протитуберкульозних препаратів

А. В. Левіч*^{A,B,C,D}, Н. О. Скороходова^{A,C,E}, Д. Г. Живиця^{A,E}, Ю. В. Просветов^{A,F}

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

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:

резистентний туберкульоз, протитуберкульозні препарати, побічні реакції, нейротоксичність, глутатіон.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 328–333

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188799

*E-mail: zmapo_38@gmail.com

Мета роботи – в експериментальному дослідженні визначити характер змін стану тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом комплексу протитуберкульозних препаратів для лікування хіміорезистентного туберкульозу, та можливості їхньої медикаментозної корекції, застосовуючи адеметіонін 1,4-бутандисульфат.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 30 щурах лінії Wistar, яких поділили на 3 групи: 10 – інтактна, 10 – контрольна (отримували протитуберкульозні препарати), 10 – основна (отримували протитуберкульозні препарати та адеметіонін як засіб корекції токсичної дії). Дослідили стан системи глутатіону та вміст гомоцистеїну, нітратіразину.

Результати. Експериментальна терапія адеметіоніном у щурів, які отримували протитуберкульозні препарати, сприяє зниженню інтенсивності хронічного оксидативного стресу в нервовій тканині. Під час введення гептралу встановили оптимальне співвідношення між рівнями відновлених та окислених тиольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тиол-дисульфідної системи та нейтралізацію продуктів вільнорадикального окислення. В умовах нітрозувального й оксидативного стресу вивчені засоби збільшують стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації. Отже, однією з ланок нейропротективного ефекту адеметіоніну стала його здатність стабілізувати тиол-дисульфідну рівновагу.

Висновки. У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, що отримували протитуберкульозні препарати, зареєстровано зниження активності глутатіон S-трансферази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази вдвічі, в 1,7 і 2,4 раза відповідно. В умовах терапії адеметіоніном визначили збільшення відновлених інтермедіатів тиол-дисульфідної системи – SH-групи в 1,7 раза, підвищення рівня відновленого глутатіону в 1,9 раза на тлі вірогідного зменшення вмісту його окисленої форми в 1,4 раза. Застосування адеметіоніну призводило й до зниження вмісту у тканинах мозку потенційно нейротоксичних сполук – нітротірозинову та гомоцистеїну в 1,4 та 1,5 раза, що збільшує стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації.

Ключевые слова:

резистентный туберкулез, противотуберкулезные препараты, побочные реакции, нейротоксичность, глутатион.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 328–333

Состояние тиол-дисульфидной системы у крыс с энцефалопатией, обусловленной влиянием противотуберкулезных препаратов

А. В. Левич, Н. О. Скороходова, Д. Г. Живица, Ю. В. Просветов

Цель работы – в экспериментальном исследовании определить характер изменений состояния тиол-дисульфидной системы крыс с энцефалопатией, обусловленной влиянием комплекса противотуберкулезных препаратов для лечения химиорезистентного туберкулеза, и возможности их медикаментозной коррекции с применением адеметионина 1,4-бутандисульфата.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 крысах линии Wistar которых поделили на 3 группы: 10 – интактная, 10 – контрольная (получавшие противотуберкулезные препараты), 10 – основная (которые получали противотуберкулезные препараты и адеметионин как средство коррекции токсического действия). Исследовано состояние системы глутатиона и содержание гомоцистеина и нитратіразину.

Результаты. Экспериментальная терапия адеметионином у крыс, получавших противотуберкулезные препараты, способствует снижению интенсивности хронического оксидативного стресса в нервной ткани. При введении адеметионина установлено оптимальное соотношение между уровнями восстановленных и окисленных тиольных групп, а также глутатиона, что свидетельствует об активной мобилизации тиолов-дисульфидных системы и нейтраллизации продуктов свободнорадикального окисления. В условиях нитрозирующего и оксидативного стресса изученные средства увеличивают устойчивость нервной ткани к явлениям интоксикации. Таким образом, одним из звеньев нейропротективного эффекта адеметионина стала его способность стабилизировать тиолов-дисульфидное равновесие.

Выводы. В функционировании глутатионзависимой ферментативной системы в тканях мозга крыс, получавших противотуберкулезные препараты, зарегистрировано снижение активности глутатіон S-трансферазы, глутатіонпероксидазы и глутатіонредуктазы в 2,0, 1,7 и 2,4 раза соответственно. В условиях терапии адеметионіном отмечено увеличение восстановленных промежуточных тиолов-дисульфидных системы – SH-группы в 1,7 раза, повышение уровня восстановленного глутатіона в 1,9 раза на фоне достоверного снижения содержания его окисленной формы в 1,4 раза. Применение адеметионина приводило к снижению содержания в тканях мозга потенциально нейротоксических соединений – нитротірозина и гомоцистеина в 1,4 и 1,5 раза, что увеличивает устойчивость нервной ткани к явлениям интоксикации.

Investigation of the thiol-disulfide system state of rats with encephalopathy caused by the effect of antituberculous drugs

A. V. Levich, N. O. Skorokhodova, D. H. Zhyvitsia, Yu. V. Prosvietov

Objective. To determine in an experimental study the nature of changes in the status of the thiol-disulfide system of rats with encephalopathy, due to the influence of complex of anti-tuberculosis drugs for the treatment of chemoresistant tuberculosis and the possibility of their drug correction with the use of ademetionine 1,4-butanedisulfonate.

Materials and methods. The study was conducted on 30 Wistar rats, which were divided into 3 groups: 10 – intact group, 10 – control group (treated with antituberculosis drugs) and 10 – main group (treated with antituberculosis drugs and ademetionine as means of correcting toxic effects). The state of the glutathione system and the content of homocysteine and nitrotyrosine were investigated.

Results. Experimental therapy with ademetionine in rats treated with antituberculosis drugs helps to reduce the intensity of chronic oxidative stress in nerve tissue. The introduction of ademetionine establishes the most optimal ratio between the levels of reduced and oxidized thiol groups, as well as glutathione, which indicates the active mobilization of the thiol-disulfide system and the neutralization of products of free-radical oxidation. Under the conditions of nitrosative and oxidative stress, the studied agents increase the resistance of nervous tissue to the manifestations of intoxication. Thus, one of the links of the neuroprotective effect of ademetionin was its ability to stabilize the thiol-disulfide equilibrium.

Conclusions. In the functioning of the glutathione-dependent enzymatic system in the tissues of the brain of rats treated with anti-tuberculosis drugs, there was decreased activity of glutathione s-transferase, glutathione peroxidase and glutathione reductase by 2.0, 1.7 and 2.4 times, respectively. Under the conditions of ademetionin therapy, there was increase by 1.7 times in the reduced intermediates of the thiol-disulfide system – SH-group, and an increase of the level of reduced glutathione by 1.9 times, against the background of a significant decrease in the content of its oxidized form – 1.4 times. The use of ademetionin also led to a decrease of the content of potentially neurotoxic compounds – nitrotyrosine and homocysteine by 1.4 and 1.5 times, respectively in the brain tissues, which increases the resistance of nervous tissue to the effects of intoxication.

Key words:
resistance
tuberculosis,
anti-tuberculosis
drugs, adverse
drug reactions,
neurotoxicity,
glutathione.

Pathologia
2019; 16 (3), 328–333

Однією з причин, що перешкоджає зниженню захворюваності на туберкульоз (ТБ) і досягненню цільових показників, передбачених глобальною стратегією ліквідації туберкульозу, є лікарська стійкість і мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) [8,9]. Етіотропна терапія МРТБ пов'язана з необхідністю застосування багатьох протитуберкульозних препаратів (ПТП) у схемі (5–8 препаратів), кожен із них окремо має різну токсичність [4,9,16]. Однак комбіноване призначення такої кількості ПТП може суттєво збільшити частоту та тяжкість токсичних побічних реакцій (ПР) антимікобактеріальної терапії, взаємно потенціюючи токсичність кожного окремого препарату [4,13,16]. Побічні реакції хіміотерапії є одним із предикторів неефективного лікування, чинниками, які знижують якість життя пацієнтів, формують негативний імідж терапії і, як наслідок, призводять до некомплаєнтності хворих [3,4,9,13]. Серед ПР особливої уваги заслуговує дослідження гепатотоксичної, нейротоксичної дії ПТП, структура та механізми виникнення, а також можливості корекції якої залишаються недостатньо вивченими [3,4,10,14,16–18]. Відомо, що глутатіонова ланка тиол-дисульфідної системи головного мозку – вкрай важливий компонент антиоксидантного захисту та відіграє важливу роль у механізмах ендогенної нейропротекції [1,2,11,12,15].

Перспективним засобом корекції нейротоксичної дії можна вважати адеметіонін 1,4-бутандисульфонат (адеметіонін), який відіграє провідну роль у проміжному метаболізмі таких важливих сполук, як холін, цистеїн, таурин, глутатіон, коензим-А тощо, виявляючи в такий спосіб антиоксидантні властивості з універсальними протективними можливостями [1,2,7,10,11,15]. Такі цитопротекторні, антихолестатичні, детоксикаційні властивості препарату адеметіонін можуть бути використані в терапії лікарськоіндукованих захворювань

печінки і для поліпшення функцій центральної нервової системи (ЦНС) в умовах енцефалопатії різного генезу [1,2,8,9,15,19,20]. Застосування адеметіоніну як універсального засобу корекції токсичних побічних реакцій ПТП раніше не вивчали.

Мета роботи

В експериментальному дослідженні визначити характер змін стану тиол-дисульфідної системи щурів з енцефалопатією, що зумовлена впливом комплексу протитуберкульозних препаратів для лікування хіміорезистентного туберкульозу, та можливості їхньої медикаментозної корекції, застосовуючи адеметіонін 1,4-бутандисульфонат.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту та Ради ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, що використовуються для наукових цілей, а також до національних «Спільних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) і вказівок, що викладені в «Основні засади вивчення токсичності потенційних фармакологічних препаратів» (ДФЦ України, К., 2000). Експеримент схвалений комісією з біоетики ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Дослідження виконали на 30 щурах лінії Wistar віком 6 місяців масою 220–290 г. Тварини перебували у стандартних умовах віварію (12-годинний світловий цикл, температура 22 °С).

Тварин поділили на 3 групи:

1) 10 тварин, яким здійснювали внутрішньощункове зондове введення 1 % крохмального слизу

(розчинник) в об'ємі 5 мл і внутрішньом'язове введення ізотонічного розчину хлориду натрію, – інтактна група (ІГ);

2) 10 тварин, яким виконували внутрішньошлункове зондове введення ПТП – піразинамід, 300 мг/кг; етіонамід, 150 мг/кг; циклосерин, 150 мг/кг; левофлоксацин, 200 мг/кг; і канаміцин, 200 мг/кг – внутрішньом'язово (контрольна група – КР).

3) 10 тварин, які на тлі введення ПТП в аналогічних дозах отримували паралельним курсом адеметіонін у дозі 250 мг/кг внутрішньошлунково (основна група – ОГ).

Пероральні препарати вводили на 1 % крохмальному слизі в об'ємі 5 мл. Введення здійснювали 1 раз на добу о 10:00 в умовах віварію протягом 90 днів.

Після завершення експерименту тварин виводили з експерименту через 2–4 хв після ін'єкції тіопенталу натрію (40 мг/кг) (до втрати рефлексу випрямлення) для мінімізації нейрометаболічних зрушень. З головного мозку швидко видаляли кров, досліджувані шматочки відокремлювали від мозкової оболонки та поміщали в рідкий азот. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану та гомогенізували в 10-разовому об'ємі середовища при 2 °С, що містило (у ммоль): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА – 1 (рН 7,4) [17]. При температурі +4 °С методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (ФРН) виділяли мітохондріальну фракцію. Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо здійснювали центрифугування протягом 7 хв при 1000 g, а потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хв при 17000 g. Супернатант зливали і зберігали при -80 °С. Осад мітохондрій ресуспендували в середовищі виділення, що містить бичачий сироватковий альбумін (0,5 мг/мл), і знову осаджували протягом 10 хвилин при 17000 g. Мітохондрії суспендували в середовищі виділення, суспензія містила 40–60 мг білка/мл. Для оцінювання стану глутатіонової системи визначали вміст відновленого й окисленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, а для визначення інтенсивності нітروزувального стресу визначали рівень нітритрозину. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за реакцією з о-фталевим ангідридом і флуорометричною реєстрацією флуоресцентного комплексу [1,12]. Окислений глутатіон (GSSG) визначали аналогічно, попередньо відновивши його внесенням в інкубаційне середовище НАДФН і глутатіонредуктази [1,12]. Для маскування відновленого глутатіону, що містився в цих пробах, вносили 1-метил-4-вініл-піридин. Активність глутатіонпероксидази (ГПП) визначали за зменшенням відновленого глутатіону в реакції розкладу гідропероксиду третбутилу [1,2,12]. Залишок відновленого глутатіону визначали спектрофотометрично за реакцією з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислотою. Активність глутатіонредуктази (ГР) визначали спектрофотометрично за швидкістю окиснення НАДФН у реакції відновлення окисленого глутатіону [1,2]. Гомоцистеїн визначали ензиматичним методом, принцип якого полягав у тому, що зв'язаний або деміризований гомоцистеїн відновлюють до віль-

ного гомоцистеїну, який реагує з серином, у результаті чого утворюється L-цистатіонін. Реакція каталізується цистіонін-β-синтазою (Ц-β-С). L-цистатіонін розщеплюється з утворенням гомоцистеїну, пірувату та аміаку. Реакція каталізується цистатіонін-β-ліазою. Надалі піруват під дією лактатдегідрогенази перетворюється в лактат, коферментом у цій реакції є NADH. Відношення NADH до NAD⁺ прямо пропорційне концентрації гомоцистеїну. Розрахунок за калібрувальною кривою (нкмоль/л). Вміст цистеїну та метіоніну встановлювали методом хроматографії на тонкому шарі сорбенту, з наступною елюацією та спектрофотометрією [1,2,12].

Нітритрозин визначали в цитозольних фракціях гомогенату серця твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Hycult Biotech і наводили у нм/г тканини [1,2,12].

Результати дослідження розраховували з застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також SPSS 16.0, Microsoft Office Excel 2003. Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Шапіро–Уїлка. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стюдента при нормальному розподілі. У випадку розподілу, що відрізнявся від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U-критерій Манна–Уїтні. Для порівняння незалежних змінних у більш ніж 2 вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Краскела–Уоліса для розподілу, що відрізняється від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ (95 %).

Результати

Результати досліджень вказують, що внутрішньошлункове зондове введення ПТП протягом 90 діб призводить до зміщення тіол-дисульфідної системи, – зменшення пулу її відновлених форм (табл. 1). Так, у КГ за цих умов визначили вірогідне зниження рівнів SH-груп і відновленого глутатіону в понад 2 рази порівняно з групою інтактних тварин, а також збільшення втричі SS-груп, в 1,9 раза – рівня окисленого глутатіону ($p < 0,05$). В ОГ на тлі використання адеметіоніну 1,4-бутандисульфенату (адеметіоніну) ці показники вірогідно не відрізнялися від результатів, які отримали в інтактній групі, але мали вірогідні відмінності з групою контролю (SH-групи в 1,7 раза та глутатіон відновлений в 1,9 раза більше, а SS-групи в 1,6 раза і глутатіон окислений в 1,4 раза менше, ніж у КГ).

У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, які отримували ПТП, зареєстровано зниження активності Г-S-T, ГПП і ГР у 2,0, 1,7 і 2,4 раза відповідно порівняно з групою інтактних тварин (табл. 2).

Показники ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у тварин ОГ вірогідно перевищували аналогічні показники у групі контролю (рівні ГР – у 1,9 раза, ГПП – в 1,5 раза, Г-ST – в 1,8 раза), але вірогідно не відрізнялися від таких в ІГ.

Таблиця 1. Стан тіол-дисульфідної системи в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	SH-групи, мкмоль/г тканини	SS-групи, мкмоль/г тканини	Глутатіон відновлений, мкмоль/г тканини	Глутатіон оксид, мкмоль/г тканини
ІГ (n = 10)	55,7 ± 4,1	3,8 ± 0,3	4,7 ± 0,34	0,031 ± 0,007
КГ (n = 10)	24,4 ± 1,8*	11,4 ± 1,2*	2,22 ± 0,11*	0,058 ± 0,003*
ОГ (n = 10)	42,1 ± 2,1	7,1 ± 0,31	4,14 ± 0,21	0,041 ± 0,002

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

Таблиця 2. Стан ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	ГР, мкмоль/мг білка/хв	ГПР, мкмоль/мг білка/хв	Г-S-T, мкмоль/мг білка/хв
ІГ (n = 10)	18,50 ± 1,54	63,2 ± 4,5	16,40 ± 1,55
КГ (n = 10)	7,80 ± 0,57*	37,2 ± 3,5*	8,10 ± 0,63*
ОГ (n = 10)	14,5 ± 0,8	55,5 ± 3,7	14,5 ± 1,2

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

Таблиця 3. Маркери оксидативного та нітрозувального стресу в головному мозку тварин на 91 добу експерименту

Групи тварин	Гомоцистеїн, мкмоль/г тканини	Цистеїн, мкмоль/г тканини	Метіонін, мкмоль/г тканини	Нітритрозин, нмоль/г тканини
ІГ (n = 10)	2,20 ± 0,15	3,22 ± 0,11	2,87 ± 0,12	10,7 ± 0,6
КГ (n = 10)	9,85 ± 0,70*	1,65 ± 0,08*	1,45 ± 0,09*	44,3 ± 3,2*
ОГ (n = 10)	6,80 ± 0,32	2,30 ± 0,11	2,73 ± 0,11	31,2 ± 1,4

*: p < 0,05 щодо інтактної групи.

У КГ виявили вірогідне підвищення рівня гомоцистеїну в 4,5 раза, нітритрозину в 4,1 раза (табл. 3).

В умовах експериментальної терапії адеметіоніну 1,4-бутандисульфидом визначили виражені зміни, які характеризувалися значущим збільшенням відновлених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи порівняно з КГ. Паралельно виявили підвищення рівня відновленого глутатіону на тлі вірогідного зниження вмісту його окисленої форми (p < 0,05). Застосування адеметіоніну призводило також до зниження вмісту у тканинах мозку потенційних нейротоксичних сполук – нітритрозину та гомоцистеїну в 1,4 і 1,5 раза відповідно (табл. 3).

Адеметіонін також підвищував активність ферментів тіол-дисульфідної системи щодо показників тварин КГ на 91 добу експерименту.

Відомо, що саме зміни з боку тіольної неферментативної та ферментативної ланки антиоксидантної системи, що виявляються у зниженні відновленої та підвищенні окисленої форми, є однією з ранніх ознак порушення захисту клітин при нейроінтоксикації ендегенного й екзогенного генезу [1,2,5,6,11,12,15,20].

Зниження рівня відновленого глутатіону у тканинах мозку, виявлене в щурів після застосування ПТП, може бути наслідком порушення його синтезу, що пов'язаний з порушенням тканинного дихання, зумовленого мітохондріальною активацією АФК. Це призводить до зменшення рівня АТФ, необхідного для синтезу глутатіону. Іншою причиною зменшення пулу внутрішньоклітинного глутатіону може бути дефіцит рівня цистеїну внаслідок його активного використання як антиоксиданту, що також показано в дослідженні (табл. 3).

Збільшення функціонування системи глутатіону, а також пов'язаних із його обміном антиоксидантних ферментів ГПР і ГР захищає мозок від АФК і цитотоксичних дериватів монооксиду азоту, певним чином дає змогу відновити рівновагу та поліпшити редокс-регуляцію.

Експериментальна терапія адеметіоніном у щурів, які отримували ПТП, сприяє зниженню інтенсивності хронічного оксидативного стресу в нервовій тканині. Вводячи гептрал, встановили оптимальне співвідношення між рівнями відновлених та окислених тіольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тіол-дисульфідної системи та нейтралізацію продуктів вільнорадикального окислення. Ймовірно, що в умовах нітрозувального й оксидативного стресу завдяки цим механізмам названі засоби збільшують стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації. Отже, однією з ланок нейропротективного ефекту адеметіоніну стала його здатність стабілізувати тіол-дисульфідну рівновагу. Так, найважливішим ефектом цього препарату в умовах хронічного введення ПТП стала нормалізація активності антиоксидантних ферментів, а отже гальмування окисної модифікації білка.

Обговорення

Негативний ефект окислювально-модифікованих білків у клітині пов'язаний із тим, що окислені білки можуть бути додатковим джерелом вільних радикалів і виснажувати запаси внутрішньоклітинних антиоксидантів – аскорбінової кислоти, глутатіону. Продукти вільнорадикального окиснення білків також опосередковують окислювальні пошкодження ДНК, призводять до зниження функції білків у ланцюгу переносників електронів, активності АТФази, вибірковості дії транспортних пор. Зміна редокс-потенціалу мітохондріальної мембрани може позначатися на дисфункції каскаду дихального ланцюга, порушуючи метаболізм у нейрональній клітині [1,2,6,12]. Адеметіонін, як попередник синтезу глутатіону, а також шляхом активації цистатіонін бета-синтази призводить до збільшення синтезу глутатіону [2,6,7,11,15,19]. Антиоксидантний механізм дії адеметіоніну також пов'язаний із позитивним впливом цього препарату на активність ГПР і глутатіон-S-трансферази [1,6,10,12,15,20]. Нещодавно

виявлено, що S-аденозилметіонін є ефекторною молекулою рибоперемікачів (елементів РНК, що контролюють експресію генів завдяки змінам вторинної структури, що індуковані метаболітами). Зв'язуючись із S-аденозилметіоніном, рибоперемікачі утворюють термінаційну структуру, що зупиняє транскрипцію, пригнічує синтез мРНК [11,12,15,19,20].

Оцінюючи результати, можна припустити: зниження вмісту нітритрозину зумовлене здатністю гептралу інактивувати цитотоксичні форми NO, можливо, утворюючи нітрозотіоли, а також унаслідок зниження експресії iNOS [1,2,12]. Встановили, що адеметіонін сприяє підвищенню відновлених сульфгідрильних груп у білках, що утворюють циклоспорин А-залежну мітохондріальну пору, тим самим зменшуючи формування мітохондріальної дисфункції [10,15].

Висновки

1. Внутрішньошлункове зондове введення протитуберкульозних препаратів протягом 90 днів призводило до зменшення пулу відновлених форм тіол-дисульфідної системи, відбувалося вірогідне зниження рівнів SH-груп і відновленого глутатіону більш ніж удвічі порівняно з групою інтактних тварин, а також збільшення у 3 рази SS-груп і в 1,9 раза рівня окисленого глутатіону ($p < 0,05$). У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи у тканинах мозку щурів, які отримували ПТП, зареєстровано зниження активності Г-S-T, ГПР і ГР у 2,0, в 1,7 і 2,4 раза відповідно порівняно з групою інтактних тварин.

2. В умовах експериментальної терапії адеметіонін 1,4-бутандисульфидом виявили зміни, що характеризуються значущим збільшенням відновлених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи порівняно з контрольною групою (SH-групи в 1,7 раза вище, а SS-групи в 1,6 раза нижче, ніж у КГ) ($p < 0,05$). Паралельно встановили підвищення рівня відновленого глутатіону на тлі вірогідного зниження вмісту його окисленої форми (глутатіон відновлений в 1,9 раза вище, а глутатіон окислений в 1,4 раза нижче, ніж у КГ) ($p < 0,05$).

3. На тлі застосування ПТП у тварин КГ встановили вірогідне підвищення рівня гомоцистеїну в 4,5 раза та нітритрозину в 4,1 раза. Однак застосування адеметіоніну призводило також до зниження вмісту у тканинах мозку потенційно нейротоксичних сполук – нітритрозину та гомоцистеїну в 1,4 і 1,5 раза відповідно, що в умовах нітрозуючого й оксидативного стресу збільшує стійкість нервової тканини до явищ інтоксикації.

Перспективи подальших досліджень. Токсичні ускладнення антимікобактеріальної терапії – важлива проблема на шляху подолання епідемії хіміорезистентного туберкульозу. Результати є експериментальним обґрунтуванням застосування адеметіоніну як нейропротективного засобу в п'ятикомпонентній терапії хіміорезистентного туберкульозу, що відкриває нові можливості оптимізації та підвищення ефективності лікування таких хворих і потребує продовження вивчення.

Фінансування

Робота виконана в рамках НДР ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» «Особливості лікування хворих на туберкульоз легень при виникненні токсичних побічних реакцій антимікобактеріальної терапії» (№ держреєстрації 0116U003803).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.09.2019

Після доопрацювання / Revised: 12.11.2019

Прийнято до друку / Accepted: 22.11.2019

Відомості про авторів:

Левіч А. В., асистент каф. фізіатрії і пульмонології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Скороходова Н. О., д-р мед. наук, доцент каф. фізіатрії і пульмонології, декан терапевтичного факультету, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Живиця Д. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

ORCID ID: 0000-0003-0248-0995.

Просветов Ю. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф.

фізіатрії і пульмонології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Сведения об авторах:

Левич А. В., ассистент каф. физиотриии и пульмонологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Скороходова Н. О., д-р мед. наук, доцент каф. физиотриии и пульмонологии, декан терапевтического факультета, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Живица Д. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Просветов Ю. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. физиотриии и пульмонологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Information about authors:

Levich A. V., MD, Assistant Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Skorokhodova N. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Dean of the Therapeutic Faculty, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Zhyvitsia D. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Prosvietov Yu. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Pulmonology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Список літератури

- [1] Беленичев И. Ф., Кучер Т. В. Депривация глутатионовой системы в цитозоле и митохондриях головного мозга крыс с хронической алкогольной интоксикацией: защитные эффекты тиольных антиоксидантов. Вісник проблем біології і медицини. 2016. Вип. 4, т. 1. С. 111-116.
- [2] Беленичев И. Ф., Горбачева С. В. Антиоксидантная модуляция нейрораптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений in vitro. Вісник проблем біології і медицини. 2015. Вип. 3, т. 1. С. 124-128.

- [3] Гепатотоксические реакции при лечении впервые выявленных больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / П. Ю. Абдуллаев, О. В. Комиссарова, Е. С. Чумакова и др. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2019. Т. 97, № 7. С. 21-27.
- [4] Иванова Д. А., Борисов С. Е. Спектр и факторы риска нежелательных побочных реакций при лечении впервые выявленных больных туберкулезом. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2017. Т. 95, № 6. С. 22-29. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29>
- [5] Место тиаприазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств / И. Ф. Беленичев, В. А. Визир, В. И. Мамчур, А. В. Курята. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 1. С. 118-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [6] Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная и др. Киев : Логос, 2015. 512 с.
- [7] «Роковая цепочка» и адеметионин / Н. Б. Губергриц, П. Г. Фоменко, О. А. Голубова и др. *Сучасна гастроентерологія*. 2014. № 4. С. 106-120.
- [8] Тодоріко Л. Д., Петренко В. І., Шевченко О. С. Перспективи подолання туберкульозу в Україні. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ інфекція*. 2016. № 1. С. 72-78.
- [9] Факторы неэффективного лечения у больных с мультирезистентным туберкулезом и туберкулезом с широкой лекарственной резистентностью / Н. А. Литвиненко, А. А. Варичкая, Н. В. Гранкина и др. *The Scientific Heritage*. 2017. № 10. С. 24-32.
- [10] Экспериментальное обоснование терапии сопровождения с применением адеметионина для снижения гепатотоксических реакций противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов, Т. А. Гуськова, Г. Г. Юшков и др. *Токсикологический вестник*. 2018. № 6. С. 12-21.
- [11] Aquilano K., Baldelli S., Ciriolo M. R. Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*. 2014. Vol. 5, Article 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- [12] The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbacheva, A. V. Demchenko, N. V. Bukhtiyarova. *Neurochemical Journal*. 2014. Vol. 8, Iss. 1. P. 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [13] Adverse drug reactions and treatment outcome analysis of DOTS-plus therapy of MDR-TB patients at district tuberculosis centre: A four year retrospective study / A. I. Dela, N. K. D. Tank, A. P. Singh et al. *Lung India*. 2017. Vol. 34, Iss. 6. P. 522-526. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.217569>
- [14] Reversible neurotoxicity of kanamycin on dorsal cochlear nucleus / G.-R. Fan, Z.-D. Yin, Y. Sun et al. *Brain Research*. 2013. Vol. 1502. P. 30-46. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.12.049>
- [15] Therapeutic benefits of the methyl donor S-adenosylmethionine on nerve injury-induced mechanical hypersensitivity and cognitive impairment in mice / S. Gregoire, M. Millecamps, L. Naso et al. *Pain*. 2017. Vol. 158, Iss. 5. P. 802-810. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000811>
- [16] Kass J. S., Shandera W. X. Nervous System Effects of Antituberculosis Therapy. *Cns Drugs*, 2010. Vol. 24, Iss. 8. P. 655-667. <https://doi.org/10.2165/11534340-000000000-00000>
- [17] Levofloxacin neurotoxicity and non-convulsive status epilepticus (NCSE): A case report / D. Mazzei, J. Accardo, A. Ferrari, A. Primavera. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2012. Vol. 114, Iss. 10. P. 1371-1373. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.03.029>
- [18] Neuroleptic malignant syndrome in cycloserine-induced psychosis / N. S. Sawant, N. S. Kate, S. S. Bhatankar, P. S. Kulkarni. *Indian Journal of Pharmacology*. 2015. Vol. 47, Iss. 3. P. 328-329. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157134>
- [19] Shea T. B. Effects of dietary supplementation with N-acetyl cysteine, acetyl-L-carnitine and S-adenosyl methionine on cognitive performance and aggression in normal mice and mice expressing human ApoE4. *Neuromolecular Medicine*. 2007. Vol. 9, Iss. 3. P. 264-269. <https://doi.org/10.1007/s12017-007-8005-y>
- [20] Zhang F., Lau S. S., Monks T. J. The Cytoprotective Effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS-Induced Cytotoxicity Is Independent of Its Ability to Enhance Glutathione Synthesis. *Toxicological Sciences*. 2011. Vol. 120, Iss. 1. P. 87-97. <https://doi.org/10.1093/toxsci/ikf364>
- [3] Abdullaev, R. Y., Komissarova, O. G., Chumakova, E. S., Odinets, V. S., & Ergeshov, A. E. (2019). Gepatotoksicheskie reaktzii pri lechenii vpervye vyavlennykh bol'nykh tuberkulezom legkikh s mnozhestvennoi lekarstvennoi ustoiichivost'yu vozбудitelya [Hepatotoxic reactions during treatment of newly diagnosed patients with pulmonary multiple drug resistant tuberculosis]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, 97(7), 21-27. [in Russian]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2019-97-7-21-27>
- [4] Ivanova, D. A., & Borisov, S. E. (2017). Spektr i faktory riska nezhe-latel'nykh pobochnykh reaktzii pri lechenii vpervye vyavlennykh bol'nykh tuberkulezom [Profile and risk factors of adverse reactions in new tuberculosis cases receiving treatment]. *Tuberkulez i bolezni legkikh*, 95(6), 22-29. [in Russian]. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-6-22-29>
- [5] Bielenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. Y., & Kuriata, O. V. (2019). Mesto tiotriazolina v galeree sovremennykh metabolitotropnykh lekarstvennykh sredstv [Place of tiotriazoline in the gallery of modern metabolitotropic medicines]. *Zaporozhye Medical Journal*, 21(1), 118-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [6] Belenichev, I. F., Chernii, V. I., Nagornaya, E. A., Pavlov, S. V., Buhtiyarova, N. V., Chernii, T. V., & Gorchakova, N. A. (2014). *Neiroprotektsiya i neiroplastichnost' [Neuroprotection and neuroplasticity]*. Kiev: Logos [in Russian].
- [7] Gubergric, N. B., Fomenko, P. G., Golubova, O. A., Lukashevich, G. M., Belyaeva, N. V., & Agibalov, A. N. (2014). «Rokovaya cepochka» i ademetonin [«Fatal chain» and ademetonine]. *Suchasna gastroenterolohiya*, 4, 106-120. [in Russian].
- [8] Todoriko L. D., Petrenko V. I., & Shevchenko O. S. (2016). Perspektivy podolannya tuberkulozu v Ukraini. [Prospects for overcoming tuberculosis in Ukraine]. *Tuberkulioz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiya*, 1, 72-78. [in Ukrainian].
- [9] Lytvynenko, N. A., Varytska, H. A., Grankina, N. V., Chobotar, O. P., & Senko, Yu. O. (2017). Faktory neeffektivnogo lecheniya u bol'nykh s mul'tirezistentnym tuberkulezom i tuberkulezom s shirokoi lekarstvennoi rezistentnost'yu [Factors of unfavorable treatment outcomes in patients with multidrug resistant tuberculosis and extensively drug resistant tuberculosis]. *The scientific heritage*, 10, 24-32. [in Russian].
- [10] Usov, K. I., Gus'kova, T. A., Jushkov, G. G., Grishina, L. P., & Gushchin, A. S. (2018). Eksperimental'noe obosnovanie terapii soprovozhdeniya s primeneniem ademetonina dlya snizheniya gepatotoksicheskikh reaktzii protivotuberkuleznykh preparatov [Experimental justification of supportive therapy with ademetonine for the reduction of hepatotoxic reactions to antituberculosis drugs]. *Toksikologicheskii vestnik*, 6, 12-21. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2018-6-12-21>
- [11] Aquilano, K., Baldelli, S., & Ciriolo, M. R. (2014). Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant. *Frontiers in Pharmacology*, 5, Article 196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00196>
- [12] Belenichev, I. F., Gorbacheva, S. V., Demchenko, A. V., & Bukhtiyarova, N. V. (2014). The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs. *Neurochemical Journal*, 8(1), 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [13] Dela, A. I., Tank, N. K. D., Singh, A. P., & Piparva, K. G. (2017). Adverse drug reactions and treatment outcome analysis of DOTS-plus therapy of MDR-TB patients at district tuberculosis centre: A four year retrospective study. *Lung India*, 34(6), 522-526. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.217569>
- [14] Fan, G.-R., Yin, Z.-D., Sun, Y., Chen, S., Zhang, W.-J., Huang, X., Kong, W.-J., & Zhang, H.-L. (2013). Reversible neurotoxicity of kanamycin on dorsal cochlear nucleus. *Brain Research*, 1502, 30-46. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.12.049>
- [15] Gregoire, S., Millecamps, M., Naso, L., Do Carmo, S., Cuello, A. C., Szyf, M., & Stone, L. S. (2017). Therapeutic benefits of the methyl donor S-adenosylmethionine on nerve injury-induced mechanical hypersensitivity and cognitive impairment in mice. *Pain*, 158(5), 802-810. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000811>
- [16] Kass, J. S., & Shandera, W. X. (2010). Nervous System Effects of Antituberculosis Therapy. *Cns Drugs*, 24(8), 655-667. <https://doi.org/10.2165/11534340-000000000-00000>
- [17] Mazzei, D., Accardo, J., Ferrari, A., & Primavera, A. (2012). Levofloxacin neurotoxicity and non-convulsive status epilepticus (NCSE): A case report. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 114(10), 1371-1373. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.03.029>
- [18] Sawant, N. S., Kate, N. S., Bhatankar, S. S., & Kulkarni, P. S. (2015). Neuroleptic malignant syndrome in cycloserine-induced psychosis. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(3), 328-329. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157134>
- [19] Shea, T. B. (2007). Effects of dietary supplementation with N-acetyl cysteine, acetyl-L-carnitine and S-adenosyl methionine on cognitive performance and aggression in normal mice and mice expressing human ApoE4. *Neuromolecular Medicine*, 9(3), 264-269. <https://doi.org/10.1007/s12017-007-8005-y>
- [20] Zhang, F., Lau, S. S., & Monks, T. J. (2011). The Cytoprotective Effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS-Induced Cytotoxicity Is Independent of Its Ability to Enhance Glutathione Synthesis. *Toxicological Sciences*, 120(1), 87-97. <https://doi.org/10.1093/toxsci/ikf364>

References

- [1] Belenichev, I. F., & Kucher, T. V. (2016). Deprivatsiya glutationovoi sistemy v tsitozole i mitokhondriyakh golovnogo mozga kryz s khronicheskoi alkogol'noi intoksikatsiei: zashchitnye efekty tiol'nykh antioksidantov [The deprivation of glutathione system in the cytosol and mitochondria of rat brain with chronic alcohol intoxications: protective effects of thiol antioxidants]. *Visnyk problem biolohii i medytyny*, 4(1), 111-116. [in Russian].
- [2] Belenichev, I. F., & Gorbacheva, S. V. (2015). Antioksidantnaya modulatsiya neuroapoptoza v usloviyakh disbalansa tiol-disulfidnoi sistemy i nakopleniya oksilennykh promezhutochnykh soedinenii in vitro [Antioxidant Neuroapoptosis Modulation Unbalance in a Thiol-Disulfide System and the Accumulation of Oxidized Intermediates in vitro]. *Visnyk problem biolohii i medytyny*, 3(1), 24-28. [in Russian].

Intermittent hypobaric hypoxia and neuroendocrine reaction of the parvocellular neurons of the paraventricular hypothalamic nucleus

V. O. Shamenko^{B,C,D}, Ye. V. Kadzharian^{B,C,D}, A. V. Abramov^{*A,C,E,F}

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:

hypothalamus,
neuropeptides,
intermittent
hypobaric hypoxia,
adaptation.

Pathologia

2019; 16 (3), 334–338

DOI:

10.14739/2310-1237.
2019.3.188834

*E-mail:

abramov@zsmu.pp.ua

The neuroendocrine system occupies an important place in the systemic mechanisms of the body response to stress. The paraventricular nuclei of the hypothalamus (PVH) are one of the most important links of the brain's neuroendocrine system which determine the reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) in response to the various stressors and thereby ensure the development of adaptive reactions by the formation of body resistance to the stress.

The aim of the research was to study the functional state of the peptidergic neurons of the medial parvocellular nuclei of the paraventricular hypothalamic nucleus (PVHmp) during the multi-day action of intermittent hypobaric hypoxia and in the posthypoxic period.

Materials and methods. The research was conducted on 24 male Wistar rats. Intermittent hypoxia was modeled by a daily 6-hour stay of rats at an altitude of 6000 m ($pO_2 = 9.8\%$) for 15 days, the posthypoxic period lasted for 10 days. The distribution of corticotropin-releasing hormone (CRH), $[Arg^8]$ -vasopressin (AVP), β -endorphin, cFos and HIF-1 α proteins was studied by quantitative immunofluorescence methods in serial frontal sections of the hypothalamus.

Results. The intermittent hypobaric hypoxia stimulated the developing of mild hypertrophy of PVHmp neurons and increased the concentration of RNA in the cytoplasm by 37 %. An indicator of PVHmp neurons response to hypoxia was 2.5-fold increase in the concentration of the HIF-1 α protein in them. IHH elevated the concentration of cFos protein in PVHmp by 37 %, increased the area of immunoreactivity to AVP by 2.5 times, to CRH and β -endorphin by 3 times. There was an increase in the synthesis of neuropeptides in response to hypoxia, which led to the elevation in the concentration of AVP in PVHmp by 6.6 times, β -endorphin by 7 times, and CRH by 8.5 times. The immunoreactivity indicators for the HIF-1 α protein and its concentration in PVHmp remained at a high level in the posthypoxic period. At the same time, high immunoreactivity to CRH and β -endorphin in PVHmp was noted, as well as a high concentration of these neuropeptides in neurons against the background of AVP synthesis inhibition in neurons. It is possible that high rates of neurosecretory activity of PVHmp in the posthypoxic period may indicate the formation of neuroendocrine mechanisms of adaptation of the HPA axis to the long-term effect of hypoxia.

Conclusions. Intermittent hypobaric hypoxia stimulates the neurosecretory activity of the PVHmp neurons, increases the synthesis and secretion of CRH and AVP hormones that activate the HPA axis. Synthesis of the secretory response indicator cFos protein and a central regulator of hypoxic responses HIF-1 α protein is also increasing in the peptidergic neurons of the PVHmp. High levels of the PVHmp neurosecretory activity at the posthypoxic period are preserved and indicate the formation of neuroendocrine mechanisms of the HPA axis adaptation to the long term intermittent hypoxia exposures.

Ключові слова:

гіпоталамус,
нейрогормони,
переривчаста
гіпобарична
гіпоксія, адаптація.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). –
С. 334–338

Нейроендокринна реакція дрібноклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при переривчастій дії гіпобаричної гіпоксії

В. О. Шаменко, Є. В. Каджарян, А. В. Абрамов

Нейроендокринна система посідає важливе місце в системних механізмах відповіді організму на стрес. Паравентрикулярні ядра гіпоталамуса (PVH) визначають реактивність гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної осі у відповідь на дію стресора будь-якої природи та забезпечують розвиток адаптаційних реакцій і формування резистентності організму до стресу.

Мета роботи – вивчити особливості функціонального стану пептидергічних нейронів медіального дрібноклітинного суб'ядра паравентрикулярного ядра гіпоталамуса (PVHmp) при багатоденній дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії та в постгіпоксичний період.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 24 самцях шурів лінії Wistar. Переривчасту гіпоксію моделювали щоденним 6-годинним перебуванням шурів на висоті 6000 м ($pO_2 = 9,8\%$) протягом 15 днів, постгіпоксичний період тривав 10 днів. Розподіл кортикотропін-релізінг гормона (CRH), $[Arg^8]$ -вазопресина (AVP), β -ендорфіну, білків cFos та HIF-1 α досліджували методами кількісної імунофлуоресценції в серійних фронтальних зрізах гіпоталамуса.

Результати. Переривчаста гіпобарична гіпоксія стимулювала помірну гіпертрофію нейронів PVHmp і підвищувала концентрацію РНК у цитоплазмі на 37 %. Індикатором реакції нейронів PVHmp на гіпоксію було зростання в них концентрації білка HIF-1 α у 2,5 раза. Гіпоксичні впливи підвищували концентрацію білка cFos у PVHmp на 37 %, збільшували площу імунореактивності до AVP у 2,5 раза, до CRH і β -ендорфіну – втричі. Встановили посилення синтезу нейропептидів у відповідь на гіпоксію, що призводило до збільшення концентрації AVP у PVHmp у 6,6 раза, β -ендорфіну в 7 разів, CRH у 8,5 раза. У постгіпоксичний період зберігалися на високому рівні показники імунореактивності до білка HIF-1 α

і його концентрація в PVHmp. Встановили високі показники імунореактивності до CRH і β-ендорфіну в PVHmp, а також високу концентрацію цих нейропептидів у нейронах на тлі пригнічення синтезу AVP. Можливо, високі показники нейросекреторної активності PVHmp у постгіпоксичний період можуть свідчити про формування нейроендокринних механізмів адаптації гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної осі до тривалої дії гіпоксії.

Висновки. Переривчаста гіпобарична гіпоксія стимулює нейросекреторну активність нейронів PVHmp, збільшує синтез і секрецію гормонів CRH і AVP, що активують гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальну вісь. Синтез білків-індикаторів секреторної відповіді пептидергічних нейронів (білка cFos) і клітинної реакції на гіпоксію (білка HIF-1α) також наростає. Високі показники нейросекреторної активності PVHmp у постгіпоксичний період зберігаються і свідчать про формування нейроендокринних механізмів адаптації гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної осі до тривалої дії гіпоксії.

Нейроэндокринная реакция мелкоклеточных нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса при прерывистом действии гипобарической гипоксии

В. А. Шаменко, Е. В. Каджарян, А. В. Абрамов

Нейроэндокринная система занимает важное место в системных механизмах ответа организма на стресс. Паравентрикулярные ядра гипоталамуса (PVH) определяют реактивность гипоталамо-гипофизарно-аденокортикальной оси в ответ на действие стрессора любой природы и обеспечивают тем самым развитие адаптационных реакций и формирование резистентности организма к стрессу.

Цель работы – изучить особенности функционального состояния пептидергических нейронов медиального мелкоклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (PVHmp) при многодневном действии прерывистой гипобарической гипоксии и в постгипоксический период.

Материалы и методы. Исследование проведено на 24 самцах крыс линии Wistar. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс на высоте 6000 м ($pO_2 = 9,8\%$) в течение 15 дней, постгипоксический период длился 10 дней. Распределение кортикотропин-релизинг гормона (CRH), [Arg⁸]-вазопрессина (AVP), β-ендорфина, белков cFos и HIF-1α исследовали методами количественной иммунофлуоресценции в серийных фронтальных срезах гипоталамуса.

Результаты. Прерывистая гипобарическая гипоксия стимулировала умеренную гипертрофию нейронов PVHmp и повышала концентрацию РНК в цитоплазме на 37%. Индикатором реакции нейронов PVHmp на гипоксию было нарастание в них концентрации белка HIF-1α в 2,5 раза. Прерывистая гипоксия повышала концентрацию белка cFos в PVHmp на 37%, увеличивала площадь иммунореактивности к AVP в 2,5 раза, а к CRH и β-endorphin – в 3 раза. Отмечено усиление синтеза нейропептидов в ответ на гипоксию, что приводило к нарастанию концентрации AVP в PVHmp в 6,6 раза, β-ендорфина в 7 раз, CRH в 8,5 раза. В постгипоксический период на высоком уровне сохранялись показатели иммунореактивности к белку HIF-1α и его концентрация в PVHmp. Отмечены высокие показатели иммунореактивности к CRH и β-ендорфину в PVHmp, а также высокая концентрация этих нейропептидов в нейронах на фоне угнетения синтеза AVP. Возможно, высокие показатели нейросекреторной активности PVHmp в постгипоксический период могут свидетельствовать о формировании нейроэндокринных механизмов адаптации гипоталамо-гипофизарно-аденокортикальной оси к длительному действию гипоксии.

Выводы. Прерывистая гипобарическая гипоксия стимулирует нейросекреторную активность нейронов PVHmp, увеличивает синтез и секрецию гормонов CRH и AVP, активирующих гипоталамо-гипофизарно-аденокортикальную ось. Синтез белков-индикаторов секреторного ответа пептидергических нейронов (белка cFos) и клеточной реакции на гипоксию (белка HIF-1α) также нарастает. Высокие показатели нейросекреторной активности PVHmp в постгипоксический период сохраняются и свидетельствуют о формировании нейроэндокринных механизмов адаптации гипоталамо-гипофизарно-аденокортикальной оси к длительному действию гипоксии.

Ключевые слова: гипоталамус, нейрогормоны, прерывистая гипобарическая гипоксия, адаптация.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 334–338

The brain is the central organ of the body adaptation to various social and physical stressors, because it determines the strategy of neurophysiological, neuroendocrine and behavioral reactions, which can be either destructive or protective for the organism in conditions of acute or chronic stress. Brain reactions are associated not only with the stimulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) and the autonomic nervous system, but also with the regulatory effects of these systems on the metabolism and the activity of pro- and anti-inflammatory components of the immune system [1,2]. The paraventricular nuclei of the hypothalamus (PVH) are one of the most important links of the brain neuroendocrine system they determine the reactivity of the HPA axis in response to the various stressors and thereby ensure the development of adaptive reactions by the formation of body resistance to the stress [3,4]. The key mechanism of the HPA axis activation is

formed due to the secretion of corticotropin-releasing hormone (CRH) in the neurons of the medial parvocellular nuclei of the PVH (PVHmp) [5,6]. The concentration of ACTH and glucocorticoids in the blood increases because CRH triggers the cascade of the integrated neuroendocrine response of the adenohypophysis and adrenal cortex to stress [5,7]. A degree of glucocorticoid secretion elevation significantly defines the strength and specificity of stress action and the consequences of its influence on the organism [7,8]. The neurosecretory cells of PVHmp in addition to CRH synthesize [Arg⁸]-vasopressin (AVP), which has a stimulating and, together with CRH, permissive effects on the ACTH and corticosteroids synthesis [4,9,10]. Also these structures produce β-endorphin, which regulates the intensity of the neuroendocrine stress response [11].

The hypoxic hypoxia due to the nature of its action on the organism is considered to be a universal stressor. The

long-term dosed hypoxic effects cause a stable increase in the body overall resistance to many pathogens such as acute hypoxia, hypercapnia, hyperoxia, hypokinesia, ionizing radiation, physical activity [4,12,13]. The most effective way to increase the body resistance is to use the intermittent breathing regime with gas mixtures containing 14–16 % O₂ for humans and 8–11 % for laboratory rats [12,14]. Single studies carried out on rats showed that a single 2-hour (pO₂ = 10 %) [15], as well as a 3-week (6 hours, pO₂ = 9.8 %) [16,17] hypoxic hypoxia action led to the hypertrophy of peptidergic PVH neurons and to an increase in immunoreactivity to CRH, AVP and β -endorphin in the hypothalamus.

The aim

The aim of the work was to study the functional state of the peptidergic neurons of the medial parvocellular nuclei of the paraventricular hypothalamic nucleus (PVHmp) during the multi-day action of intermittent hypobaric hypoxia and in the posthypoxic period.

Materials and methods

Experimental animals. The study was carried out on adult male Wistar rats 220–250 g weight, which were divided into 3 groups of 8 animals in each: 1) intact animals (control), 2) animals with 15-day hypoxic training, 3) animals with 10-day rest after hypoxic training (post-hypoxic period). The animals were kept in standard vivarium conditions under natural light without restriction of access to water and food. The studies were conducted in accordance with the requirements of international principles of the European Convention (Strasbourg, 1985).

Simulation of intermittent hypobaric hypoxia. Intermittent hypobaric hypoxia (IHH) was modeled by daily 6-hour stay of rats in a ventilated pressure chamber (volume 1.0 m³): from the 1st to the 5th days the exposure's altitude was increased daily by 1000 m, in the next 10 days the animals were at the altitude of 6000 m (pO₂ = 75 mm Hg, that corresponds to the concentration of 9.8 % oxygen in air at normal atmospheric pressure).

Preparation for histology. All intact rats, and 24 h after last IHH for animals from 2nd experimental group, and 24 h after 10 days of post-hypoxic period for animals from 3rd experimental group were deeply anesthetized with thiopental sodium (50 mg/kg ip). The brains were immediately removed and placed in Carnoy's solution (3 brains from each experimental group, for histochemistry) or Bouin's solution (5 brains from each experimental group, for immunofluorescence) for 20 h at room temperature. The brains were poured into paraplast (McCormick, USA) after standard histological processing. Coronal slices of the brain 7 μ m for Carnoy's fixation and 14 μ m for Bouin's fixation through the hypothalamic PVN were cut on a rotary microtome Microm-325 (Microm Corp., Germany).

Histochemistry and morphometry. Serial histological slices were dewaxed with xylene and rehydrated with descending concentrations of ethanol. Then, slices were stained with halocyanin and chromium alum by the Einarson method during 48 h. The stained sections were washed in water, dehydrogenated with ascending concentrations of ethanol, xylem, and polymer medium

EUKITT (O. Kindler GmbH, Germany) embedded. The digital images of the PVHmp were taking using a CCD microscope camera COHU-4922 (COHU Inc., USA) and an Axioskop microscope (Carl Zeiss, Germany), and were converted to a gray scale (0-255). All images were analyzed using application-oriented image analysis system software VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik GmbH, Germany). More than 100 neurons were examined in each experimental group, and the following parameters were measured and calculated: the area of neurons (mcm²), and the RNA concentration (relative units of optical density – U_{OD}).

Immunofluorescence technique and quantitative analysis. Serial histological slices were dewaxed and unmasked in a citrate buffer solution (pH = 9.0) in the PT-module (Thermo Scientific, USA). CRH, AVP, β -endorphin, cFos, and HIF-1 α proteins in the PVHmp were detected by immunofluorescence method using antibodies produced by Santa Cruz Biotechnology (USA). Primary antibodies were incubated in dilution 1:100 (wet chamber, T = +4 °C, 24 hours), secondary antibodies conjugated with FITC were incubated in dilution 1:64 (wet chamber, T = +37 °C, 45 min). The slices were washed in phosphate buffer and then enclosed in a mixture of glycerin/phosphate buffer (9:1). Specificity of antibody binding was controlled in a similar way, except for incubation with primary antibodies. Immunofluorescence reaction was studied using the Axio-Imager-M2 fluorescence microscope (Carl Zeiss, Germany) with the 12-bit digital camera AxioCam-HRM (Carl Zeiss, Germany) and with the use of the high-emission 38HE filter (λ_{ex} = 470/40 nm, λ_{em} = 525/50 nm) (Carl Zeiss, Germany). Quantitative analysis of the immunofluorescence reaction was carried out using digital image analysis system software AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Germany). At least 4 hypothalamic regions with PVHmp were examined in each brain, and the following parameters were measured and calculated: the relative area of the immunopositive material (the percentage of the immunopositive material in the area of the PVHmp), and the concentration of proteins in endocrinocytes (the module of the logarithm of the background fluorescence to the fluorescence of immunopositive material ratio, expressed in relative units of fluorescence – U_F).

Statistics. The results are reported as mean \pm S.E.M. Experimental data were processed with the EXCEL 2003 (Microsoft Corp.) statistical analysis software package. The significance of the differences between the experimental groups was assessed using the Student's criterion t, considering the differences to be reliable at P < 0.05.

Results

The intermittent hypobaric hypoxia (IHH) stimulated the developing of mild hypertrophy of PVHmp neurons. These changes manifested by an increase in the neurons body area by 10 % as well as the concentration of RNA in the cytoplasm by 37 % (Table 1). It is known that normal parvocellular PVHmp neurons in rats have poor cytoplasm, less neurosecretory granules and low quantity of neuropeptides in the cytoplasm which can be seen during immunohistochemical reactions. Nevertheless, an increase in the area of the neuronal cytoplasm after IHH and the elevation in the RNA level may be the evidence of the enhanced functional and secretory activity of PVHmp. An indicator of the neurosecretory activity

Table 1. Indicators of the functional activity of the PVHmp neurons (M ± m)

Indicators (Markers)		Experimental groups of animals		
		Control	Intermittent hypobaric hypoxia	Post-hypoxic period
Area of neurons, mcm ²		88.71 ± 1.76	98.08 ± 1.97*	123.21 ± 2.45**
RNA	concentration, U _{OD}	4.50 ± 0.16	6.16 ± 0.33*	5.87 ± 0.28*
CRH	area of IRM, %	1.19 ± 0.21	3.56 ± 0.29*	1.88 ± 0.15**
	concentration, U _{IF}	0.46 ± 0.08	3.92 ± 0.33*	1.46 ± 0.15 **
AVP	area of IRM, %	22.71 ± 2.43	55.72 ± 1.58*	5.23 ± 0.19**
	concentration, U _{IF}	0.77 ± 0.07	5.13 ± 0.32*	0.47 ± 0.03**
β-endorphin	area of IRM, %	0.81 ± 0.12	2.51 ± 0.25*	1.74 ± 0.19**
	concentration, U _{IF}	0.35 ± 0.05	2.49 ± 0.26*	2.03 ± 0.16*
cFos	area of IRM, %	4.14 ± 0.32	4.63 ± 0.25	3.92 ± 0.26
	concentration, U _{IF}	1.83 ± 0.19	2.51 ± 0.11*	1.88 ± 0.21 #
HIF-1α	area of IRM, %	2.67 ± 0.10	4.24 ± 0.37*	4.55 ± 0.31*
	concentration, U _{IF}	0.20 ± 0.01	0.49 ± 0.03*	0.40 ± 0.03**

IRM: immunoreactive material, **U_{OD}:** units of optical density, **U_{IF}:** units of immunofluorescence, significance $P < 0.05$ of differences in comparison with control (*) and with rats after the finish of IHH (#).

of hypothalamic neurons is the cFos protein. Indeed, the IHH elevated the cFos protein concentration in PVHmp by 37 %, increased the area of immunoreactivity to AVP by 2.5 times as well as to CRH and β-endorphin by 3 times. The increasing of immunoreactivity indicated the neuropeptides synthesis enhancement and the elevation of the concentration of AVP in PVHmp by 6.6 times, β-endorphin by 7 times and CRH by 8.5 times in response to IHH.

We believe that the increasing of the neuroendocrine reaction of PVHmp neurons is directly caused by hypoxia and can be mediated by the *hif-1α* gene activation. Really, under the influence of IHH the area of immunoreactivity to HIF-1α in PVHmp was 60 % increased, as well as the concentration of HIF-1α protein was 2.5 times elevated. The data obtained indicate that IHH stimulates the neurosecretory activity of PVHmp neurons and leads to an increase in the synthesis and secretion of hormones that activate HPA.

It's an interesting fact that after a 10-day posthypoxic period, signs of mild hypertrophy of PVHmp neurons persisted. Moreover, the area of neurons increased by 25 % ($P < 0.05$) in comparison with the IHH end date. The immunoreactivity indices for the HIF-1α protein and its concentration in PVHmp remained at a high level against the background of the restoration of the concentration of the marker of the cFos protein neurosecretory activity (Table 1). Despite this, high immunoreactivity to CRH and β-endorphin remained in PVHmp, as well as a high concentration of these neuropeptides in neurons. At the same time, during the posthypoxic period, the area of AVP immunoreactivity was 4 times reduced, and the concentration of this neurohormone in PVHmp neurons was decreased by 40 % as compared with the control. It is possible that high rates of neurosecretory activity of PVHmp in the posthypoxic period may indicate the formation of neuroendocrine mechanisms of adaptation of the HPA axis to the long-term effect of hypoxia.

Discussion

Considering the mechanisms of the body adaptation to social and physical stressors, it should be understood that the brain is a key link in adaptation since it determines the specificity of the stressor, its intensity and potential threat to the organism. The brain stores in memory not only the fact of the stressor action, but also the sequence of physiological and beha-

viour responses to the stress as well as the effectiveness of the chosen response strategy, which can be either protective or destructive for the body. One of the common stressors the organism can be faced by is hypoxia. Even during embryogenesis hypoxia stimulates neurogenesis and is necessary for normal brain development, although intense hypoxia can lead to brain damage. [18]. In adults, periodic hypoxia is a concomitant pathogenic factor that accompanies many clinical diseases, such as sleep apnea, chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary fibrosis and nocturnal asthma [19]. At the same time, preconditioning and adaptation to hypoxia protects the brain from acute hypoxic damage [18] and also causes a persistent increase in the body overall resistance to many pathogens [4, 12, 13].

Among the varied brain structures involved in response strategy choice to the stress of diverse etiology, PVH seems to be the most important structure that regulates HPA activity through CRH secretion [1,2]. It has also been proven with respect to the role of PVH and HPA in adapting to long term hypoxia [20]. The physiological significance of HPA in adaptation mechanisms is determined by the key role of glucocorticoids, which can influence on neuronal plasticity using genomic and non-genomic effects [2,21]. Glucocorticoids can directly stimulate release of excitatory amino acids via membrane-associated receptors, and they can indirectly regulate both glutamate and GABA release through induction of local synthesis of endocannabinoids [22]. In addition, glucocorticoids can also regulate mitochondrial oxidation and free radical formation and membrane potential, and affect apoptosis via Bcl-2/Bax proteins [23]. Furthermore, CRH, which is synthesized in PVHmp, plays a key role in stress-induced hippocampal dendritic remodeling in the CA1 region [24].

Our studies convincingly demonstrate that IHH considerably elevates the neuroendocrine potential of PVH not only at the end of hypoxic trainings, but also retains it in the remote posthypoxic period. This preserves the increased functional level of HPA activity for a long time and reflects the formation of a stable systemic structural trace of adaptation to hypoxia.

Conclusions

1. Intermittent hypobaric hypoxia stimulates the neurosecretory activity of the PVHmp neurons, increases

the synthesis and secretion of CRH and AVP hormones that activate the HPA axis. Synthesis of the secretory response indicator cFos protein and a central regulator of hypoxic responses HIF-1 α protein is also increasing in the peptidergic neurons of the PVHmp.

2. High levels of the PVHmp neurosecretory activity at the posthypoxic period are preserved and indicate the formation of neuroendocrine mechanisms of the HPA axis adaptation to the long term intermittent hypoxia exposures.

Prospects for further research. Future studies will focus on the response of the neuroendocrine hypothalamus to hypoxia by such factors as hypoxia-induced factors 1 and 3, vascular endothelial growth factor, both pro- and anti-apoptotic stimulators of cell death.

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

Надійшла до редакції / Received: 01.10.2019
Після доопрацювання / Revised: 22.10.2019
Прийнято до друку / Accepted: 04.11.2019

Information about authors:

Shamenko V. O., MD, Assistant Professor of the Department of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. Kadzharjan Ye. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology of Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology of Zaporizhzhia State Medical University, Head of Scientific Medical-Laboratory Center of ZSMU, Ukraine.

Відомості про авторів:

Шаменко В. О., лікар вищої категорії, асистент каф. дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна. Каджарян Є. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Абрамов А. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, керівник Навчального медико-лабораторного центру, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Шаменко В. А., врач высшей категории, ассистент каф. детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Каджарян Е. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Абрамов А. В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, руководитель Учебного медико-лабораторного центра, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] McEwen, B. S. (2009). The brain is the central organ of stress and adaptation. *Neuroimage*, 47(3), 911-913. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.05.071>
- [2] McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1353-1363. <https://doi.org/10.1038/nn.4086>
- [3] Meerson, F. Z. (1981). *Adaptatsiya, stress i profilaktika [Adaptation, stress and prevention]*. Moscow: Nauka. [in Russian].
- [4] McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87(3), 873-904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2006>
- [5] Bonfiglio, J. J., Inda, C., Refojo, D., Holsboer, F., Arzt, E., & Silberstein, S. (2011). The Corticotropin-Releasing Hormone Network and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Molecular and Cellular Mechanisms Involved. *Neuroendocrinology*, 94(1), 12-20. <https://doi.org/10.1159/000328226>
- [6] Swanson, L. W., & Sawchenko, P. E. (1983). Hypothalamic integration – organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annual Review of Neuroscience*, 6, 269-324. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.001413>
- [7] Reznikov, A. G. (2007). Endokrinologicheskie aspekty stressa [Endocrinological Aspects of Stress]. *Mezhdunarodnyi endokrinologicheskii zhurnal*, (4), 20-24. [in Russian].
- [8] Busnardo, C., Tavares, R. F., Resstel, L. B. M., Elias, L. L. K., & Correa, F. M. A. (2010). Paraventricular nucleus modulates autonomic and neuroendocrine responses to acute restraint stress in rats. *Autonomic Neuroscience-Basic & Clinical*, 158(1-2), 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.06.003>
- [9] Volpi, S., Rabadan-Diehl, C., & Aguilera, G. (2004). Vasopressinergic regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis and stress adaptation. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress*, 7(2), 75-83. <https://doi.org/10.1080/10253890410001733535>
- [10] Sivukhina, E. V., & Jirikowski, G. F. (2016). Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Steroids*, 111, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.01.008>
- [11] Kovalitskaya, Y. A., & Navolotskaya, E. V. (2011). Nonopioid effect of beta-endorphin. *Biochemistry-Moscow*, 76(4), 379-393. <https://doi.org/10.1134/s0006297911040018>
- [12] Berezovskiy, V. A. (2012). *Tsvetok Gilgamesha. Prirodnaya i instrumental'naya oroterapiya : (ocherki o gorakh i ikh vliyani na organizm cheloveka) [Flower of Gilgamesh. Natural and instrumental orotherapy (essays of the mountains and their effects on the human body)]*. Donetsk: Publisher Zaslavsky A.Yu. [in Russian].
- [13] Karash, Yu. M., Strelkov, R. B., & Chizhov F. Ya. (1988). *Normobaricheskaya gipoksiya v lechenii, profilaktike i reabilitatsii [Intermittent Normobaric Hypoxia for Treatment, Prevention, and Rehabilitation Purposes]*. Moscow: Izdatelstvo Meditsina. [in Russian].
- [14] Xi, L., & Serebrovskaya, T. V. (2009). *Intermittent hypoxia: from molecular mechanisms to clinical applications*, 1st ed. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- [15] Coldren, K. M., Li, D. P., Kline, D. D., Hasser, E. M., & Heesch, C. M. (2017). Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 312(6), R982-R995. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00543.2016>
- [16] Kolesnik, Yu. M., Orestenko, Yu. N., & Abramov, A. V. (1993). Sostoyaniye vazopressin-, oksitocin- i kortikoliberinsinteziruyushchikh struktur gipotalamusa u krys s sakharnym diabetom pri gipoksicheskikh vozdeystviyakh [The state of vasopressin-, oxytocin- and corticobelin-synthesizing structures of the hypothalamus in diabetic rats with hypoxic effects]. *Fiziologicheskii zhurnal im. I. M. Sechenova*, 79(9), 34-42. [in Russian].
- [17] Abramov, A. V. (1998). Vliyaniye interval'nykh gipoksicheskikh trenirovok na funktsional'noe sostoyaniye peptidergicheskikh neuronov paraventricul'nogo yadra gipotalamusa i neuronov stvola mozga krys [The effect of interval hypoxic training on the functional state of the peptidergic neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus and rat brainstem neurons]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova*, 84(3), 173-181. [in Russian].
- [18] Basovich, S. N. (2013). Trends in the use of preconditioning to hypoxia for early prevention of future life diseases. *Bioscience Trends*, 7(1), 23-32. <https://doi.org/10.5582/bst.2013.v7.1.23>
- [19] Zhang, S. X. L., Wang, Y., & Gozal, D. (2012). Pathological Consequences of Intermittent Hypoxia in the Central Nervous System. *Comprehensive Physiology*, 2(3), 1767-1777. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100060>
- [20] Myers, D. A., & Ducsay, C. A. (2014). Altitude, Attitude and Adaptation. *Advances in Fetal and Neonatal Physiology*, 814, 147-157. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1031-1_13
- [21] Peters, A., McEwen, B. S., & Friston, K. (2017). Uncertainty and stress: Why it causes diseases and how it is mastered by the brain. *Progress in Neurobiology*, 156, 164-188. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.05.004>
- [22] Gray, J. M., Wilson, C. D., Lee, T. T. Y., Pittman, Q. J., Deussingh, J. M., Hillard, C. J., ... Hill, M. N. (2016). Sustained glucocorticoid exposure recruits cortico-limbic CRH signaling to modulate endocannabinoid function. *Psychoneuroendocrinology*, 66, 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.01.004>
- [23] Du, J., Wang, Y., Hunter, R., Wei, Y. L., Blumenthal, R., Falke, C., ... Manji, H. K. (2009). Dynamic regulation of mitochondrial function by glucocorticoids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(9), 3543-3548. <https://doi.org/10.1073/pnas.0812671106>
- [24] Chen, Y., Fenoglio, K. A., Dube, C. M., Grigoriadis, D. E., & Baram, T. Z. (2006). Cellular and molecular mechanisms of hippocampal activation by acute stress are age-dependent. *Molecular Psychiatry*, 11(11), 992-1002. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001863>

Clinical description of measles complications in adults in connection with changes in the functional state of the autonomic nervous system

Yu. Yu. Riabokon^{*A,C,E,F}, S. O. Bilokobyla^{B,C}, O. V. Riabokon^{A,D,E}

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 of the work – to analyze measles complications in adults depending on the severity of the course and to find out their relationship with the functional state of the autonomic nervous system.

Results. Clinical manifestations of measles in adults under present conditions retain typical signs, but the feature is the preservation of Filatov–Koplik sign in the period of rashes (77.1 %). In severe course of measles more often ($P < 0.01$), than with a moderate course, scleroconjunctivitis with eye irritation, hoarseness, hemorrhagic manifestations, nausea, vomiting is recorded, the period of fever is longer. In most adult patients, measles had a complicated course (70.5 %), with the spectrum of complications mainly represented by the damage of the respiratory system (61.4 %) and the gastrointestinal tract (43.8 %). The frequency of development of complications and their range clearly depended on the severity of the disease. Complications such as bronchitis ($P < 0.05$) and pneumonia ($P < 0.0001$) were more common in patients with severe course of measles. Some patients with a severe course of measles developed such complications as pulmonary edema and left lung atelectasis. The most severe complications from the respiratory organs arose in pregnant women. Gastrointestinal complications such as hepatitis and enteritis were recorded in 43.8 % of patients with measles, and the frequency of their development was also dependent on the severity of the disease ($P < 0.01$). The Mallory–Weiss syndrome was detected in one patient with a severe course of measles. Analysis of HRV indicators in adult patients with measles showed that in the presence of complications, the functional state of the ANS is characterized by a decrease in power in all regulatory units with the development of imbalance in the direction of sympathicotonia, compared with healthy people ($P < 0.01$). In patients with a complicated course of measles, indicators that characterize the total power of vegetative regulation, the parameter characterizing the humoral effects on the ANS (VLF), were lower ($P < 0.05$), and part of the sympathetic effects in the general spectrum of vegetative regulation is higher ($P < 0.05$) than in patients without complications of this infection.

Conclusions. Clinical manifestations of measles in adults under present conditions remain typical, but in most adult patients (70.5 %) measles has a complicated character. The complications from the respiratory system (61.4 %) and the gastrointestinal tract (43.8 %) are often recorded, the frequency and spectrum of which depend on the severity of the disease. Complications from the nervous system and the organs of vision develop in single adult patients with severe course of measles. Disorders of ANS functional state play a role in depending of measles complications in adults. In the presence of complications, the functional state of ANS is characterized by a decrease in power in all regulatory units with the development of imbalance in the direction of sympathicotonia.

Key words:

adult measles, complications, heart rate variability.

Pathologia

2019; 16 (3), 339–344

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188835

*E-mail:

RyabokonZSMU@gmail.com

Клінічна характеристика ускладнень кору в дорослих у взаємозв'язку зі змінами функціонального стану вегетативної нервової системи

Ю. Ю. Рябоконт, С. О. Білокобила, О. В. Рябоконт

Мета роботи – проаналізувати ускладнення кору в дорослих залежно від тяжкості перебігу та з'ясувати їхній взаємозв'язок із функціональним станом вегетативної нервової системи.

Результати. Клініка кору в дорослих у сучасних умовах зберігає типові ознаки, особливістю перебігу є збереження симптому Філатова–Копліка в період висипань (77,1 %). Під час тяжкого перебігу частіше ($p < 0,01$), ніж при середньотяжкому, реєструють склерокон'юнктивіт із різями в очах, осиплість голосу, геморагічні прояви, нудоту, блювоту, тривалішим є період гарячки. У більшості дорослих хворих кір мав ускладнений перебіг (70,5 %), спектр ускладнень представлений переважно ураженням органів дихальної системи (61,4 %) та шлунково-кишкового тракту (43,8 %). Частота розвитку ускладнень і їхній спектр чітко залежали від тяжкості перебігу захворювання. Ускладнення, як-от бронхіт ($p < 0,05$) та пневмонія ($p < 0,0001$), частіше виникали у хворих із тяжким перебігом кору. В окремих хворих із тяжким перебігом кору розвинулись такі ускладнення, як набряк легень та ателектаз лівої легені. Найтяжчі ускладнення з боку органів дихання виникли у вагітних. Ускладнення з боку шлунково-кишкового тракту, як-от гепатит та ентерит, зафіксовані в 43,8 % хворих на кір, а частота їхнього розвитку також залежала від тяжкості перебігу захворювання ($p < 0,01$). Синдром Меллорі–Вейса виявили в одного хворого з тяжким перебігом кору. Аналіз показників ВРС у дорослих хворих на кір показав, що за наявності ускладнень функціональний стан ВНС характеризується зниженням потужності в усіх ланках регуляції з розвитком дисбалансу в бік симпатикотонії порівняно зі здоровими ($p < 0,01$). У хворих з ускладненим перебігом кору показники, що характеризують загальну потужність вегетативної регуляції (SDNN, Total power), параметр, що характеризує гуморальні впливи на ВНС (VLF), виявилися нижче ($p < 0,05$), а частка симпатичних впливів у загальному спектрі вегетативної регуляції (LF norm) – вище ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів без ускладнень цієї інфекції.

Ключові слова:

кір у дорослих, ускладнення, варіабельність ритму серця.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). –

С. 339–344

Висновки. Клінічні прояви кору в дорослих нині зберігають типові ознаки, але в більшості дорослих хворих (70,5 %) кір має ускладнений характер. Найчастіше реєструють ускладнення з боку дихальної системи (61,4 %) та шлунково-кишкового тракту (43,8 %), частота та спектр яких залежить від тяжкості перебігу захворювання. Ускладнення з боку нервової системи та органів зору розвиваються в поодиноких хворих дорослих за умов важкого перебігу кору.

Порушення функціонального стану ВНС відіграють певну роль у формуванні ускладнень кору в дорослих. За наявності ускладнень функціональний стан ВНС характеризується зниженням потужності в усіх ланках регуляції з розвитком дисбалансу в бік симпатикотонії.

Ключевые слова: корь у взрослых, осложнения, вариабельность ритма сердца.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 339–344

Клиническая характеристика осложнений кори у взрослых во взаимосвязи с изменениями функционального состояния вегетативной нервной системы

Ю. Ю. Рябоконе, С. А. Белокобыла, Е. В. Рябоконе

Цель работы – проанализировать осложнения кори у взрослых в зависимости от тяжести течения и выяснить их взаимосвязь с функциональным состоянием вегетативной нервной системы.

Результаты. Клинические проявления кори у взрослых сохраняют типичные признаки, особенностью течения является сохранение симптома Филатова–Коплика в период высыпаний (77,1 %). При тяжелом течении кори чаще ($p < 0,01$), чем при среднетяжелом регистрировали склероконъюнктивит с резами в глазах, осиплость голоса, геморрагическую сыпь, тошноту, рвоту, более длительный лихорадочный период. У большинства взрослых корь протекала с осложнениями (70,5 %), спектр осложнений представлен преимущественно поражением органов дыхательной системы (61,4 %) и желудочно-кишечного тракта (43,8 %). Частота развития осложнений и их спектр зависели от тяжести течения заболевания. Бронхит ($p < 0,05$) и пневмония ($p < 0,0001$) чаще возникали у больных с тяжелым течением кори. У отдельных пациентов с тяжелым течением кори развились отек легких и ателектаз левого легкого. Наиболее тяжелые осложнения со стороны органов дыхания отмечены у беременных. Осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта, такие как гепатит и энтерит зафиксированы у 43,8 % больных корью, а частота их развития также зависела от тяжести течения заболевания ($p < 0,01$). Синдром Мэллори–Вейсса установлен у одного больного с тяжелым течением кори. Анализ показателей ВРС у взрослых больных корью показал, что при наличии осложнений функциональное состояние ВНС характеризуется снижением мощности во всех ветвях регуляции с развитием дисбаланса в сторону симпатикотонии по сравнению со здоровыми ($p < 0,01$). У больных с осложненным течением кори показатели, которые характеризуют общую мощность вегетативной регуляции (SDNN, Total power), параметр, характеризующий гуморальные влияния на ВНС (VLF), были ниже ($p < 0,05$), а доля симпатических влияний в спектре вегетативной регуляции (LF потт) выше ($p < 0,05$), чем у больных без осложнений.

Выводы. Клиника кори у взрослых сохраняет типичные признаки, однако у большинства пациентов (70,5 %) развиваются осложнения. Наиболее часто регистрируют осложнения со стороны дыхательной системы (61,4 %) и желудочно-кишечного тракта (43,8 %), частота и спектр которых зависят от тяжести течения заболевания. Осложнения со стороны нервной системы и органов зрения развиваются у единичных взрослых пациентов при тяжелом течении кори. Нарушения функционального состояния ВНС играют определенную роль в формировании осложнений кори у взрослых. При наличии осложнений функциональное состояние ВНС характеризуется снижением мощности во всех ветвях регуляции с развитием дисбаланса в сторону симпатикотонии.

Measles is a highly contagious viral infectious disease, which is guided by immune prophylaxis. In the early 2000s in the European Region, WHO set the goal of eliminating measles, that is, stopping the local circulation of the measles virus [1], but in 2017–2019 in Europe, particular in Ukraine, a significant increase in measles was noted. During the elimination period for the first time, measles ceased to be a childhood infection, and seasonal factors almost lost their impact on the internal dynamics of the epidemic process [2,3]. A significant increase in adult measles patients is due to the loss of protective antibodies after 10 years in most vaccinated ones, since only 36 % of vaccinated individuals have these antibodies more longer [4].

In the periods of increased morbidity of measles, a part of the serious and complicated course of the disease naturally increases. Many studies show the dependence of the risk of developing complications from the age of patients, while it is believed that children of the first year of life and older adults often have a complicated course of the disease [5,6]. A considerable number of modern studies indicate a certain prevalence of adults among measles patients in modern conditions, in particular in

Germany [7], Italy [8], and Belgium [6]. The pathogenetic mechanisms of the development of complications in patients with measles are being studied today. On the one hand, the risk of developing a complicated course of measles correlates with the degree of immunosuppression expressiveness that develops in patients with measles. However, on the other hand, the measles virus can paradoxically cause the induction of a strong virus-induced specific immunity, which in the future remains viable [9].

Today, the pathogenetic mechanisms that determine the peculiarities of the course of diseases and their consequences are intensively studied. Particular attention is paid to the assessment of the functional state of the autonomic nervous system (ANS), which plays an important role in the course of various diseases, and heart rate variability (HRV) is considered as a measure of energy reserves of regulatory systems, is an indicator of stress tolerance, the quality of compensatory and adaptation mechanisms, and resources for recovery [10,11]. It is believed that cardiac rhythm is an indicator of deviations in regulatory systems that outperform not only hemodynamic but also metabolic disturbances. Therefore, changes in HRV can be considered as an early prognostic sign of the develop-

ment of many pathological conditions, which enables us to assess the degree of adaptive capacity of the organism [12]. In recent years, a number of scientific studies have been published on the role of changes in the functional state of the ANS in infectious pathology [13,14], in particular in patients with measles [15], but the pathogenetic significance of these changes in the development of measles complications in adults remains unexplored.

Aim

Aim of the work – to analyze measles complications in adults depending on the severity of the course and to find out their relationship with the functional state of the autonomic nervous system.

Materials and methods

The study included 210 patients with measles aged 18 to 58 years old, with an average age of 28.8 [23.0; 37.5] years. There were 96 men and 114 women. All patients were treated in the department number 1 of the communal institution “Zaporizhzhia Regional Clinical Infectious Disease Hospital” of the Zaporizhzhia Regional Council from July 2017 to March 2019. Confirmation of measles diagnosis based on clinical, epidemiological and laboratory data with the determination of IgM immunoglobulins to measles virus was performed according to WHO criteria (2013) [16]. All patients underwent traditional clinical laboratory examinations and instrumental studies according to the indications. In the presence of changes in liver tests, serological tests were performed on the markers of viral hepatitis B and C. For the analysis of the frequency and range of complications of measles, depending on the severity of the disease, patients were divided into groups: 178 patients with moderate duration; 32 patients – with severe course of measles.

To evaluate the functional state of the ANS, a method of computer cardiointervalometry with the definition of HRV parameters was used. The research was conducted using the electrocardiographic diagnostic system CardioLab-2000 according to the standard method. The CardioLab-2000 program for recording, storing, analyzing and interpreting cardio heart rate parameters works in the Windows operating system environment and allows for a detailed spectral analysis of HRV characteristics in accordance with the protocol of the European Society of Cardiology Working Group and the North American Society for Cardiac Stimulation and Electrophysiology [17]. The study was conducted on 116 patients with measles and 30 healthy controls. For the analysis of the relationship between the functional state of the ANS with the development of complications, the patients were divided into groups: 78 patients with complicated course and 38 patients with uncomplicated flow of measles.

Statistical processing of the material was carried out using the software «Excel» (Microsoft, USA) and Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., JP-Z804I382130ARCN10-J). Descriptive statistics including median and interquartile range – Me [Q25; Q75] were calculated to express the variables, which were not normally distributed. 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 χ^2 was used between qualitative features. Spearman correlation was used to detect relationships between quantitative features, while Kendall correlation – between quantitative and ordinal values.

Results

According to the results of the research, it was found that clinical manifestations of measles in adults under present conditions retain typical signs. The presence of a prodromal period of 1 to 6 days, an average of 3.1 [2.0; 4.1] days, body temperature increase to 38.8 [38.0; 39.0] °C, cough, scleroconjunctivitis, presence of a maculopapular rash with merging of elements were characteristic. At the same time, a number of clinical signs are significantly more likely to be registered with a severe course of measles than with moderate. Thus, scleroconjunctivitis was accompanied by eye irritation in all the patients with severe course against 118 (66.3 %) patients ($\chi^2 = 12.7$, $P < 0.004$) with moderate course; hoarseness in 25 (78.1 %) versus 52 (29.2 %) patients ($\chi^2 = 23.3$, $P < 0.0001$); hemorrhagic manifestations – in 4 (12.5 %) versus 2 (1.1 %) patients ($\chi^2 = 9.7$, $P < 0.001$); nausea – in 12 (37.5 %) versus 14 (7.9 %) patients ($\chi^2 = 17.4$, $P < 0.001$); vomiting – in 10 (31.3 %) versus 9 (5.1 %) patients ($\chi^2 = 14.1$, $P < 0.001$); the duration of the fever was 9.0 [8.0; 11.0] versus 7.0 [5.0; 8.0] days ($P < 0.01$). A definite feature of measles in adults was the preservation of the Filatov–Koplik signs during the period of rash in 162 (77.1 %) patients.

In most adult patients, measles had a complicated flow (70.5 %), with the spectrum of complications mainly represented by the defeat of the respiratory system (61.4 %) and the gastrointestinal tract (43.8 %). The frequency of complications development and their range clearly depended on the severity of the disease. Such complications from the respiratory organs as bronchitis ($\chi^2 = 5.6$, $P < 0.05$) and pneumonia ($\chi^2 = 82.6$, $P < 0.0001$) were more common in patients with severe course of measles. Some patients with severe measles course developed such complications as pulmonary edema and left lung atelectasis (Table 1).

The most severe complications from the respiratory organs arose in two pregnant women. So, for a patient C., 30 years old, who was vaccinated against measles by schedule in childhood, the severe course of measles emerged on the background of a twin pregnancy with gestational age of 26 weeks and was characterized by the development of several complications. From the first days of rash there were clinical manifestations of enteritis, and on the 3rd day of rash against the background of bronchitis there were acute respiratory failure of the II degree, which appeared as a breath to 46 per minute and a decrease in oxygen saturation to 93 %. Pulmonary edema was confirmed by X-ray, on the background of the treatment with oxygen therapy in the mask mode in two days, it was possible to achieve a significant positive dynamics, and the complicated course of measles did not affect the course of pregnancy. In another 25-year-old patient who had not been vaccinated against measles

Table 1. Characteristics of spectrum and frequency of measles complications in adults, abs (%)

Indicator	Patients with measles (n = 210)	Patients with measles	
		moderate course (n = 178)	severe course (n = 32)
The presence of complications	148 (70.5 %)	116 (65.2 %)	32 (100 %)*
from the respiratory system organs:	129 (61.4 %)	97 (54.5 %)	32 (100 %)*
bronchitis	113 (53.8 %)	96 (53.9 %)	20 (62.5 %)*
pneumonia	16 (7.6 %)	1 (0.6 %)	15 (46.9 %)*
pulmonary edema	1 (0.5 %)		1 (3.1 %)
left lung atelectasis	1 (0.5 %)		1 (3.1 %)
from the gastrointestinal tract:	92 (43.8 %)	63 (35.4 %)	29 (90.6 %)*
hepatitis	89 (42.4 %)	63 (35.4 %)	26 (81.3 %)*
enteritis	19 (9.0 %)	7 (3.9 %)	12 (37.5 %)*
the Mallory–Weiss syndrome	1 (0.5 %)	–	1 (3.1 %)
from central nervous system:	2 (1.0 %)	–	2 (6.2 %)
serous meningitis	1 (0.5 %)		1 (3.1 %)
encephalopathy, cerebral edema	1 (0.5 %)		1 (3.1 %)
from the organs of vision:			
cyclitis	1 (0.5 %)	–	1 (3.1 %)

*: the difference is significant compared with patients with moderate course of measles ($P < 0.01$).

in childhood, measles was on the background of a first pregnancy of 29–30 weeks and the first identified chronic hepatitis C. At the end of the first day of rash there was a tachypnoe to 32 per minute while maintaining oxygen saturation 95 %, X-ray diagnosis of bilateral pneumonia. During the next 24 hours, the patient's condition rapidly deteriorated due to the progression of the signs of respiratory failure to grade III, namely, increased tachypnoe to 45–50 per minute, oxygen saturation decreased to 88 %, by X-ray detected signs of left lung atelectasis, clinical manifestations of toxic-hypoxic encephalopathy, in connection with which the patient was transferred to artificial ventilation of the lungs. On the fourth day of rash (the second day of artificial lungs ventilation), preterm labor began, which was conservative through natural birth canal, the baby was born alive. After delivery, control lung radiograph showed regression of left lung atelectasis while maintaining signs of pneumonia. After 6 days of artificial lung ventilation, the positive dynamics of the course of the disease and the radiological picture was recorded. For further treatment, the patient was transferred to the pulmonology department.

Complications from the gastrointestinal tract were recorded in almost half of the adult patients with measles, and the frequency of their development also depended on the severity of the course of the disease. Complications such as hepatitis ($\chi^2 = 6.9$, $P < 0.01$) and enteritis ($\chi^2 = 37.1$, $P < 0.001$) more often developed under severe illness. One patient for 29 years suffered from severe rash with hemorrhagic component, thrombocytopenia at the height of the disease to $70 \times 10^9/l$, the formation of several complications such as bronchitis, hepatitis, Mallory-Weiss syndrome, which arose on the 3rd day and was manifested by vomiting blood that required a fibro-gastroduodenoscopy for diagnostic purposes (Table 1). The development of hepatitis in adult patients with measles was characterized by biochemical changes in the functional state of the liver at the time of hospitalization in the absence of clinical manifestations of hepatitis. In all patients with measles, which was complicated by hepa-

titis, an increased activity of ALT in serum was detected, while the level of increase of this indicator depended on the severity of the course of measles. Thus, in patients with a moderate course of activity, the activity of ALAT in serum was 2.3 (1.6; 4.1) mmol/hour^l vs. 3.5 (2.7; 4.8) mmol/hour^l in patients with severe course ($P = 0.019$). The presence of a reverse correlation between the activity of ALT in serum and the blood platelet count ($r = -0.38$, $P < 0.05$) confirms the relationship between the development of hepatitis in adult patients with measles with the severity of the disease. The presence of cytolysis syndrome in almost half of patients was combined with biochemical features of intrahepatic cholestasis. If the level of alkaline phosphatase activity did not depend on the severity of the measles, the level of gamma-glutamyltranspeptidase activity was higher ($P = 0.0003$) with severe measles course than with a moderate course and amounted to 79.2 (56.3; 155.4) unit/l against 228.8 (116.8; 379.8) units/liter. The transient increase in the total bilirubin level to 26.0 and 39.7 micromole/l was recorded in two patients.

During the observation period, only one patient of 52 years reported a complication of measles from the nervous system, namely the development of serous meningitis on the 5th day of rash period with signs of cerebral edema. Eye lesions occurred in a patient of 33 years with a severe course of measles, accompanied by a combination of such complications as acute bronchitis, hepatitis, cyclitis (Table 1).

Analysis of HRV indices in adult patients with measles showed that in the presence of complications, the functional state of the ANS is characterized by a decrease in power in all regulatory units with the development of imbalance in the direction of sympathicotonia, compared with healthy people ($P < 0.01$). In addition, in patients with a complicated course of measles, indicators that characterize the total power of vegetative regulation (SDNN, Total power), the parameter characterizing the humoral effects on ANS (VLF) was lower ($P < 0.05$), and the part of sympathetic effects in the general spectrum of vegetative regulation (LF norm) is higher ($P < 0.05$) than in patients without complications of this infection. Sympathicotonia in patients with complicated flow of measles confirms an increase of 90 % ($P < 0.05$) of the vegetative balance index (LF/HF), compared with healthy people. Compared with patients with complicated course of disease, in patients without complications of measles, the index of vegetative balance did not differ ($P > 0.05$) from the indicator of healthy people, despite an increase ($P < 0.01$) of the part of sympathetic effects and a decrease in the parasympathetic effects in the general spectrum of vegetative regulation ($P < 0.01$), compared with healthy people. It should be noted that in the absence of complications in patients, the power of sympathetic (LF) and parasympathetic (HF) effects were lower ($P < 0.01$) than in healthy subjects, but the spectral parameter reflecting the total power of vegetative regulation (Total power), did not differ statistically ($P > 0.05$) from the indicator of healthy people (Table 2).

The revealed correlation connections confirm the clinical and pathogenetic role of functional changes of the ANS in the formation of measles complications in adults. According to the results of our study, patients with measles most often develop complications from

the respiratory organs, and the oxygen saturation index has a direct correlation with the parameters of ANS: SDNN ($r = 0.40$, $P < 0.05$), RMSSD ($r = 0.32$, $P < 0.05$), pNN50 ($r = 0.31$, $P < 0.05$), HRVT ($r = 0.30$, $P < 0.05$), Total power ($r = 0.40$, $P < 0.05$), VLF ($r = 0.39$, $P < 0.05$), LF ($r = 0.29$, $P < 0.05$), HF ($r = 0.28$, $P < 0.05$). Direct correlation was detected between platelet count and RMSSD ($r = 0.51$, $P < 0.01$). The inverse correlation with HRV parameters has hematological parameters that characterize the development of viral-bacterial complications, namely, the quantitative content of blood leukocytes with the HRVTi index ($r = 0.32$, $P < 0.05$), the share of band neutrophils with parameters SDNN ($r = -0.36$, $P < 0.05$), RMSSD ($r = -0.30$, $P < 0.05$), Total power ($r = -0.37$, $P < 0.05$), VLF ($r = -0.30$, $P < 0.05$), LF ($r = 0.34$, $P < 0.05$), HF ($r = 0.28$, $P < 0.05$). The correlation of the functional state of the ANS with the formation of hepatitis in adult patients with measles confirms the inverse correlation of pNN50 with gamma-glutamyltranspeptidase activity ($r = -0.36$, $P < 0.05$) and alkaline phosphatase ($r = -0.37$, $P < 0.05$).

Discussion

Data from modern literature indicate that the last epidemic increase in measles morbidity is characterized by prevalence of adult patients not only in European countries [6–8] but also in Asian countries [18]. There are many studies that show a higher incidence of comorbidity in adults, but data on the frequency of individual complications varies greatly [19,20]. It is believed that the most frequent complication is the development of pneumonia, but according to various authors, the frequency of pneumonia in adult patients with measles varies from 15.3 % [19] to 57.1 % [20]. According to the results of our study, the frequency of pneumonia in adult patients with measles was 7.6 %, but under severe conditions, this figure was 46.9 %. In our opinion, certain differences in this indicator in various studies are related to the peculiarities of indications for the hospitalization of patients with measles in different countries. According to the literature, hepatitis in children with measles is developing in isolated cases, and the rate of development of this complication among hospitalized children is 1.4 % [5], whereas in adults this complication is registered in 81 % of hospitalized patients [21]. The results of our research on the incidence of hepatitis show that this figure is 42.4 %, but in adults with severe illness it reaches 81.3 %. In analyzing the severity of the course of complications, in our opinion, the special attention should be paid to the course of measles in pregnant women. In our study, the extremely severe course of measles with the development of complications from the respiratory system in two pregnant women has been demonstrated, in one case, the pregnancy ended with preterm labor. About the severe course of measles in pregnant women and the adverse effects on the course of pregnancy are reported by other authors [6].

According to modern ideas of changes in vegetative regulation in any disease, it is possible to determine the nature of adaptive reactions, from which the peculiarities of the course of the disease, in particular the infectious, and its consequences depend to a large extent. On the other hand, any pathological process is ac-

Table 2. Comparison of HRV indices in adult measles patients depending on the presence of complications, Me [Q_{25} ; Q_{75}]

	Healthy people (n = 30)	Patients with measles (n = 116)	
		without complications (n = 38)	with complications (n = 78)
SDNN	53.4 [41.1; 63.9]	47.3 [36.3; 53.0]*	39.5 [25.8; 45.6]**
RMSSD	46.8 [33.2; 63.3]	38.9 [29.4; 41.7]	28.6 [18.9; 37.4]**
pNN50	22.1 [9.1; 39.3]	14.1 [6.1; 18.6]	6.6 [2.4; 15.4]*
HRVTi	11.9 [10.1; 14.7]	8.8 [6.5; 10.4]*	7.3 [5.3; 10.7]*
Total power, mc ²	2581.8 [1815.4; 3428.6]	1917.8 [1148.8; 2656.0]	1423.8 [517.5; 1868.7]**
VLF, mc ²	893.9 [588.1; 1348.8]	789.4 [397.1; 1383.6]	476.1 [215.6; 808.0]**
LF, mc ²	850.9 [588.1; 1348.8]	380.7 [173.8; 835.6]*	456.9 [126.6; 661.6]**
LF norm, %	49.4 [34.4; 53.9]	57.1 [45.9; 66.1]*	66.4 [55.2; 73.4]**
HF, mc ²	1008.9 [655.7; 1597.6]	328.1 [126.9; 531.3]*	223.4 [103.3; 482.1]**
HF norm, %	50.7 [46.1; 65.6]	42.9 [33.9; 54.1]*	34.1 [26.6; 46.6]**
LF/HF	1.0 [0.7; 1.3]	1.3 [0.8; 2.0]	1.9 [1.1; 2.8]*

*: the difference is significant compared with healthy people ($P < 0.01$); **: with patients without complications ($P < 0.05$).

companied by vegetative disorders, and the appearance of autonomic dysfunction is an unfavorable background for the emergence of other pathological conditions, in particular complications [22]. In our study, the reduction of power in all regulatory units with the development of imbalance towards sympathicotonia in adult patients with measles with complicated course of illness, suggests the presence of a clinical and pathogenetic link development of complications with disorders of autonomic regulation. Data from modern literature [10,23] demonstrate that the shift in vegetative balance towards sympathetic anions with the decrease in HRV indicates an increase in the pathological process. Therefore, the definition and evaluation of changes in the functional state of the ANS has a strategic significance, since it further provides an opportunity to develop an individual approach in the treatment of the patient [24].

Conclusions

1. Clinical manifestations of measles in adults under present conditions maintain typical signs, but a certain feature of measles in adults is the preservation of Filatov-Koplik signs during the period of rash (77.1 %). A number of clinical signs are significantly more likely to be registered with severe course than in the moderate course: scleroconjunctivitis with eye irritation (100.0 % vs. 66.3 %, $P < 0.004$), hoarseness (78.1 % vs. 29.2 %, $P < 0.0001$), hemorrhagic manifestations (12.5 % vs. 1.1 %, $P < 0.001$), nausea (37.5 % vs. 7.9 %, $P < 0.001$); vomiting (31.3 % vs. 5.1 %, $P < 0.001$), longer period of fever ($P < 0.01$).

2. The course of measles in most adult patients (70.5 %) has a complicated character. The complications from the respiratory system (61.4 %) and the gastrointestinal tract (43.8 %) are often recorded, the frequency and spectrum of which depend on the severity of the disease. Complications from the nervous system and vision organs develop in single adult patients in severe cases.

3. Violations of the functional state of the ANS play a role in shaping the measles complications in adults. In the presence of complications, the functional state of the ANS is characterized by a decrease in power in all

regulatory units with the development of imbalance in the direction of sympathicotonia, compared with healthy people ($P < 0.01$). In adult patients with complicated courses, the indicators of total vegetative regulation power (SDNN, Total power), humoral effects (VLF) are lower ($P < 0.05$), and the part of sympathetic effects in the general spectrum of vegetative regulation (LF norm) is higher ($P < 0.05$) than in patients without complications of this infection. Sympathicotonia in patients with complicated course confirms an increase of 90 % ($P < 0.05$) of the LF/HF index, compared with healthy people.

Prospects for further research. Taking into account the data we have received about changes in the functional state of ANS, in our opinion, it is advisable to find a way to correct the pathogenetic treatment of adult patients with measles with complicated course of the disease.

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

Надійшла до редакції / Received: 03.06.2019
Після доопрацювання / Revised: 30.10.2019
Прийнято до друку / Accepted: 04.11.2019

Information about authors:

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

Рябокoн Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Білокобила С. О., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Рябокoн О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Рябокoн Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Белокобыла С. А., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Рябокoн Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] World Health Organization. Regional Office for Europe. (2003). Strategic plan for measles and congenital rubella infection in the European Region of WHO. Copenhagen : WHO Regional Office for Europe. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/107526>
- [2] Tsvirkun, O. V., Gerasimova, A. G., Tikhonova, N. T., Turava, N. V., & Pimenova, A. S. (2012). Struktura zaboлевshikh kor'yu v period eliminiatsii [The Structure of the Measles Cases in the Period of Elimination]. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*, 2, 21-25. [in Russian].
- [3] Volianska L. A. (2016). Epidemichni realii koru na Ternopilshchyni [Epidemic realities of measles in the ternopil region]. *Aktualna infektologiya*, 2, 98-103. [in Ukrainian].
- [4] Timchenko, V. N., Kaplina, T. A., Bulina, O. V., Leonicheva, O. A., Khakizimana, Zh. K., & Timofeeva, E. V. (2017). Aktual'nye problemy korevoi infektsii [Actual problems of measles]. *Pediatrics*, 8(3), 120-129. <https://doi.org/10.17816/ped83120-129>. [in Russian].
- [5] Kramarov, S. O., Yevtushenko, V. V., Kovalyukh, I. Yu., Kaminska, T. M., Holovach, O. V. (2018). Klinichna kartyna koru v ditei, hospitalizovanykh pid chas spalakhu 2017-2018 rr. [Clinical features of measles in children hospitalized during 2017-2018 outbreak]. *Aktual'nye infektologiya*, 6(5), 240-245. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.5.2018.146773>
- [6] Grammens, T., Schirvel, C., Leenen, S., Shodu, N., Hutse, V., da Costa, E. M., & Sabbe, M. (2017). Ongoing measles outbreak in Wallonia, Belgium, December 2016 to March 2017: characteristics and challenges. *Eurosurveillance*, 22(17), 5-9. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2017.22.17.30524>
- [7] Werber, D., Hoffmann, A., Santibanez, S., Mankertz, A., & Sagebiel, D. (2017). Large measles outbreak introduced by asylum seekers and spread among the insufficiently vaccinated resident population, Berlin, October 2014 to August 2015. *Eurosurveillance*, 22(34), 6-13. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2017.22.34.30599>
- [8] Lancellata, L., Di Camillo, C., Vittucci, A. C., Boccuzzi, E., Bozzola, E., & Villani, A. (2017). Measles lessons in an anti-vaccination era: public health is a social duty, not a political option. *Italian Journal of Pediatrics*, 43. <https://doi.org/10.1186/s13052-017-0420-6>
- [9] Laksono, B. M., de Vries, R. D., McQuaid, S., Duprex, W. P., & de Swart, R. L. (2016). Measles Virus Host Invasion and Pathogenesis. *Viruses-Basel*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/v8080210>
- [10] Mikulets, L. V., & Malkovych N. M. (2010). Osoblyvosti porushen vchetatynnoho homeostazu u khvorykh na revmatoidnyi artryt [The peculiarities of vegetative homeostasis in patients with rheumatoid arthritis]. *Pathologia*, 7(3), 107-109. [in Ukrainian].
- [11] Tsoi, E. G., & Iqisheva, L. N. (2003). Osobennosti variabel'nosti serdech-nogo ritma u novorozhdennykh detei, perenesshikh khronicheskuyu vnutritrobnuyu gipoksiyu [Heart rate variability in the assessment of adaptation processes in newborns]. *Mat' i ditya*, 1, 27-30. [in Russian].
- [12] Pseunok, A. A. (2008). Mekhanizmy adaptatsii [Mechanisms of adaptation]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 4. Retrieved from https://elibrary.ru/download/elibrary_11581941_69281899.pdf
- [13] Lysheniuk, S. (2014). Rozlady vchetatynnoho homeostazu pry dyferii u ditei [Disorders of vegetative homeostasis in children with diphtheria]. *Viruzni Khvoroby. Toksoplazmoz. Khlamidioz. Materialy naukovo-praktychnoi konferentsii i plenumu Asotsiatsii infeksionistiv Ukrainy* (pp. 336-337). Ternopil. [in Ukrainian].
- [14] Furyk O. O., & Riabokon O. V. (2009). Dynamika spektralnykh pokaznykiv variabelnosti ritmu sertsia u khvorykh na hostryi hepatyt B [Dynamics of spectral parameters of heart rhythm variability in patients with an acute hepatitis B]. *Pathologia*, 6(2), 114-115. [in Ukrainian].
- [15] Pavlenova, O. Yu., Ushenina, L. O., Riabokon, O. V., Mashko, O. P., Furyk, O. O., Ushenina, N. S. ... Firiulina, O. M. (2013). Osoblyvosti zmin pokaznykiv funktsionalnoho stanu vchetatynnoi nervovoi systemy u khvorykh na kir [Peculiarities of changes of autonomic nervous system functional state in patients with measles]. *Zaporozhye Medical Journal*, 2, 39-41. [in Ukrainian].
- [16] WHO Regional Office for Europe. (2012). Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region, Updated December 2012. WHO Regional Office for Europe. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260123>
- [17] Malik, M., Camm, A. J., Bigger Jr., J. T., Breithardt, G., Cerutti, S., Cohen, R. J., ... Singer, D. H. (1996). Heart rate variability. standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *European Heart Journal*, 17(3), 354-381. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a014868>
- [18] Dahanayaka, N. J., Pahalagamage, S., Ganagama, R. M., Weerawansa, P., & Agampodi, S. B. (2015). The 2013 measles outbreak in sri lanka: Experience from a rural district and implications for measles elimination goals. *Infectious Diseases of Poverty*, 4(1) <https://doi.org/10.1186/s40249-015-0084-7>
- [19] Monfort, L., Munoz, D., Trenchs, V., Hernandez, S., Garcia, J. J., Aguilar, A. C., ... Luaces, C. (2010). Measles outbreak in Barcelona. Clinical and epidemiological characteristics. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, 28(2), 82-86. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.05.006>
- [20] Premaratna, R., Luke, N., Perera, H., Gunathilake, M., Amaraseena, P., & Chandrasena, T. G. A. N. (2017). Sporadic cases of adult measles: A research article. *BMC Research Notes*, 10(1) <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2374-6>
- [21] Dinh, A., Fleuret, V., & Hanslik, T. (2013). Liver involvement in adults with measles. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(12), E1243-E1244. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.06.014>
- [22] Mikhieieva, T. M., Nechytalo, D. Y., Poniuk, V. V., & Fomina, T. P. (2018). Features of the vegetative state and arterial pressure level in children with chronic gastroduodenal pathology. *Zaporozhye Medical Journal*, 20(5), 651-654. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.5.141662>
- [23] Inazumi, T., Shimizu, H., Mine, T., & Iwasaki, T. (2000). Changes in autonomic nervous activity prior to spontaneous coronary spasm in patients with variant angina. *Japanese Circulation Journal-English Edition*, 64(3), 197-201. <https://doi.org/10.1253/jcj.64.197>
- [24] Vizir-Tronova, O. V. (2017). Cardiovascular aspects and the state of vegetative balance in patients with arterial hypertension associated with dyslipidemia. *Zaporozhye Medical Journal* 19(5), 540-546. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.5.110083>

Peculiarities of carbohydrate metabolism in patients with metabolic syndrome depending on C/T polymorphism in the DIO 1 gene

N. O. Abramova*^{B,C,D}, N. V. Pashkovska^{A,E,F}

HSEI "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, 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

According to the WHO, the prevalence of metabolic syndrome (MS) is 20–40%. Thyroid hormones are involved in the regulation of almost all physiological processes in the body, including carbohydrate metabolism.

The aim of the research was to study the dependence of carbohydrate metabolism on C/T polymorphism in the DIO 1 gene in patients with metabolic syndrome.

Material and methods. The C/T polymorphism in the DIO1 gene was studied in 102 patients and 97 healthy subjects. To assess the dependence of carbohydrate metabolism on the C/T polymorphism in the DIO 1 gene, the following groups has been formed: 19 patients with CC genotype, 69 individuals – with CT and 14 ones – with TT genotypes.

Results. Disorders of distribution of genotype frequencies contributed by the reduction of CC genotype frequency was revealed in the group of enrolled patients comparing to the control group ($\chi^2 = 6.8$, $P < 0.05$), while there was no significant difference between the frequencies of CT and TT genotypes in the main and control groups ($\chi^2 = 2.4$, $P > 0.05$ and $\chi^2 = 1.2$, $P > 0.05$). Taking into account that the difference in genotypes frequencies occurs mainly due to a decrease in the number of patients homozygous for C allele, it can be assumed that the C allele has protective properties against deiodinase 1 activity reduction, that indicates the association of C/T polymorphism in the DIO1 gene with the development of thyroid hormone disturbances in the patients with metabolic syndrome as compared to the control group. Elevation of HOMA-IR index was established in patients with TT genotype. Insulin resistance develops in the carriers of T allele, that causes disturbances in carbohydrate metabolism.

Conclusions. Presence of the T allele in genotype is associated with HOMA-IR index elevation as a consequence of the triiodothyronine level reduction and further development of insulin resistance.

Key words:

C/T polymorphism in the DIO 1 gene, carbohydrate metabolism, insulin resistance, metabolic syndrome.

Pathologia

2019; 16 (3), 345–349

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188838

*E-mail:

natalloka84@gmail.com

Особливості вуглеводного обміну в пацієнтів із метаболічним синдромом залежно від С/Т поліморфізму гена DIO 1

Н. О. Абрамова, Н. В. Пашковська

За даними ВООЗ, поширеність метаболічного синдрому (МС) становить 20–40%. Тиреоїдні гормони беруть участь у регуляції майже всіх фізіологічних процесів в організмі, зокрема та вуглеводного обміну.

Мета роботи – вивчити залежність показників вуглеводного обміну в пацієнтів із метаболічним синдромом від С/Т поліморфізму гена DIO 1.

Матеріали та методи. У 102 осіб із метаболічним синдромом і 97 практично здорових осіб дослідили С/Т поліморфізм гена DIO 1. Для оцінювання залежності вуглеводного обміну від С/Т поліморфізму гена DIO 1 хворих поділили на групи: 19 – із СС, 69 – із СТ, 14 – із ТТ генотипом.

Результати. Порівняння розподілу частот генотипів гена DIO1 показало, що С/Т поліморфізм гена DIO1 асоційований із розвитком порушення обміну тиреоїдних гормонів у пацієнтів, яких обстежили, порівняно з групою контролю ($p < 0,05$). Виявили, що такі зміни зумовлені зменшенням частоти СС генотипу у групі осіб із метаболічним синдромом порівняно з групою контролю ($\chi^2 = 6,8$, $p < 0,05$), вірогідної різниці між частотами СТ і ТТ генотипів в основній і контрольній групах не було ($\chi^2 = 2,4$, $p > 0,05$; $\chi^2 = 1,2$, $p > 0,05$). Враховуючи, що різниця частот генотипів виникає переважно внаслідок зменшення кількості осіб, гомозиготних за алелем С, можна припустити: С-алель характеризується протекторними властивостями, а це свідчить про роль С/Т поліморфізму гена DIO1 у розвитку тиреоїдного дисбалансу. Аналізуючи дані показників вуглеводного обміну залежно від генотипу, у групі осіб із ТТ генотипом встановили вірогідне зростання НОМА-ІР порівняно з групою осіб із СС генотипом ($p < 0,05$).

Висновки. Носійство «мутантного» Т-алеля гена DIO 1 асоційоване з вірогідним зростанням НОМА-ІР як наслідок зниження рівня стимулювального трийодтироніну з розвитком інсулінорезистентності.

Ключові слова:

С/Т поліморфізм гена DIO 1, вуглеводний обмін, інсуліно-резистентність, метаболічний синдром.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 345–349

Особенности углеводного обмена у пациентов с метаболіческим синдромом в зависимости от С/Т полиморфизма гена DIO 1

Н. А. Абрамова, Н. В. Пашковская

По данным ВОЗ, распространенность метаболіческого синдрома (МС) составляет 20–40%. Тиреоидные гормоны участвуют в регуляции практически всех физиологических процессов в организме, в том числе и углеводного обмена.

Ключевые слова:

С/Т полиморфизм гена DIO 1, углеводный обмен, инсулино-резистентность, метаболический синдром.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 345–349

Цель работы – изучить зависимость показателей углеводного обмена у пациентов с метаболическим синдромом от С/Т полиморфизма гена DIO 1.

Материалы и методы. У 102 пациентов с метаболическим синдромом и 97 практически здоровых лиц исследовали С/Т полиморфизм гена DIO 1. Для оценки зависимости углеводного обмена от С/Т полиморфизма гена DIO 1 больных разделили на группы: 19 – с СС, 69 – с СТ, 14 – с ТТ генотипом.

Результаты. Сравнение распределения частот генотипов гена DIO1 показало, что С/Т полиморфизм гена DIO1 ассоциирован с развитием нарушения обмена тиреоидных гормонов у обследуемых пациентов по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Обнаружено, что такие изменения обусловлены уменьшением частоты СС генотипа в группе пациентов с метаболическим синдромом по сравнению с группой контроля ($\chi^2 = 6,8$, $p < 0,05$), тогда как достоверной разницы между частотами СТ и ТТ генотипов в основной и контрольной группах не было ($\chi^2 = 2,4$, $p > 0,05$; $\chi^2 = 1,2$, $p > 0,05$). Учитывая, что разница частот генотипов возникает преимущественно за счет снижения количества лиц, гомозиготных по С-аллели, можно предположить, что С-аллель обладает протекторными свойствами, что свидетельствует о роли С/Т полиморфизма гена DIO1 в развитии тиреоидного дисбаланса. Анализируя данные показателей углеводного обмена в зависимости от генотипа, в группе лиц с ТТ генотипом установлено достоверное увеличение показателя HOMA-IR по сравнению с группой лиц с СС генотипом ($p < 0,05$).

Выводы. Носительство «мутантной» Т-аллели гена DIO 1 ассоциировано с достоверным увеличением HOMA-IR в результате снижения уровня стимулирующего трийодтиронина с развитием инсулинорезистентности.

According to the WHO, the prevalence of metabolic syndrome (MS) is 20–40 % [11]. MS most often occurs in people of middle and senior age (30–40 %). Besides, about 30 % (16.8 % of women and 14.9 % of men) of the planet's population are overweight [6].

The pathophysiological processes, that accompany obesity, cause the development of arterial hypertension, carbohydrate metabolism disorders, dyslipidemia, which are components of MS [8].

Thyroid hormones bind to their nuclear receptors α and β , which are present in all tissues of the human body and participate in the regulation of most physiological processes, including carbohydrate metabolism [2,4,10].

Particularly important in the activation of nuclear receptors is triiodothyronine (T_3), which partially regulates gene transcription by modulation of post-translational histone modifications [3,7,14].

The regulation of carbohydrate metabolism under the influence of thyroid hormones is directly influenced by the expression of genes that regulate the production of insulin in liver and skeletal muscles, and stimulate the expression of additional factors such as the complex of ChREBP (carbohydrate response element-binding protein), which subsequently affect the body's ability to secrete insulin in response to glucose intake [5,9].

Therefore, the enzymes deiodinase 1 (D1) and deiodinase 2 (D2) that catalyze the conversion of prohormone T_4 to T_3 are important for the functioning of this mechanism of carbohydrate metabolism [17].

D1 is one of the deiodinases family, which is active in liver, kidney, thyroid tissue. Transcripts of DIO1 are also found in the pituitary gland, intestine, placenta and gonads [12,13,20].

In our study we selected C/T polymorphism at position 785 in the DIO1 gene of complementary DNA [16].

R. Peeters et al. revealed that the presence of minor T-allele in the genotype is associated with an increase in the reverse T_3 (rT_3) content, an increase in rT_3/T_4 ratio and a decrease in the T_3/rT_3 ratio. Similar results were obtained by Frank Jan de Jong et al [1].

However, the effect of the polymorphism in the genes that regulates the metabolism of the thyroid hormones on the carbohydrate metabolism needs further investigation.

Aim

To investigate the dependence of carbohydrate metabolism in patients with metabolic syndrome on C/T polymorphism in the DIO1 gene.

Materials and methods

102 patients with MS were examined. The average age of patients was 52.5 ± 8.8 years: 35 patients (34.3 %) were women, 67 (65.7 %) patients – men. The control group included 97 practically healthy persons at the age of 48.90 ± 7.96 years: 58 persons (59.8 %) were men and 39 – women (40.2 %).

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. The study protocol and Informed Consent form for patient was approved by the Ethics Committee of the Bukovinian State Medical University, Ukraine.

Inclusion criteria: diagnosed arterial hypertension, combined with abdominal obesity, a violation of carbohydrate metabolism in the form of impaired tolerance to glucose or type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia, informed consent of the patient to participate in the study.

Exclusion criteria: secondary arterial hypertension, hypothyroidism, thyrotoxicosis, decompensated kidney and liver damage, chronic heart failure above FC III, left ventricular ejection fraction up to 45 %, acute cerebrovascular accident and acute coronary syndrome less than 3 months before the study, mental disorders, pregnant women, lactating, any chronic diseases in the acute stage and acute inflammatory processes, other comorbid diseases in the stage of decompensation or acute conditions capable to influence research results.

MS was determined according to the recommendations of the International Diabetic Federation (IDF), 2005.

The research was conducted on the basis of clinical and diagnostic laboratories of the Department of Internal Medicine, the Department of Medical Biology, Genetics

and Pharmaceutical Botany of the Bukovinian State Medical University, the Regional Endocrinological Center, the Chernivtsi Regional Hospital of Veterans of War.

C/T polymorphism in the DIO1 gene was studied in 102 patients and 97 healthy individuals by isolation of genomic DNA from peripheral blood leukocytes, after that amplification of the polymorphic area in the state of polymerase chain reaction (PCR) was performed on the programmed PCR thermal cyclers "Amply-4L" ("Biocom", Moscow, RF) at individual temperature response. Reagents «DNA sorb-V» option 100 (Federal State Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Federal Service for Supervision in the Sphere of Protection of Human Rights and Human Welfare, RF) were used for DNA isolation from lymphocytes according to instructions. PCR samples were prepared by means of the set "AmpliSens-200-1" (Federal State Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology" of the Federal Service for Supervision in the Sphere of Protection of Human Rights and Human Welfare, RF).

The following primer set were used: to determine the C/T polymorphism in the DIO1 gene – forward – 5'-GAACCTTGATGTGAAGGCTGGA-3' and reverse – 5'-TAACCTCAGCTGGGAGTTGTTT-3'. Discrimination of DIO1 gene alleles was performed using the specific restriction enzyme Bcl I ("Fermentas[®]", USA).

Products of PCR were separated using electrophoresis in 3% agarose gel in the presence of tetraborate buffer, concentrated with ethidium bromide. Fragments were visualized by transilluminator in the presence of a marker of molecular mass 100–1000 bp ("Fermentas[®]", USA).

Pearson's χ^2 -criterion was used to estimate the correspondence of the genotype frequencies in the study to theoretically expected distribution at Hardy-Weinberg's equilibrium. Odds ratio (OR) with determination of 95% confidence interval (CI) was calculated with the aim to establish the association of polymorphic variant of the gene with a pathological phenotype.

To evaluate the dependence of carbohydrate metabolism depending on C/T polymorphism in the DIO 1 gene we divided the patients into groups in the following way: 19 patients with CC, 69 individuals with CT and 14 ones with TT genotypes. The control group included 20 healthy individuals.

Disorders of carbohydrate metabolism were diagnosed according to WHO criteria (1999). Fasting immunoreactive insulin (IRI), C-peptide were determined by immunoassay method on analyser of immune-enzymatic reactions "Uniplan" using DRG (Germany) reagents.

Glucose content was determined by glucose oxidase method using standard set of reagents of the "Fylisyt diagnosis" (Ukraine).

Content of glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}) was studied by the method of ion-exchange high performance liquid chromatography (HPLC) on Automatic analyzer of glycosylated hemoglobin D10 "Bio-Rad Laboratories Inc.", using the "Biomedinvest" reagents (Ukraine).

To study the proinflammatory activity of adipocytes, the level of leptin was studied by immunoassay method on analyser of immune-enzymatic reactions "Uniplan" using DRG (Germany) reagents.

To assess the degree of insulin resistance a small model of homeostasis (Homeostasis model assessment – HOMA) was used, calculated by means of the HOMA Calculator Version 2.2 Diabetes Trials Unit at the University of Oxford (UK).

Anthropometric indices were calculated: such as waist to hip (W/H) ratio and body mass index (BMI) by Quetelet, 1832.

All statistical computations were performed by means of the licensed software package Statistica for Windows 6.0, serial number 31415926535897 and Microsoft Excel 2016 table processor (Microsoft Corp., USA). For all parameters, in the groups of patients with CC, CT and TT genotypes and control group, the arithmetic mean (M), its dispersion and mean error (m) were calculated. All data corresponded to the normal distribution law. To determine the significance of differences between the results of research in groups of patients with CC, CT and TT genotypes and control group, the Student's coefficient (t) was calculated, after that the significance of the difference between the samples (P) and the confidence interval of the mean according to the Student distribution tables were determined. Valid values for $P < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

When assessing the distribution of genotype frequencies in the DIO 1 gene, it was revealed that C/T polymorphism in the DIO1 gene is associated with the violation of thyroid hormones metabolism in patients with MS (*Table 1*).

The frequency of CC genotype in patients with MS was significantly lower, compared with the control group ($\chi^2 = 6.8$, $P < 0.05$), while there was no significant difference between the frequencies of CT and TT genotypes in the group of patients and control group ($\chi^2 = 2.4$, $P > 0.05$ and $\chi^2 = 1.2$, $P > 0.05$).

In patients with CT polymorphism the risk of disturbance of D1 activity increases by 5.7 times ($P < 0.05$; OR = 1.89, 0.95% CI = 1.06–3.35) than in those with CC genotype.

So, the risk of reduction of D1 activity is associated with the presence of minor T allele, while homozygous for C allele had significantly lower risk of this disturbance development. Considering that the difference of genotypes frequency occurs mainly due to decrease in the number of individuals homozygous for C allele, it can be assumed that C allele has protective properties concerning the development of thyroid hormones metabolism violation.

When studying the dependence of carbohydrate metabolism on the C/T polymorphism in the DIO1 gene, it was found that carriers of minor T allele had significantly higher HOMA-IR index than homozygous for C allele ($P < 0.05$) (*Table 2*). No significant changes in glucose, HbA_{1c}, leptin, C-peptide, IRI levels and anthropometric parameters were revealed.

Discussion

According to our data, the risk of reduction of D1 activity is associated with the presence of minor T allele, while homozygous for C allele had significantly lower risk of this

Table 1. The distribution of genotype frequencies depending on CT polymorphism in the DIO1 gene in patients with metabolic syndrome and the control group

Genotypes	Cases	Controls	χ^2	P	OR	0,95 % CI
	102	97				
Genotype frequency CC	0.186	0.412	6.8	P < 0.05	0.33	0.17–0.62
Genotype frequency CT	0.676	0.526	4.7	P < 0.05	1.89	1.06–3.35
Genotype frequency TT	0.137	0.062	1.2	P > 0.05	2.41	0.89–6.56

χ^2 : Pearson criterion, OR: odds ratio, CI: confidence interval.

Table 2. Peculiarities of carbohydrate metabolism indices and anthropometric parameters in patients with metabolic syndrome according to C/T polymorphism in the DIO1 gene (M \pm m)

Index, units of measurement	Genotypes of the GPX 1 gene, n = 102			Control group, n = 20
	CC, n = 19	CT, n = 69	TT, n = 14	
Glucose, mmol/l	5.27 \pm 0.28*	5.64 \pm 0.26*	6.18 \pm 0.39*	4.73 \pm 0.17
Immunoreactive insulin, IU/ml	17.45 \pm 2.24*	19.79 \pm 2.32*	20.89 \pm 1.52*	6.11 \pm 1.31
HOMA-IR	4.09 \pm 0.24*/**/**	4.96 \pm 0.32*	5.74 \pm 0.23*	0.97 \pm 0.04
C-peptide, ng/ml	4.85 \pm 0.17*	5.12 \pm 0.16*	5.62 \pm 0.15*	1.29 \pm 0.12
BMI, kg/m ²	30.88 \pm 1.46*	32.64 \pm 1.63*	34.62 \pm 3.76*	24.88 \pm 2.28
Leptin, ng/ml	24.12 \pm 3.24*	27.93 \pm 4.10*	30.38 \pm 4.58*	4.72 \pm 0.15
HbA _{1c} , %	5.96 \pm 0.61*	6.14 \pm 0.38*	6.58 \pm 0.47*	4.42 \pm 0.58
W/H ratio	0.97 \pm 0.05*	1.01 \pm 0.06*	1.13 \pm 0.05*	0.68 \pm 0.03

n: number of observations; *: the probability of changes in relation to control; **: the probability of changes in relation to the group with CT-genotype; ***: the probability of changes in relation to group with TT genotype.

disturbance development. Considering that the difference of genotypes frequency occurs mainly due to a decrease in the number of individuals homozygous for C allele, it can be assumed that C allele has protective properties concerning the development of thyroid hormones metabolism violation.

Our data coincide with the statement that thyroid hormones participate in the regulation of carbohydrate metabolism by stimulation of expression of genes that regulate the production of insulin in liver and skeletal muscles, and stimulate the expression of additional factors such as the complex of ChREBP (carbohydrate response element-binding protein), which subsequently affect the body's ability to secrete insulin in response to glucose intake [5, 15].

In our study HOMA-IR was higher in the group of patients with TT genotype (homozygous for "mutant" allele) as compared to the group with CC genotype (homozygous for "wild" allele) of the DIO1 gene (P < 0.05).

In the study of Sikandar Hayat Khan et al. carbohydrate metabolism in euthyroid and hypothyroid patients was examined. It was revealed that patients with hypothyroidism had significantly higher HOMA-IR index, compared to control group, suggesting that reduced thyroid hormones levels contribute to insulin resistance [18].

Vyakaranam S. et al. also revealed that HOMA-IR index values were higher in subjects with subclinical hypothyroidism compared with euthyroid subjects. Moreover, TSH positively correlated with insulin and HOMA-IR values, whereas fT₄ and fT₃ inversely correlated with insulin and HOMA-IR [19].

Authors of both these studies suggested that these changes develop as a reflection of alterations of tissue thyroid hormones metabolism – deiodination impairment, with further tissue hypothyroidism development in hepatocytes, which leads to insulin resistance thus leading to decreased glucose metabolism

Ana C. Parveloski-Costa et al. found that T₃ treat-

ment of obese rats leads to improvement of insulin sensitivity (T₃-treated rats presented higher constant rate for the insulin tolerance test (ITT)) and negative modulation of inflammatory cytokine expression in adipose tissue. Furthermore, T₃ treatment reduced the serum levels of triglycerides and cholesterol, body weight gain was decreased in these animals [20]. The results of this study suggests positive effect of thyroid hormones on components of metabolic syndrome and necessity to keep the levels of thyroid hormones in normal ranges not only in serum but also in tissues, taking into account the fact of impaired thyroid hormones metabolism in them as result of deiodinases inhibition.

It can be assumed, that elevation of HOMA-IR index in our study is caused by decreased level of the most active hormone of thyroid gland – T₃ due to the inhibition of D1 activity in patients with MS, with subsequent reduction of insulin receptors sensitivity and development of IR.

Conclusions

1. Taking into account that the difference in genotypes frequencies occurs mainly due to a decrease in the number of patients homozygous for C allele, it can be assumed that the C allele has protective properties against deiodinase 1 activity reduction, whilst T allele presence is associated with the inhibition of peripheral conversion of thyroid hormones.

2. The presence of T alleles in the genotype of patients with metabolic syndrome is associated with a violation of carbohydrate metabolism as a result of insulin resistance development.

Prospects for further research. The survey results indicate the necessity of effective measures for carbohydrate dysfunction correction development in patients with metabolic syndrome.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.12.2018
Після доопрацювання / Revised: 04.06.2019
Прийнято до друку / Accepted: 23.07.2019

Funding

The research is a fragment of the planned comprehensive research work of Bukovinian State Medical University "Genetic, metabolic aspects of inflammation, endothelium dysfunction, and treatment with combined pathology of internal organs", state registration № 0112U003546, the term of implementation 2012–2016.

Information about authors:

Abramova N. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology, HSEI "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine.

ORCID: 0000-0001-5621-1294

Pashkovska N. V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology, HSEI "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine.
ORCID: 0000-0002-9896-1744

Відомості про авторів:

Абрамова Н. О., канд. мед. наук, асистент каф. клінічної імунології, алергології та ендокринології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.
Пашковська Н. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної імунології, алергології та ендокринології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.

Сведения об авторах:

Абрамова Н. О., канд. мед. наук, ассистент каф. клинической иммунологии, алергологии и эндокринологии, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы.
Пашковская Н. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. клинической иммунологии, алергологии и эндокринологии, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы.

References

- de Jong, F. J., Peeters, R. P., den Heijer, T., van der Deure, W. M., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., . . . Breteleur, M. M. B. (2007). The association of polymorphisms in the type 1 and 2 deiodinase genes with circulating thyroid hormone parameters and atrophy of the medial temporal lobe. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(2), 636-640. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1331>
- Flamant, F., Cheng, S. Y., Hollenberg, A. N., Moeller, L. C., Samarut, J., Wondisford, F. E., . . . Refetoff, S. (2017). Thyroid Hormone Signaling Pathways: Time for a More Precise Nomenclature. *Endocrinology*, 158(7), 2052-2057. <https://doi.org/10.1210/en.2017-00250>
- Hashimoto, K., Ishida, E., Matsumoto, S., Okada, S., Yamada, M., Satoh, T., . . . Mori, M. (2009). Carbohydrate response element binding protein gene expression is positively regulated by thyroid hormone. *Endocrinology*, 150(7), 3417-3424. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0059>
- Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*, 33(7), 673-689. <https://doi.org/10.1007/s40273-014-0243-x>
- Kyono, Y., Subramani, A., Ramadoss, P., Hollenberg, A. N., Bonett, R. M., & Denver, R. J. (2016). Liganded Thyroid Hormone Receptors Transactivate the DNA Methyltransferase 3a Gene in Mouse Neuronal Cells. *Endocrinology*, 157(9), 3647-3657. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1529>
- Leon, B. M., & Maddox, T. M. (2015). Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World Journal of Diabetes*, 6(13), 1246-1258. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i13.1246>
- Liu, Y. Y., & Brent, G. A. (2010). Thyroid hormone crosstalk with nuclear receptor signaling in metabolic regulation. *Trends in endocrinology and metabolism*, 21(3), 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.11.004>
- Mendoza, A., & Hollenberg, A. N. (2017). New insights into thyroid hormone action. *Pharmacology & Therapeutics*, 173, 135-145. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.012>
- Mitchenko, E. I., Korpachev, V. V., Putai, M. I., Man'kovskii, B. N., Pan'kiv, V. I., Svishchenko, E. L., . . . Kovaleva, O. N. (2008). Diagnostika i lechenie metabolicheskogo sindroma, sakharnogo diabeta, prediabeta i serdechno-sosudistykh zabolevanii [Diagnosis and treatment of metabolic syndrome, diabetes mellitus, pre-diabetes and cardiovascular diseases]. *Mezhdunarodnyi endokrinologicheskii zhurnal*, 3, 5-22. [in Russian].
- Nolan, P. B., Carrick-Ranson, G., Stinear, J. W., Reading, S. A., & Dalleck, L. C. (2017). Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis. *Preventive Medicine Reports*, 19(7), 211-215. <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2017.07.004>
- Taylor, P. N., Peeters, R., & Dayan, C. M. (2015). Genetic abnormalities in thyroid hormone deiodinases. *Current Opinion in Endocrinology Diabetes and Obesity*, 22(5), 402-406. <https://doi.org/10.1097/med.0000000000000180>
- Poplawski, P., Rybicka, B., Boguslawska, J., Rodzika, K., Visser, T. J., . . . Piekietko-Witkowski, A. (2017). Induction of type 1 iodothyronine deiodinase expression inhibits proliferation and migration of renal cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 442, 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.12.004>
- Mullur, R., Liu, Y. Y., & Brent, G. A. (2014). Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiological Reviews*, 94(2), 355-382. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2013>
- Santoro, A. B., Vargens, D. D., Barros, M. D., Bulzico, D. A., Kowalski, L. P., Meirelles, R. M. R., . . . Suarez-Kurtz, G. (2014). Effect of UGT1A1, UGT1A3, DIO1 and DIO2 polymorphisms on L-thyroxine doses required for TSH suppression in patients with differentiated thyroid cancer. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 78(5), 1067-1075. <https://doi.org/10.1111/bcp.12437>
- Skowrońska-Józwiak, E. (2015). The effect of Selenium on thyroid physiology and pathology. *Thyroid Research*, 8(1), A23. <https://doi.org/10.1186/1756-6614-8-S1-A23>
- Verloop, H., Dekkers, O. M., Peeters, R. P., Schoones, J. W., & Smit, J. W. A. (2014). Genetic variation in deiodinases: a systematic review of potential clinical effects in humans. *European Journal of Endocrinology*, 171(3), R123-R135. doi:10.1530/eje-14-0302
- Hwangbo, Y., & Park, Y. J. (2018). Genome-Wide Association Studies of Autoimmune Thyroid Diseases, Thyroid Function, and Thyroid Cancer. *Endocrinology and Metabolism*, 33(2), 175-184. doi:10.3803/EnM.2018.33.2.175
- Khan, S. H., Fazal, N., Ijaz, A., Manzoor, S. M., Asif, N., Rafi, T., . . . Niazi, N. K. (2017). Insulin Resistance and Glucose Levels in Subjects with Subclinical Hypothyroidism. *Jcpsp-Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 27(6), 329-333.
- Vyakaranam, S., Vanaparthi, S., Nori, S., Palarapu, S., & Bhongir, A. V. (2014). Study of Insulin Resistance in Subclinical Hypothyroidism. *International Journal of Health Sciences and Research*, 4(9), 147-153.
- Panveloski-Costa, A. C., Serrano-Nascimento, C., Bargi-Souza, P., Poyares, L. L., Viana, G. D., & Nunes, M. T. (2018). Beneficial effects of thyroid hormone on adipose inflammation and insulin sensitivity of obese Wistar rats. *Physiological Reports*, 6(3). doi:10.14814/phy2.13550

Features of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets of normotensive and hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes

T. V. Abramova^{*A-D,F}, T. V. Ivanenko^{B-E}, O. V. Melnykova^{D,E,F}

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:

essential hypertension, diabetes mellitus, pancreatic islets, apoptosis.

Pathologia

2019; 16 (3), 350–354

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188846

*E-mail:

abramov@zsmu.pp.ua

In our previous studies it was established that the remodeling of pancreatic islets with decreasing β -cell population density is formed in hypertensive SHR rats. The imbalance between the synthesis of proapoptotic and antiapoptotic factors may be one of the possible causes of disturbed formation of the endocrinocyte population in the pancreas.

The aim of the research was to study the parameters of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets in normotensive and hypertensive rats in the streptozotocin-induced diabetes mellitus development.

Materials and methods. The study was performed on 30 normotensive male Wistar rats (systolic BP = 105.0 ± 1.1 mm Hg) and 25 hypertensive SHR rats (systolic BP = 155.7 ± 0.9 mm Hg) with fasting normoglycemia (4.73 ± 0.10 mmol/l). Bcl2 and p53 proteins were detected in histological pancreas sections by immunofluorescence method. The relative area of Bcl2- and p53-immunopositive material, concentration of proteins in endocrinocytes, their content in the islets and apoptosis index p53/Bcl2 were analyzed in pancreatic islands.

Results. The area of relative immunofluorescence to the Bcl2 protein was 2 times less, and the protein content was 3 times lower in pancreatic islets of hypertensive rats (SHR) compared with normotensive Wistar rats. At the same time, no statistical differences in the area of the immunopositive material to the p53 protein and its content in the islets between the experimental groups were revealed. The development of streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats was accompanied by approximately 2-fold decrease in the Bcl2 protein expression in pancreatic islets, a significant increase in the specific content of p53 protein and a 3.8-fold increase in the apoptosis index of p53/Bcl2. In pancreatic islets of SHR rats, diabetes mellitus development was accompanied by 2-fold increase in the specific content of the proapoptotic protein p53 without the reduction of the antiapoptotic protein Bcl2 synthesis. At the same time, the p53/Bcl2 apoptosis index in SHR rats remained statistically higher than in Wistar rats.

Conclusions. Endocrine cells of pancreatic islets of SHR rats are characterized by the prevalence of proapoptotic protein p53 expression as compared with Wistar line normotensive rats. The development of streptozotocin diabetes in Wistar rats leads to a significant decrease in the number of endocrinocytes synthesizing the antiapoptotic protein Bcl2. At the same time, an increase in the synthesis of the proapoptotic protein p53 in endocrinocytes in diabetes is observed both in normotensive and in hypertensive rats.

Ключові слова:

гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, панкреатичні острівці, апоптоз.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 350–354

Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 в панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом

Т. В. Абрамова, Т. В. Іваненко, О. В. Мельникова

У попередніх дослідженнях встановили, що в гіпертензивних щурів лінії SHR формується ремоделювання панкреатичних острівців зі зменшенням щільності популяції β -клітин. Однією з можливих причин порушення формування популяції ендокриноцитів підшлункової залози може бути дисбаланс між синтезом проапоптотичних та антиапоптотичних факторів.

Мета роботи – вивчити параметри синтезу білків Bcl2 і p53 в панкреатичних острівцях у нормотензивних і гіпертензивних щурів при розвитку стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 30 нормотензивних самцях щурів лінії Wistar (систоличний АТ = $105,0 \pm 1,1$ мм рт. ст.) і 25 гіпертензивних щурах лінії SHR (систоличний АТ = $155,7 \pm 0,9$ мм рт. ст.) з нормоглікемією натще ($4,73 \pm 0,10$ ммоль/л). У гістологічних зрізах підшлункової залози імуофлуоресцентним методом виявляли білки Bcl2 і p53. У панкреатичних острівцях аналізували відносну площу Bcl2- і p53-імунопозитивного матеріалу, концентрацію білків в ендокриноцитах, їхній вміст в острівцях та індекс апоптозу p53/Bcl2.

Результати. У панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR ліній площа відносної імуофлуоресценції до білка Bcl2 була вдвічі меншою, а вміст білка втричі нижчим, ніж у нормотензивних тварин лінії Wistar. Статистичні відмінності площі імунопозитивного матеріалу до білка p53 і його вмісту в острівцях між експериментальними групами не виявили. Розвиток стрептозотоцинового діабету в нормотензивних щурів лінії Wistar супроводжувався зменшенням експресії білка Bcl2 в панкреатичних острівцях приблизно вдвічі, істотним збільшенням питомого вмісту білка p53 та збільшенням індексу апоптозу p53/Bcl2 у 3,8 раза. У панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету супроводжувався 2-разовим збільшенням питомого вмісту проапоптотичного білка p53 без редукції синтезу антиапоптотичного білка Bcl2. Індекс апоптозу p53/Bcl2 у щурів лінії SHR зберігав статистично вищі значення, ніж у щурів лінії Wistar.

Висновки. Для ендокриноцитів панкреатичних острівців щурів лінії SHR характерне переважання експресії проапоптотичного білка p53 порівняно з нормотензивними щурами лінії Wistar. Розвиток стрептозоточинового діабету в щурів лінії Wistar призводить до суттєвого обмеження кількості ендокриноцитів, що синтезують антиапоптотичний білок Bcl2. Збільшення синтезу проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах при діабеті визначили і в нормотензивних, і в гіпертензивних щурів.

Особенности синтеза белков Bcl2 и p53 в панкреатических островках нормотензивных и гипертензивных крыс со стрептозоточин-индуцированным диабетом

Т. В. Абрамова, Т. В. Иваненко, О. В. Мельникова

В предыдущих исследованиях установлено, что у гипертензивных крыс линии SHR формируется ремоделирование панкреатических островков с уменьшением плотности популяции β -клеток. Одной из возможных причин нарушения формирования популяции эндокриноцитов поджелудочной железы может быть дисбаланс между синтезом проапоптотических и антиапоптотических факторов.

Цель работы – изучить параметры синтеза белков Bcl2 и p53 в панкреатических островках у нормотензивных и гипертензивных крыс при развитии стрептозоточин-индуцированного сахарного диабета.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 нормотензивных самцах крыс линии Wistar (систолическое АД = $105,0 \pm 1,1$ мм рт. ст.) и 25 гипертензивных крысах линии SHR (систолическое АД = $155,7 \pm 0,9$ мм рт. ст.) с нормогликемией натощак ($4,73 \pm 0,10$ ммоль/л). В гистологических срезах поджелудочной железы иммунофлуоресцентным методом выявляли белки Bcl2 и p53. В панкреатических островках анализировали относительную площадь Bcl2- и p53-иммунопозитивного материала, концентрацию белков в эндокриноцитах, их содержание в островках и индекс апоптоза p53/Bcl2.

Результаты. В панкреатических островках у гипертензивных крыс линии SHR площадь относительной иммунофлуоресценции к белку Bcl2 была в 2 раза меньше, а содержание белка в 3 раза ниже, чем у нормотензивных животных линии Wistar. Статистические отличия площади иммунопозитивного материала к белку p53 и его содержания в островках между экспериментальными группами не установлены. Развитие стрептозоточинового диабета у нормотензивных крыс линии Wistar сопровождалось уменьшением экспрессии белка Bcl2 в панкреатических островках примерно в 2 раза, существенным нарастанием удельного содержания белка p53 и увеличением индекса апоптоза p53/Bcl2 в 3,8 раза. В панкреатических островках гипертензивных крыс линии SHR развитие диабета сопровождалось 2-кратным нарастанием удельного содержания проапоптотического белка p53 без редукции синтеза антиапоптотического белка Bcl2. Индекс апоптоза p53/Bcl2 у крыс линии SHR сохранял статистически более высокие значения, чем у крыс линии Wistar.

Выводы. Для эндокриноцитов панкреатических островков крыс линии SHR характерно преобладание экспрессии проапоптотического белка p53 по сравнению с нормотензивными крысами линии Wistar. Развитие стрептозоточинового диабета у крыс линии Wistar приводит к существенному ограничению количества эндокриноцитов, синтезирующих антиапоптотический белок Bcl2. Нарастание синтеза проапоптотического белка p53 в эндокриноцитах при диабете отмечено и у нормотензивных, и у гипертензивных крыс.

Essential hypertension is one of the most common chronic diseases, the incidence of which ranges from 29.0 % in adults to 64.9 % in people over 60 years [1]. Patients with arterial hypertension present the majority of the cardiological group of patients; type 2 diabetes mellitus accompanies from 20 % in the USA to 30 % of cases in Italy [2]. The combination of essential hypertension and diabetes mellitus in patients is known as a metabolic syndrome that increases the clinical severity of single nosologies and worsens the prognosis for life [3]. We reported previously that fasting glycemia does not exceed 5.5 mmol/L in 2/3 of the SHR rats with hereditary arterial hypertension [4]. Nevertheless, the signs of pancreatic islet cytoarchitectonics are revealed: the decrease in the population density of β -cells [5,6] and an increase in the number of α -cells in the pancreas [7]. It is proved that diabetes mellitus modeling with streptozotocin in Wistar rats normally leads to the formation of stable hyperglycemia, decrease in β -endocrinocytes number [8–10] and a rise in α -cells quantity in the pancreas [10–12].

We have demonstrated that streptozotocin-induced diabetes in SHR rats also leads to hyperglycemia, while a

lesser degree of β -cell death is noted in the pancreas than in normotensive Wistar rats [9]. Moreover, the development of diabetes mellitus in SHR rats leads to a decrease in the population density of α -cells in the pancreas, in contrast to Wistar rats [9]. We suppose that the number of endocrinocytes in the pancreas under normal and pathological conditions can be affected not only by β -cytopathic factors, such as streptozotocin, antibodies to intra-islet antigens, hypoxia, but also the level of intracellular expression of proapoptotic and antiapoptotic factors, such as p53 and Bcl2 proteins [13,14].

The aim

The aim of the research was to study the parameters of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets in normotensive and hypertensive rats subjected to streptozotocin-induced diabetes mellitus development.

Materials and methods

The research was carried out on 30 normotensive male rats of Wistar line (systolic BP = 105.0 ± 1.1 mm Hg)

Ключевые слова:
гипертоническая болезнь,
сахарный диабет,
панкреатические островки, апоптоз.

Патология. – 2019. –
Т. 16, № 3(47). –
С. 350–354

and 25 hypertensive rats of SHR line (systolic BP = 155.7 ± 0.9 mm Hg) with fasting normoglycemia (4.73 ± 0.10 mmol/L). The animals were kept in standard vivarium conditions under natural light without restriction of access to water and food. The studies were conducted in accordance with the requirements of international principles of the European Convention (Strasbourg, 1985). Diabetes mellitus was modeled in 15 Wistar rats and 10 SHR rats by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (SIGMA Chemical, USA) in a dose of 50 mg/kg dissolved in 0.5 ml of 0.1 M citrate buffer (pH = 4.5). 3 weeks after, the concentration of glucose in the blood was measured in animals with the help of GlucoCard-II glucometer (Japan), and systolic blood pressure was measured with the help of BP-2000 non-invasive pressure control system (Visitech Systems, USA).

The pancreas was extracted after decapitation of experimental animals under thiopental anesthesia (50 mg/kg), fixed in Bouin solution (20 hours) and poured into paraplast (McCormick, USA) after standard histological processing. Serial histological slices of the pancreas 5 μ m thick were dewaxed and unmasked in a citrate buffer solution (pH = 9.0) in the PT-module (Thermo Scientific, USA). Bcl2 and p53 proteins in pancreatic islets were detected by immunofluorescence method using antibodies produced by Santa Cruz Biotechnology (USA). Primary antibodies were incubated in dilution 1:200 (wet chamber, T = +4 °C, 24 hours), secondary antibodies conjugated with FITC were incubated in dilution 1 : 64 (wet chamber, T = +37 °C, 45 min).

The slices were washed in phosphate buffer and then enclosed in a mixture of glycerin/phosphate buffer (9:1). Specificity of antibody binding was controlled in similar way, except for incubation with primary antibodies. Immunofluorescence reaction was studied using the AxioImager-M2 fluorescence microscope (Carl Zeiss, Germany) with the digital camera AxioCam-HRm (Carl Zeiss, Germany) and with the use of the high-emission 38HE filter ($\lambda_{ex} = 470/40$ nm, $\lambda_{em} = 525/50$ nm) (Carl Zeiss, Germany). Quantitative analysis of the immunofluorescence reaction was carried out with the help of AxioVision-4.8.2 digital image analysis system (Carl Zeiss, Germany). At least 75 pancreatic islets were examined in each series and the following parameters were measured and calculated:

1) the relative area of the immunopositive material (the percentage of the immunopositive material in the islet area);

2) the concentration of proteins in endocrinocytes (the module of the logarithm of the background fluorescence to the fluorescence of immunopositive material ratio, expressed in relative units of fluorescence – U_{IF});

3) the protein content in pancreatic islets (calculated as the product of the specific concentration of proteins and immunopositive material area in 1 cm² of the area of the islets, expressed in U_{IF} / cm^2);

4) apoptosis index (the ratio of p53 protein content to Bcl2 protein content in pancreatic islets).

Experimental data were processed with Excel 2003 (Microsoft Corp.) statistical analysis software package.

The reliability of the differences between the experimental groups was assessed using the Student's criterion t, considering the differences to be reliable at $P < 0.05$.

Results

The development of streptozotocin diabetes led to the formation of hyperglycemia both in normotensive Wistar rats (17.69 ± 1.10 mmol/L) and in SHR rats with hereditary hypertension (11.45 ± 0.89 mmol/L). Earlier, we attributed this to significant reduction of the α -endocrinocyte pool in the pancreas of hypertensive rats, which does not lead to excessive glucagon synthesis, which is observed in Wistar rats along with of intensive α -cells proliferation [9].

The area of relative immunofluorescence to the Bcl2 protein was 2 times less in pancreatic islets, in hypertensive rats than in normotensive animals, while the area of p53 protein immunopositive material was almost the same (Table 1).

Despite the fact that the parameters of protein concentration in the cells in normo- and hypertensive rats did not statistically differ, their ratio indicated the predominance of pro-apoptotic p53 protein expression in the endocrinocytes in SHR rats (Table 2).

Calculation of the Bcl2 protein content in pancreatic islets demonstrated its 3-fold decrease in hypertensive rats in comparison with normotensive animals (Table 3). The p53 protein content in the islets of both animal lines did not statistically differ. It is possible that low indices of Bcl2 antiapoptotic protein expression in pancreatic endocrinocytes in SHR line rats may be one of the reasons for the decrease in the β -cell population in these animals [5,6].

The development of experimental diabetes in normotensive rats led to a 2-fold decrease in the area of Bcl2 immunopositive material in pancreatic islets accompanied with an increase in the area of immunoreactivity to p53 protein by 55 %. In contrast, there was an increase in immunoreactivity both to Bcl2 and p53 protein by more than 50 % in pancreatic islets of hypertensive animals (Table 1).

The development of diabetes led to an increase in the concentration of p53 protein in endocrinocytes in normotensive and hypertensive rats by 24 % and 31 %, respectively. At the same time, the development of diabetes in normotensive animals did not affect the concentration of Bcl2 protein in the cells, while in hypertensive animals a decrease in the concentration of Bcl2 protein by 33 % was observed (Table 2). This resulted in the fact that the index of apoptosis – Bcl2/p53 in endocrinocytes in normotensive animals with diabetes decreased only by 12 % ($P < 0.02$), and in hypertensive rats – by 40 % ($P < 0.001$).

Changes in the parameters of Bcl2 and p53 proteins immunoreactivity in the diabetes mellitus development in normotensive rats resulted in a 40 % decrease in the specific content of the antiapoptotic Bcl2 protein in pancreatic islets, combined with 2.3-fold increase in the specific content of the proapoptotic p53 protein (Table 3). Whereas, the development of diabetes in hypertensive rats of resulted only in 2-fold increase in the specific content of the p53 protein in the pancreatic islets as compared with the control group. Moreover, the development of diabetes in normotensive animals resulted in the increase of the apoptosis index by 3.84 times, while in hypertensive

Table 1. Relative area (%) of immunopositive material in pancreatic islets (M ± m)

Parameter	Normotensive rats		Hypertensive rats	
	Control, n = 91	Diabetes, n = 76	Control, n = 83	Diabetes, n = 78
Bcl2	4.966 ± 0.728 [#]	2.798 ± 0.184 [*]	2.475 ± 0.144 [*]	3.771 ± 0.597 [#]
p53	2.157 ± 0.195	3.344 ± 0.258 ^{**}	2.123 ± 0.180	3.209 ± 0.225 ^{**}
Bcl2 / p53	2.302 ± 0.083 [#]	0.836 ± 0.074 ^{**}	1.165 ± 0.096 [*]	1.175 ± 0.095 [*]

Reliability P < 0.05 of differences in comparison with normotensive (*) and hypertensive (#) rats without diabetes; n: the number of pancreatic islets that were examined.

Table 2. Protein concentration (U_{pr}) in endocrinocytes (M ± m)

Parameter	Normotensive rats		Hypertensive rats	
	Control, n = 91	Diabetes, n = 76	Control, n = 83	Diabetes, n = 78
Bcl2	0.611±0.079	0.664±0.040 [#]	0.514±0.011	0.397 ± 0.019 ^{**}
p53	0.449 ± 0.017	0.556 ± 0.042 ^{**}	0.448±0.021	0.587 ± 0.030 ^{**}
Bcl2 / p53	1.360 ± 0.050	1.194 ± 0.048 [*]	1.147 ± 0.020 [*]	0.676 ± 0.052 ^{**}

Significance (P < 0.05) of differences in comparison with normotensive (*) and hypertensive (#) rats without diabetes; n: the number of pancreatic islets that were examined.

Table 3. Protein content (U_{pr}/cm²) in pancreatic islets (M ± m)

Parameter	Normotensive rats		Hypertensive rats	
	Control, n = 91	Diabetes, n = 76	Control, n = 83	Diabetes, n = 78
Bcl2	3.570 ± 0.203 [#]	2.118 ± 0.265 ^{**}	1.271 ± 0.079 [*]	1.549 ± 0.232 [*]
p53	0.984±0.102	2.242 ± 0.372 ^{**}	1.063 ± 0.133	2.104 ± 0.252 ^{**}
apoptosis index p53/Bcl2	0.275 ± 0.059 [#]	1.058 ± 0.077 ^{**}	0.836 ± 0.026 [*]	1.358 ± 0.065 ^{**}

Significance (P < 0.05) of differences in comparison with normotensive (*) and hypertensive (#) rats without diabetes; n: the number of pancreatic islets that were examined.

rats this index increased only by 1.62 times. However, in hypertensive animals the apoptosis index in pancreatic islets was still significantly higher (P < 0.05) than in normotensive rats.

Discussion

The data obtained in the current research indicate that the development of experimental diabetes mellitus leads to a significant decrease in quantity of the endocrinocytes that synthesize the anti-apoptotic protein Bcl2 only in normotensive rats. At the same time, an increase of proapoptotic p53 protein synthesis in endocrinocytes in diabetes is observed both in normotensive and hypertensive rats.

It is known that Bcl-2 family of proteins include proteins both with anti-apoptotic and pro-apoptotic activity. Such proteins as Bcl2-protein (Bcl2), B-cell lymphoma-extra-large (Bcl-xL), Bcl-2-like protein 2 (Bcl-w), Bcl-2-like protein 10 (Bcl-B), myeloid cell leukemia 1 (MCL-1) and Bcl-2 related gene A1 (A1) prevent apoptosis [15]. They realize their anti-apoptotic effect at the mitochondrial level, and also block the activity of caspases and proapoptotic proteins Bcl-2 family members in the cell [16]. Other proteins of Bcl-2 family such as Bcl-2-associated X protein (Bax) and Bcl-2 antagonist killer 1 (Bak), in contrast, have a proapoptotic influence [15,16]. It is believed that the balance between pro- and anti-apoptotic proteins of the Bcl-2 family is a key parameter that determines the choice between life and death for a cell [17]. It has been established that in type 1 and type 2 diabetes Bcl2 production increases in β-cells along with other molecular regulators of apoptosis, [16], that might have a protective value and to some extent reflect the compensatory potential of β-endocrinocytes in diabetes.

It was noted that apoptosis of β-cells in diabetes, caused by overproduction of pro-inflammatory cytokines

and a decrease in the mitochondrial transmembrane potential in endocrinocytes is inhibited by stimulation of Bcl2 expression [18].

A product of the TP53 gene (tumor suppressor gene) activity – p53 protein is an important regulator of apoptosis in cells along with the Bcl-2 family proteins [17]. Being a kind of “guardian of the genome”, the p53 protein initiates apoptosis in DNA damage caused by radiation, chemical agents, reactive oxygen species, hypoxia, and other injuring factors. Furthermore, the p53 protein realizes its proapoptotic potential by inducing pro-apoptotic proteins of the Bcl-2 family: Bax, PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis) and Noxa (phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1) [17,19]. It is proved that p53 protein can trigger β-cell dysfunction and suppress insulin secretion in them [19]. At the same time, inhibition of p53 activity or knockout of the TP53 gene in mice preclude apoptosis of β-endocrinocytes and prevent insulin resistance development in adipocytes [19].

Therefore, the estimation of the balance between the synthesis of anti- and proapoptotic factors in pancreatic endocrinocytes can be a prognostic factor for assessing the resistance of β-endocrinocytes to the action of pathogenic factors, as well as for assessment of the risk of diabetes mellitus development. In the present study, we revealed a deficiency of anti-apoptotic potential caused by a decrease in the Bcl2 protein synthesis in pancreatic islets that led to an increase in the endocrinocyte apoptosis index in normoglycemic hypertensive SHR rats to the level typical to normotensive Wistar rats with streptozotocin-induced diabetes. This fact to some extent explains the low specific density of the β-endocrinocyte population in spontaneously hypertensive rats compared with normotensive Wistar animals [5,6]. In addition to that, adaptive hypobaric hypoxic training of Wistar rats with streptozotocin-induced diabetes increases the anti-apop-

otic potential of β -cells and reduces the index of apoptosis that ultimately leads to a rise in β -endocrinocytes pool, increase of insulin synthesis in them and a decrease in glycemia level [13,14].

Conclusions

1. The endocrinocytes of pancreatic islets in normotensive Wistar rats demonstrate higher level of the anti-apoptotic protein Bcl2 synthesis than hypertensive rats of the SHR line, while the level of the pro-apoptotic protein p53 expression is almost the same.

2. Experimental diabetes mellitus development in normotensive Wistar rats is accompanied by 2-fold decrease in the expression of Bcl2 protein in pancreatic islets, a significant increase in the specific content of p53 protein, and an increase in the p53/Bcl2 apoptosis index by 3.8 times.

3. The development of diabetes in SHR rats is accompanied by 2-fold increase in the specific content of the pro-apoptotic protein p53 in the pancreatic islets without reduction of anti-apoptotic protein Bcl2 synthesis. At the same time, the p53/Bcl2 apoptosis index in SHR rats remains statistically higher than in Wistar rats.

Prospects for further research. Further study of the mechanisms of endocrinocyte death in diabetes, due to the interaction of key molecular regulators of apoptosis β -cells such as Bcl2, Bcl-xL, Bax, Bak, and MST1 proteins are proposed.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.10.2019
Після доопрацювання / Revised: 22.10.2019
Прийнято до друку / Accepted: 30.10.2019

Information about authors:

Abramova T. V., Assistant of the Department of Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Melnykova O. V. MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Абрамова Т. В., асистент каф. дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Мельникова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Абрамова Т. В., ассистент каф. детских болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Иваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Мельникова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- Yoon, S. S., Carroll, M. D., & Fryar, C. D. (2015). Hypertension Prevalence and Control among Adults: United States, 2011-2014. *NCHS Data Brief*, 220, 1-8.
- Seferovic, P. M., Petrie, M. C., Filippatos, G. S., Anker, S. D., Rosano, G., Bauersachs, J., ... McMurray, J. J. V. (2018). Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European Journal of Heart Failure*, 20(5), 853-872. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1170>
- Wou, C., Unwin, N., Huang, Y. D., & Roglic, G. (2019). Implications of the growing burden of diabetes for premature cardiovascular disease mortality and the attainment of the Sustainable Development Goal target 3.4. *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*, 9(2), 140-149. <https://doi.org/10.21037/cdt.2018.09.04>
- Gancheva, O. V., Kolesnik, Yu. M., Abramova, T. V., Samoylenko, N. Yu., & Abramov, A. V. (2013). Metabolic disturbances in hypertensive SHR rats. *Klinichna farmatsiia*, 17(4), 56-58.
- Abramova, T. V. (2016). The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats. *Pathologia*(1), 19-21. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2016.1.72359>
- Abramova, T. V., & Kolesnyk, Y. M. (2016). The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR). *Pathologia*(3), 4-8. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2016.3.86931>
- Abramova, T. V., & Kolesnyk, Y. M. (2017). Osobennosti organizatsii populyatsii al'fa-kletok v podzheludochnoi zheleze u kryss so spontannoii gipertenzii (SHR) [Features of the alpha-cell population organization in pancreas of spontaneously hypertensive rats (SHR)]. *Pathologia*(2), 124-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.2.109249>
- Abramova, T. V., Kolesnik, Yu. M., & Ivanenko, T. V. (2017). Funktsional'noe sostoyanie b-kletok podzheludochnoi zhelezy u kryss so spontannoii gipertenzii (SHR) pri eksperimental'nom diabete [Functional status of b-cells in pancreas of spontaneously hypertensive rats with experimental diabetes]. *Aktualni Problemy Suchasnoi Medytyny*, 4 (60), 8-12. [in Russian].
- Abramova, T., Kolesnik, Y., & Ivanenko, T. (2018). Kolichestvennyye izmeneniya populyatsii endokrinotsitov podzheludochnoy zhelezy u kryss linii SHR na fone razvitiya streptozototsin-indutsirovannogo diabeta [Quantitative changes in the pancreatic endocrinocyte population in SHR rats against the background of the development of streptozotocin-induced diabetes]. *Klinichna ta eksperimentalna patohiia*, 4(66), 8-14. [in Russian]. <https://doi.org/10.24061/1727-4338XVE466.2018.181>
- Plesner, A., ten Holder, J. T., & Verchere, C. B. (2014). Islet Remodeling in Female Mice with Spontaneous Autoimmune and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Plos One*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102843>
- Li, Z., Karlsson, F. A., & Sandler, S. (2000). Islet loss and alpha cell expansion in type 1 diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin administration in mice. *Journal of Endocrinology*, 165(1), 93-99. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1650093>
- Zhang, Y., Zhang, Y., Bone, R. N., Cui, W., Peng, J. B., Siegal, G. P., ... Wu, H. (2012). Regeneration of pancreatic non- β endocrine cells in adult mice following a single diabetes-inducing dose of streptozotocin. *Plos one*, 7(5), e36675. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036675>
- Ivanenko, T. V., Abramov, A. V., Kolesnik, Yu. M., Vasilenko, G. V. (2011). Endokrinnyi status i uroven' ekspresii belkov Bcl-2 i p53 v pankreaticheskikh ostrovkakh u kryss s eksperimental'nym sakharnym diabetom [Endocrine status and expression level of Bcl-2 and p53 proteins in pancreatic islets in rats with experimental diabetes mellitus]. *Pathologia*, 8(2), 18-20. [in Russian].
- Ivanenko, T. V., Kolesnyk, Yu. M., & Abramova T. V. (2017). Analiz endokrynnoho statusu ta rinvnia ekspresii bilkiv apoptozu i proliferatsii v pankreatychnykh ostrivtsiakh shchuriv z eksperimentalnym tsukrovym diabetom pislia zakinchennia pereryvchastykh hipoksychnykh trenuvan [Analysis of endocrine status and pro-apoptotic protein expression and proliferation in pancreatic islets in rats with experimental diabetes mellitus after intermittent hypoxic training]. *Patohiia, reabilitatsiia, adaptatsiia*, 15(2), 87-93. [in Ukrainian].
- Edlich, F. (2018). BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 500(1), 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.190>
- Lee, S. C., & Pervaiz, S. (2007). Apoptosis in the pathophysiology of diabetes mellitus. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(3), 497-504. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.09.007>
- Hotchkiss, R. S., Strasser, A., McDunn, J. E., & Swanson, P. E. (2009). Mechanisms of Disease Cell Death. *New England Journal of Medicine*, 361(16), 1570-1583. <https://doi.org/10.1056/NEJMr0901217>
- Saldeen, J. (2000). Cytokines induce both necrosis and apoptosis via a common bcl-2-inhibitable pathway in rat insulin-producing cells. *Endocrinology*, 141(6), 2003-2010. <https://doi.org/10.1210/en.141.6.2003>
- Kung, C. P., & Murphy, M. E. (2016). The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *Journal of Endocrinology*, 231(2), R61-R75. <https://doi.org/10.1530/joe-16-0324>

Features of the pathomorphological structure of the atherosclerotic plaques of carotid atherosclerosis

Yu. I. Kuzyk^{1,2}

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine, ²CI LRC "Lviv Regional Pathology Bureau", 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

Carotid arteriosclerosis is a recognized leader among causes of ischemic disorders of the cerebral circulation. It is known that brain infarction occurs with atherosclerotic stenosis and thrombosis of the carotid arteries in approximately 40 % of cases. The peculiar geometry of carotid bifurcation creates conditions for the development of atherosclerotic plaques.

The aim of the work is determination of pathomorphological features of the structure of atherosclerotic plaques in carotid atherosclerosis.

Materials and methods. Histological, histochemical and immunohistochemical studies of surgical material in 680 patients were performed.

Results. On the basis of pathomorphological analysis of the plaque in carotid AS they can be divided into complicated and uncomplicated.

The first type is atheromatous unstable plaques with the prevalence of foci of atheromatosis, lympho-macrophage infiltration, intraplaque hemorrhage, necrosis of fibrous elements and edema. Immunohistochemically they are characterized by high expression of MMP-9 in macrophages and lymphocytes with degradation of type I collagen in the surface and deep layers of the plaque coating and its replacement by type III collagen ($P < 0.05$). The second type of plaque is stable uncomplicated with the advantage of fibrosis, hyalinosis and petrification. Immunohistochemical structure of plaques was collagen type I, expression of collagen type III was low, expression of MMP-9 was moderate ($P < 0.05$).

Conclusions. High expression of MMP-9 in carotid atherosclerosis in macrophage-lymphocytic infiltrates in atheromatosis and neovascularization sites was found to result in degradation of type I collagen with its replacement by type III collagen. Such pathomorphological changes underlie plaque instability – the development of intraplaque hemorrhages, ulcers with embolic complications. Synthesis of collagen type I with low expression of type III collagen and MMP-9 has been found to determine the basis of the structure of fibro-muscular plaques. This ensures their hemodynamic stability and stable vascular stenosis.

Key words:

MMP-9, type I collagen, type III collagen, type IV collagen, TIMP-1, atherosclerotic plaques, carotid atherosclerosis.

Pathologia

2019; 16 (3), 355–361

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188872

*E-mail:

juliakuzyk21@gmail.com

Особливості патоморфологічної структури атеросклеротичних бляшок при каротидному атеросклерозі

Ю. І. Кузик

Атеросклероз сонних артерій – визнаний лідер серед причин ішемічних порушень мозкового кровообігу. Відомо, що при атеросклеротичному стенозі та тромбозі сонних артерій приблизно в 40 % випадків виникає інфаркт мозку. Особлива геометрія біфуркації сонних артерій створює умови для розвитку атеросклеротичних бляшок.

Мета роботи – визначення патоморфологічних особливостей структури атеросклеротичних бляшок при каротидному атеросклерозі.

Матеріали та методи. Здійснили гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження операційного матеріалу 680 хворих.

Результати. На підставі патоморфологічного аналізу структури бляшок при каротидному атеросклерозі розрізняли їх ускладнений і неускладнений типи. Перший тип – атероматозні нестабільні бляшки з перевагою вогнищ атероматозу, лімфомакрофагальної інфільтрації, внутрішньобляшкових крововиливів, некрозу волокнистих елементів і набряку. Імуногістохімічно для них характерна висока експресія ММП-9 у макрофагах і лімфоцитах із деградацією організованого колагену I типу в поверхневих і глибоких шарах покривки бляшки та заміною його на колаген III типу ($p < 0,05$). Другий тип бляшок – стабільні неускладнені з перевагою фіброзу, гіалінозу та петрифікації. Імуногістохімічно структуру бляшок утворював колаген I типу, експресія колагену III типу низька, експресія ММП-9 помірна ($p < 0,05$).

Висновки. Висока експресія ММП-9 при каротидному атеросклерозі в макрофагально-лімфоцитарних інфільтратах у вогнищах атероматозу та неоваскуляризації призводить до деградації колагену I типу з заміною його на колаген III типу. Такі патоморфологічні зміни становлять основу нестабільності бляшок, зумовлюючи розвиток внутрішньобляшкових крововиливів, виразкування з емболічними ускладненнями. Встановили, що синтез колагену I типу з низькою експресією колагену III типу та ММП-9 визначає основу фіброзно-м'язових бляшок. Це забезпечує їхню гемодинамічну стабільність і стійкий судинний стеноз.

Ключові слова:

ММП-9, колаген I, III, IV типу, ТІМП-1, атеросклеротичні бляшки, каротидний атеросклероз.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). –

С. 355–361

Ключевые слова: ММП-9, коллаген I, III, IV типа, ТИМП-1, атеросклеротические бляшки, каротидный атеросклероз.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 355–361

Особенности патоморфологической структуры атеросклеротических бляшек при каротидном атеросклерозе

Ю. И. Кузык

Атеросклероз сонных артерий – признанный лидер среди причин ишемических нарушений мозгового кровообращения. Известно, что при атеросклеротическом стенозе и тромбозе сонных артерий примерно в 40 % случаев возникает инфаркт мозга. Особая геометрия бифуркации сонных артерий создает условия для развития атеросклеротических бляшек.

Цель работы – определение патоморфологических особенностей структуры атеросклеротических бляшек при каротидном атеросклерозе.

Материалы и методы. Проведено гистологическое, гистохимическое и иммуногистохимическое исследования операционного материала 680 больных.

Результаты. На основе патоморфологического анализа структуры бляшки при каротидном атеросклерозе выделили их осложненный и неосложненный типы. Первый тип – атероматозные нестабильные бляшки с превалированием очагов атероматоза, лимфомакрофагальной инфильтрации, внутрибляшечных кровоизлияний, некроза волокнистых элементов и отека. Иммуногистохимически для них характерна высокая экспрессия ММП-9 в макрофагах и лимфоцитах с деградацией организованного коллагена I типа в поверхностных и глубоких слоях покрышки бляшки и заменой его на коллаген III типа ($p < 0,05$). Второй тип бляшек – стабильные неосложненные с преобладанием фиброза, гиалиноза и петрификации. Иммуногистохимически структуру бляшек составлял коллаген I типа, экспрессия коллагена III типа низкая, экспрессия ММП-9 умеренная ($p < 0,05$).

Выводы. Высокая экспрессия ММП-9 при каротидном атеросклерозе в макрофагально-лимфоцитарных инфильтратах в очагах атероматоза и неоваскуляризации приводит к деградации коллагена I типа с заменой его на коллаген III типа. Такие патоморфологические изменения лежат в основе нестабильности бляшек – развития внутрибляшечных кровоизлияний, язвы с эмболическими осложнениями. Установлено, что синтез коллагена I типа с низкой экспрессией коллагена III типа и ММП-9 определяет основу фиброзно-мышечных бляшек. Это обеспечивает их гемодинамическую стабильность и устойчивый сосудистый стеноз.

Carotid arteriosclerosis (AS) is a recognized leader among causes of ischemic disorders of the cerebral circulation. It is known that brain infarction occurs with atherosclerotic stenosis and thrombosis of the carotid arteries (CA) in approximately 40 % of cases [2,19,23]. Given the high frequency and emphasizing the importance of atherosclerotic CA lesions in the development of cerebral disorders, some authors view it as a separate nosological unit, referring to the term "International Carotid Artery Disease" [17,23]. The authors dispute this because of the peculiarities of the geometric configuration of the CA bifurcation. Special geometric configurations in the arteries, such as bifurcations, bends, and anastomoses, can create focal areas of reduced tangential wall tension and promote smooth muscle cell proliferation. The concave surface of the convoluted arteries contributes to the reduction of the tangential stress of the wall, and in this place intimal thickening or atherosclerotic plaques (AP) develops. The most characteristic area of localized significant reduction of the tangent wall tension is carotid bifurcation. Atherosclerotic lesions of this localization account for 75 % of all lesions of the extracranial arteries of the brain [8,14,20]. A number of researchers have studied the factors of AP progression, possibly predicting the development of instability and complications, including intracranial bleeding, thrombus progression, and inflammation [1,2,7,10–12,19,21–23,25]. Tan F. P. P. et al. [4] focuses on the distribution of hemodynamic forces, the appearance of turbulent flows in the stenosed artery in AS, which contributes to the growth of plaque size and the development of its instability. Makris G. C. et al. [18] proved that a change in the stress-deformed state of a vessel in AS, together with the redistribution of effective and tangential stresses, leads to plaque rupture

due to the progression of intraplaque hemorrhages [5]. Therefore, the question of pathomorphological study of the structure of AP of CA is important for the establishment of possible features of plaques, prognosis and development of possible complications and correction of management of patients with carotid AS.

The aim

The aim of the work is determination of pathomorphological features of atherosclerotic plaques structure in carotid atherosclerosis.

Materials and methods

Altogether, over the 16-year period (2000–2015), surgical material of 680 patients operated at the Department of Vascular Surgery of Lviv Regional Clinical Hospital was analyzed and investigated. The operative material was 815 cases, as 135 patients underwent surgery on both CAs at different times. Surgical material, which was dependent on the type of surgery performed, was received in 10 % neutral formalin solution. In each case, histological examination of the vascular wall preparations stained with hematoxylin eosin was performed. The sections were also stained with resorcinol-fuchsin by Hart, picrofuchsin by Weigert, Masson's trichrome. Immunohistochemical studies of CA biopsies were performed in paraffin sections using monoclonal and polyclonal antibodies. We used primary monoclonal antibodies to: collagen type I (Clone RAH C11-0,1 "Thermo Fisher Scientific Inc.", USA); collagen type III (Clone RAH C33 "Thermo Fisher Scientific Inc.", USA); type IV collagen (Clone CIV 22 "Thermo Fisher Scientific Inc.", USA); matrix metalloproteinase-1

inhibitor – Mo a-Hu TIMP-1 Ab-2 TIMP-1 (Clone 102D1, “Thermo Fisher Scientific Inc.”, USA); polyclonal antibodies to matrix metalloproteinase-9 – Rb aHu MMP-9 (92 kDa Collagenase IV, “Thermo Fisher Scientific Inc.”, USA). Incubation with primary antibodies was performed according to the instructions of the manufacturers, visualization of the immunohistochemical reaction was performed using the DAKO EnVision + System (DAKO, USA) detection system with diaminobenzidine (DAB). The sections were stained with Mayer’s hematoxylin and enclosed in Canada balsam. The expression intensity was evaluated by the semi-quantitative method as follows: “-” – negative immunohistochemical reaction; “+” – low intensity of expression; “++” is a moderate intensity of expression and “+++” is a clear intensity of expression.

A statistical survey of the data obtained was performed using the applications MS Excel 2003, Statistica 7 and IBM SPSS Statistics 19.

Results

Among the operated AS was identified in 286 (42.1 %) patients. The number of men was eight times higher than women (men 255, women 31). Patients’ age ranged from 34 to 83 years. Most often, AS occurred in people aged 50–70 years – 209 (73.0 %) patients. The predominant localization of the atherosclerotic process were both ICA – 156 (54.5 %) patients ($P < 0.05$). In second place in the lesion are both internal and external carotid arteries. AP practically in half of the cases captured the bifurcation of the external CA and moved to the initial departments of the internal CA. The first place in the frequency of lesions is the initial departments of internal CA – about 30 %. In the third place – up to 15 % of AP were localized on the bifurcation of the external CA.

In the overwhelming majority (82 % of patients), carotid endarterectomy – classic or eversion, and combinations of endarterectomy with other operations – resection, with redressing or reimplantation, were performed. With endarterectomy, plaque, intima, part of the media, and adventitia were removed according to protocols of operations of medical histories. The operating material included 327 biopsies, 162 of which were right carotid arteries, 165 left carotid arteries. Most of the biopsies – 153 (46.7 %) had a conical shape and were represented by the inner parts of the sinus wall of the internal CA with AB, 110 biopsies (33.6 %) by the inner parts of the bifurcation walls of the common CA and the initial sections of the internal and external carotid arteries with plaques in their walls. In each of the biopsies, a longitudinal surgical incision of the sinus wall of the CA was observed.

Pathomorphological examination revealed that most plaques had a complex structure due to the combination of various components both in circumference and in the depth of the bioplate. The revealed components of the plaque are characteristic for the severe form of AS: foci of atheromatosis, necrosis and edema, newly formed vessels, hemorrhages, inflammatory infiltration, sclerosis and calcinosis, thinning and ulceration of the plaque cap, parietal and obstructive thrombi ($P < 0.05$).

Sclerosis was a typical component of different types of AP. The degree of severity and prevalence of sclerotic

changes in plaques varied: in 24 (7.3 %) biopsies fibrosis foci occupied practically the entire thickness of the slice, in 222 (67.7 %) plaques the fibrosis was focal and occupied the same area as atheromatosis, and calcinosis, in 77 (23.4 %) the fibrosis was insignificant ($P < 0.05$). Sclerosis was observed in the superficial layers of the plaque, in combination with hyalinosis formed a plaque. Stromal hyalinosis in half of cases was combined with vascular hyalinosis in the plaque.

Fibro-muscular plaques were observed in 26 (7.9 %) cases and consisted of a combination of diffuse fibrosis with proliferation of muscle fibers. Such plaques lacked lipid components. The muscle fibers were arranged in an orderly or chaotic fashion, with interlaced tufts forming. Fibro-muscular proliferation spread throughout the thickness of the vascular wall, occupying media and adventitia. In five cases, muscle plaques made of proliferating muscle fibers and smooth muscle cells (SMCs) were found.

Calcification was observed in 257 (78.4 %) cases. Significant foci of calcite were found in 127 AP (38.7 %). They were located in atheromatous masses and occupied up to half of a piece of plaque. In 82 plaques (25 %), calcification foci destroyed vessel structures and penetrated deep layers of the medium, partly beyond the operating material.

Atheromatosis was observed in 231 (70.4 %) of complicated AP. The severity of atheromatosis varied quantitatively: in 51 biopsies, it occupied small areas in superficial or deeper layers of plaque. In half of the cases, atheromatosis was quite pronounced, reaching up to half of the plaque area and located in its deep layers. Atheromatosis was almost scattered in 28 cases, accounting for the bulk of the plaque. In such APs the destruction of atheromatous masses was completed by intraplaque tears and dissection with of large plaque fragments in the lumen of the ICA. In one third of cases of complicated plaques on the border with foci of atheromatosis areas of fibrinoid necrosis were detected, limited on the periphery by accumulations of macrophages and proliferating fibroblasts. The deposition of cholesterol crystals in the foci of atheromatosis was observed in 62.5 % of cases. At the destruction of the cap atheromatous masses with cholesterol crystals penetrated into the lumen of the ICA.

Cellular infiltration in plaques was observed in 240 (73.1 %) cases. Foamy macrophages were the most common cells in the infiltrate, forming significant foci or small-focal infiltrates. Macrophages were localized on the border with foci of atheromatosis and fibrous elements in the superficial and deep layers of plaques. In 134 (40.8 %) biopsies, a large number of foamy macrophages were observed; in 82 (25.0 %) there were moderate clusters. In half of AP lymphocytes were detected. In a third of the plaques, they were observed near the new vessels, among macrophage infiltrates, both in the superficial and deep layers of the plaques. Lymphocytes in AP were defined as clusters of single cells – 90 (27.4 %), in 63 (19.2 %) – in the form of focal clusters ($P < 0.05$). Near atheromatous masses, in particular near the cholesterol crystals, numerous or single giant cells were observed in 13 (3.9 %) cases.

A high level of MMP-9 expression was observed in the cell infiltrate at the foci of atheromatosis. Intensive

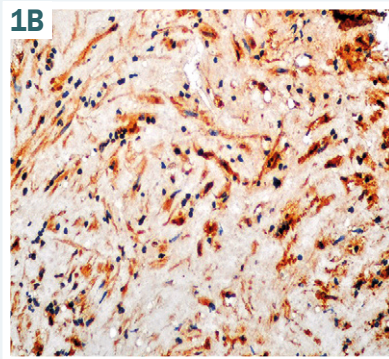
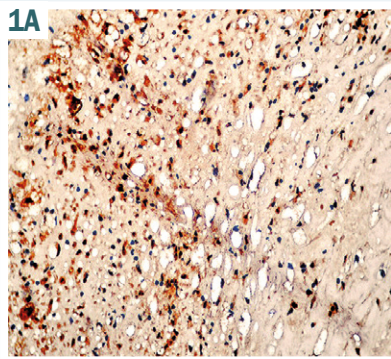


Fig. 1. High expression of MMP-9 in the cell infiltrate in the atheromatous site: **A, B** – high expression of MMP-9 in macrophages and lymphocytes. Rb aHu MMP-9, visualization system DAKO EnVision + System with DAB.
Magnification: A,B ×200.

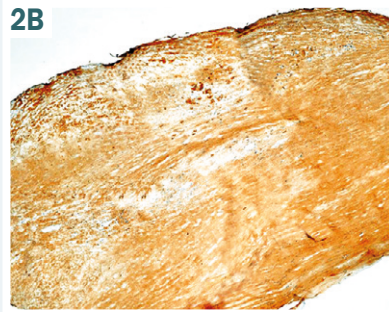
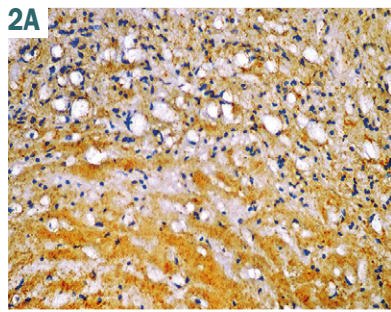
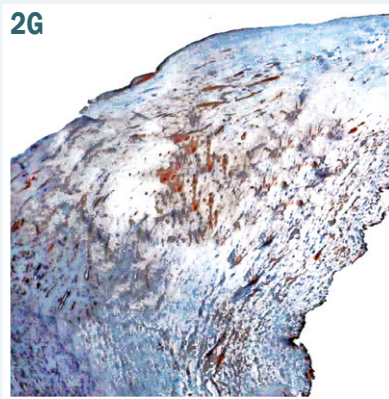
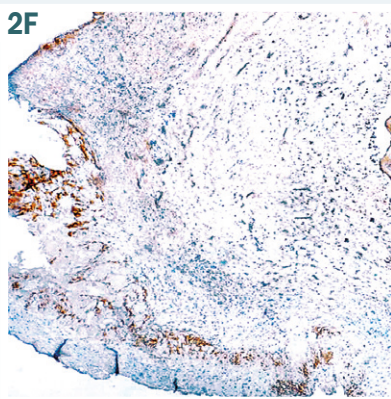
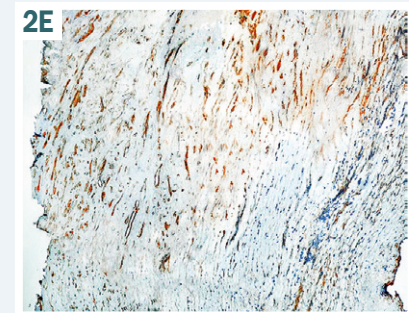
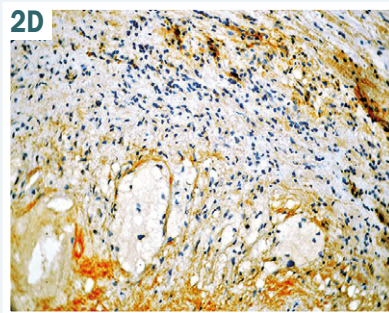
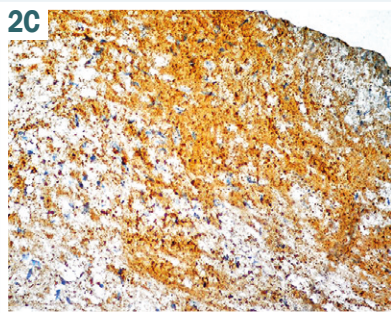


Fig. 2. The expression of I, III and IV types of collagen in carotid AS:
expression of type I collagen: **A:** in atheromatous plaques, **B:** in fibro-muscular plaques;
expression of type III collagen: **C, D:** in atheromatous plaques, **E:** in fibro-fibro-muscular plaques;
expression of IV types of collagen: **F:** in atheromatous plaques, **G:** in fibro-muscular plaques.

Clone RAH C11-0,1; Clone RAH C33, Clone CIV 22 visualization system DAKO EnVision + System with DAB.

Magnification: A, B, E ×100, C, D ×200, F, G ×40.



granular cytoplasmic expression was determined in macrophages and lymphocytes (Fig. 1). The activity of MMP-9 in the studied plaques was parallel to the increase in inflammatory cell infiltration ($P < 0.05$). In areas of cellular infiltration with high expression of MMP-9, the expression of TIMP-1 was negative.

Newly formed vessels in plaques were detected in 94 (28.6 %) cases of operating material. According to the peculiarities of the structure, we have three types of

vessels – sinusoidal, capillary and closed types. Sinusoidal vessels of different diameters were prevalent in the superficial layer, some of them localized in the marginal layers of the plaques, that is, on the border with the preserved or slightly altered inner ICA layer. Most of these vessels are located along the length of the vessel and are sometimes connected to the vascular lumen. In a third of cases, capillary-type vessels were observed among thin-walled sinusoidal vessels. They were located

in groups immediately adjacent to the intraplaque hematoma and foci of hemosiderosis. The third type of vessels in the areas of neovascularization had the structure of closed arteries with thick, relative to their lumen, walls due to the proliferation of SMCs and elastic fibers. Nine cases of closed-type vessels revealed signs of fibrinoid necrosis with pronounced swelling of adjacent tissues, and 12 (3.6 %) of AP had sclerosis with lumen obliteration. Groups of capillaries and sinuses were adjacent to the individual closed arteries. A significant number of thin-walled vessels were found in 20 (6.1 %) plaques, a moderate number in 28 (11.7 %), and single (60 (18.3 %)) vessels; the closed arteries in all plaques were single. In 52 (15.8 %) AP, there was a close location of closed type arteries and thin-walled vessels, suggesting the formation of arterio-venular anastomoses in plaques. Neovascularization in the plaque had a direct correlation with intraplaque hemorrhage ($r = 0.89$; $P < 0.05$).

Intraplaque hemorrhage was observed in 118 (36 %) cases. The hemorrhage foci were of different sizes and spread: small – in 45 (13.7 %) plaques and large – in 73 (22.2 %). Small foci of hemorrhage were localized mainly in the deep layers of AP and didn't disturb its integrity, although they led to an increase in its volume and progression of stenosis. Great focal hemorrhages in 70 (21.3 %) cases were complicated by plaque dissection – multiple or single internal ruptures with a significant dissection hematoma were observed, which in 63 (19.2 %) cases resulted in partial or complete detachment of plaque fragments. Intramural hematomas with plaque dissection and detachment of its fragments formed multiple dissection zones. This led to the development of a multi-storey dissection with involvement of surface and deep layers of the plaque in the process.

The plaque caps consisted of a variety of muscle and connective tissue fibers, often with hyalinosis, which limited foci of atheromatosis or calcification from the lumen of the ICA. Fibroblasts, foamy macrophages and lymphocytes were often identified in fibers in various amounts and ratios. In 93 plaques (28.3 %), the cap was thinned and calcined, with 15 (4.5 %) defective plaque cap, where calcification foci penetrated its surface. In areas of atheromatosis in 22 (6.2 %) plaques, the cap was thinned and consisted of connective tissue. In 83 (25.3 %) cases, atheromatosis revealed ulcerations and destruction of the cap. The sections of the ulcer varied in length and depth. The largest ulcers were determined in 12 (3.6 %) cases and had a length of up to 25 mm with destruction of more than 1/3 of the cap. In 35 (10.6 %) plaque ulcerations were found in the area of thinning with foci of atheromatosis. In 35 (14.7 %) cases, the plaques cap was peeled off and partially detached as a result of intraplaque hemorrhage.

Fresh and organized thrombi were detected on the surface of 85 (25.9 %) AP. Parietal thrombi were observed in 38 (16 %) cases in the areas of thinning and ulceration of the cap with atheromatous masses, in six cases they were located on the unchanged surface of the plaques. Obstructive thrombi were detected in 41 cases (17.2 %). Of these, signs of organization were observed in 12 (3.6 %), in two cases the thrombi were organized. Obstructive thrombus in 20 cases occurred in

the areas of ulceration and thinning of the plaque surface, in other cases – on a sclerosing surface.

Analysis of the expression of types I, III and IV collagen in carotid AS showed the following (Fig. 2).

In complicated atheromatous plaques, collagen type I expression is moderate and predominates in deep AP layers. Immunopositive collagen deposits were located in or near inflammatory infiltrations – between the clumps of foam cells and lymphocytes. Expression of type III collagen in atheromatous plaques is intense and heterogeneous. Immunopositive type III collagen deposits prevailed in the surface layers of AP beyond the foci of atheromatosis and inflammatory infiltration. In the deep layers within the foci of atheromatosis and inflammatory infiltrate the expression of collagen type III is moderate and in some places weakly expressed. In fibro-muscular plaques, collagen type I expression is a clear, almost diffuse, spread. Immunopositive collagen type I deposits are spread along the entire length of the plaque. Type III collagen expression is weak in all plaque layers ($P > 0.05$). The expression of type IV collagen in the plaques of both atheromatous and fibro-muscular muscles was not significantly different ($r = 0.45$; $P > 0.05$). It is weakly expressed, heterogeneous, predominates in the deep layers of the plaque on the border with the unchanged layers of the vascular wall.

Discussion

The pathomorphological study allowed us to distinguish two types of AP among the operating material. The first type is complicated atheromatous unstable plaques with the predominance of atheromatosis foci, lympho-macrophage infiltration, intraplaque hemorrhage, necrosis of fibrous elements and edema. Immunohistochemically, they are characterized by high expression of MMP-9 in macrophages and lymphocytes with degradation of type I collagen in the superficial and deep layers of the plaque coating and its replacement by type III collagen. It is known that AP macrophages produce a significant number of MMPs that are involved in collagen degradation [6,13]. Proteases initiate the process of destruction of the structure of the atheromatous plaque, increasing the likelihood of its separation from the vascular wall and the appearance of emboli, the development of intraplaque hemorrhage [11, 18, 19]. Increased level of MMP-9 leads to the formation of type III collagen from SMCs in the form of thin and less organized fibers. Replacement of organized collagen type I by type III collagen leads to a decrease in the mechanical stability of the fibrous capsule in AP [15,16,24].

The second type of plaque is fibro-muscular AB, stable uncomplicated with the advantage of fibrosis, hyalinosis and petrification. The immunohistochemical structure of such plaques was collagen type I, the expression of collagen type III was low; the expression of MMP-9 was moderate. The expression of type IV collagen in plaques of both atheromatous and fibro-muscle is not significantly different. It is weakly expressed, heterogeneous, predominates in the deep layers of the plaque on the border with the unchanged layers of the vascular wall. It is believed that a decrease in type III collagen

content and an increase in type I and IV collagen leads to increased vessel rigidity, increased brittleness, and a tendency to rupture [15,16].

In order to study the features of the structure of AP in carotid AS, we conducted a study of the major components and processes that determine plaque morphology. In AP of CA structural changes characteristic of severe AS were pathomorphologically revealed: foci of atheromatosis, petrification, edema, necrosis of fibrous elements, newly formed vessels and hemorrhages of varying degrees of prescription, macrophage-lymphocytic infiltration, foci of fibrosis and hyalinosis, parietal and obstructive clots. Most researchers have studied the features of ulcerative plaques as "unstable". An equivalent complication of AP according to our data is intraplaque hemorrhage. The latter are described by other authors as the cause of the sudden sharp increase in the volume of AP and the development of massive ischemic stroke [19,22]. In addition, an increase in plaque volume and, consequently, a decrease in vascular lumen, intraplaque hemorrhage threaten with dissection with impaired plaque integrity and fragments detachment [21,23]. It should be noted that the sizes of detached fragments in intraplaque hemorrhage significantly exceed the size of the embologenic atheromatous masses during ulceration of plaques [2,10,12,23]. This leads to the development of massive high-fatality strokes. This massive embolization was due to the fact that the hemorrhages are localized in the deep layers of the plaque, the stratified intraplaque hematoma causes a detachment of more than 1/2 the volume of the plaque. The pathogenesis of plaque hemorrhage remains to be fully elucidated [1,3,9]. In our opinion, closed-type vessels are formed due to the fact that blood enters the vessels of the plaque from the high-pressure area of the ICA, and thus the arterio-venular anastomoses perform a bypass function. In the case of insufficient function of the closed vessels, the high intra-arterial pressure can be transmitted directly to the thin-walled vessels of the plaque – the source of hemorrhage. The basis for this assumption is the detection of clusters of siderophages around such vessels. This mechanism of intraplaque hemorrhage can be realized with fluctuations in systemic blood pressure, especially when it is raised. Thus, Z. Teng et al. [12,22] also believe that high blood pressure leads to mechanical trauma of the plaque with next rupture of small vessels due to changes in stress-strain state and stress fluctuations. It should be noted that intraplaque hemorrhages among our material acted as components of multicomponent plaques and were combined with foci of atheromatosis, cholesterosis, calcification and lympho-macrophage inflammation. Therefore, another possible mechanism for the development of intraplaque hemorrhage may be laceration in the area of atheromatous plaque due to a sharp rise in blood pressure, followed by rupture of newly formed vessels and the development of local dissection hematoma. Q. J. van den Bouwhuisen et al. [11], after conducting a series of AP studies, tend to believe that hemorrhages can occur even in asymptomatic plaques, which in addition to newly formed vessels contain significant foci of calcification and atheromatosis. This suggests that the development of intraplaque hemorrhage is related to the plaque structure and the distribution of hemodynamic forces.

Conclusions

1. On the basis of pathomorphological analysis of the plaque in carotid AS they can be divided into complicated and uncomplicated. The first type is atheromatous unstable plaques with the prevalence of foci of atheromatosis, lympho-macrophage infiltration, intraplaque hemorrhage, necrosis of fibrous elements and edema. Immunohistochemically, they are characterized by high expression of MMP-9 in macrophages and lymphocytes with degradation of type I collagen in the surface and deep layers of the plaque coating and its replacement by type III collagen ($P < 0.05$). The second type of plaque is stable uncomplicated with the advantage of fibrosis, hyalinosis and petrification. Immunohistochemical structure of plaques was collagen type I, expression of collagen type III was low, expression of MMP-9 was moderate ($P < 0.05$).

2. High expression of MMP-9 in carotid atherosclerosis in macrophage-lymphocytic infiltrates in atheromatosis and neovascularization sites was found to result in degradation of type I collagen with its replacement by type III collagen. Such pathomorphological changes underlie plaque instability – the development of intraplaque hemorrhages, ulcers with embolic complications. Synthesis of collagen type I with low expression of type III collagen and MMP-9 has been found to determine the basis of the structure of fibro-muscular plaques. This ensures their hemodynamic stability and stable vascular stenosis.

Prospects of further research are to carry out a comparative analysis of ultrasonic and pathomorphological structure of carotid plaques with determination of diagnostic difficulties and causes of mismatch of morphological and ultrasonic structure.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 23.08.2019
Після доопрацювання / Revised: 16.09.2019
Прийнято до друку / Accepted: 07.10.2019

Information about author:

Kuzyk Yu. I., MD, PhD, DSc, acting Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pathologist of the CI LRC "Lviv Regional Pathology Bureau", Ukraine.

Відомості про автора:

Кузык Ю. І., д-р мед. наук, в. о. професора каф. патологічної анатомії та судової медицини, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, лікар-патологоанатом КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», Україна.

Сведения об авторе:

Кузык Ю. И., д-р мед. наук, и. о. профессора каф. патологической анатомии и судебной медицины, Львовский национальный медицинский институт имени Данила Галицкого, врач-патологоанатом КЗ ЛОР «Львовское областное патологоанатомическое бюро», Украина.

References

- [1] Anufriev, P. L., Gulevskaya, T. S., & Evdokimenko, A. N. (2013). "Nestabil'naya" struktura ateroskleroticheskikh blashek karotidnogo sinusa i narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya ["Unstable" structure

- of carotid sinus atherosclerotic plaques and disturbances of cerebral blood circulation]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 3, 1-8. [in Russian]. Retrieved from <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9288>
- [2] Anufriev, P. L., Evdokimenko, A. N., & Gulevskaia, T. S. (2018). Infarkty golovnogo mozga pri ateroskleroze arterii vertebro-bazilarnoi sistemy [Cerebral infarctions in vertebrobasilar artery atherosclerosis]. *Arkhiv patologii*, 80(1), 3-10. [in Russian]. <https://doi.org/10.17116/patol20188013-10>
- [3] Hetterich, H., Webber, N., Willner, M., Herzen, J., Birnbacher, L., Hipp, A., . . . Saam, T. (2016). AHA classification of coronary and carotid atherosclerotic plaques by grating-based phase-contrast computed tomography. *European Radiology*, 26(9), 3223-3233. <https://doi.org/10.1007/s00330-015-4143-z>
- [4] Tan, F. P. P., Soloperto, G., Bashford, S., Wood, N. B., Thom, S., Hughes, A., & Xu, X. Y. (2008). Analysis of Flow Disturbance in a Stenosed Carotid Artery Bifurcation Using Two-Equation Transitional and Turbulence Models. *Journal of Biomechanical Engineering-Transactions of the Asme*, 130(6). <https://doi.org/10.1115/1.2978992>
- [5] Birchall, D., Zaman, A., Hacker, J., Davies, G., & Mendelow, D. (2006). Analysis of haemodynamic disturbance in the atherosclerotic carotid artery using computational fluid dynamics. *European Radiology*, 16(5), 1074-1083. <https://doi.org/10.1007/s00330-005-0048-6>
- [6] Tan, C. H., Liu, Y., Li, W. N., Deng, F., Liu, X., Wang, X., . . . Chen, L. F. (2014). Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentrations with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness. *Atherosclerosis*, 232(1), 199-203. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.11.040>
- [7] Silvestre-Roig, C., de Winther, M. P., Weber, C., Daemen, M. J., Lutgens, E., & Soehnlein, O. (2014). Atherosclerotic Plaque Destabilization Mechanisms, Models, and Therapeutic Strategies. *Circulation Research*, 114(1), 214-226. <https://doi.org/10.1161/circresaha.114.302355>
- [8] Bijari, P. B., Wasserman, B. A., & Steinman, D. A. (2014). Carotid Bifurcation Geometry Is an Independent Predictor of Early Wall Thickening at the Carotid Bulb. *Stroke*, 45(2), 473-478. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.113.003454>
- [9] Flaherty, M. L., Kissela, B., Khoury, J. C., Alwell, K., Moomaw, C. J., Woo, D., . . . Kleindorfer, D. (2013). Carotid Artery Stenosis as a Cause of Stroke. *Neuroepidemiology*, 40(1), 36-41. <https://doi.org/10.1159/000341410>
- [10] Gupta, A., Baradaran, H., Schweitzer, A. D., Kamel, H., Pandya, A., Delgado, D., . . . Sanelli, P. C. (2013). Carotid Plaque MRI and Stroke Risk A Systematic Review and Meta-analysis. *Stroke*, 44(11), 3071-3077. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.113.002551>
- [11] Van den Bouwhuisen, Q. J. A., Bos, D., Ikram, M. A., Hofman, A., Krestin, G. P., Franco, O. H., . . . Vernooij, M. W. (2015). Coexistence of Calcification, Intraplaque Hemorrhage and Lipid Core within the Asymptomatic Atherosclerotic Carotid Plaque: The Rotterdam Study. *Cerebrovascular Diseases*, 39(5-6), 319-324. <https://doi.org/10.1159/000381138>
- [12] Teng, Z. Z., He, J., Degnan, A. J., Chen, S. Y., Sadat, U., Bahaei, N. S., . . . Gillard, J. H. (2012). Critical mechanical conditions around neovessels in carotid atherosclerotic plaque may promote intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis*, 223(2), 321-326. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.015>
- [13] Jager, N. A., Vries, B. M. W., Hillebrands, J. L., Harlaar, N. J., Tio, R. A., Slart, R., . . . Westra, J. (2016). Distribution of Matrix Metalloproteinases in Human Atherosclerotic Carotid Plaques and Their Production by Smooth Muscle Cells and Macrophage Subsets. *Molecular Imaging and Biology*, 18(2), 283-291. <https://doi.org/10.1007/s11307-015-0882-0>
- [14] Uslu, B., Cakmak, Y. O., Sehirli, U., Keskinoz, E. N., Cosgun, E., Arbak, S., & Yalin, A. (2016). Early Onset of Atherosclerosis of The Carotid Bifurcation in Newborn Cadavers. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(5), AC1-AC5. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/19827.7706>
- [15] Fields, G. B. (2013). Interstitial Collagen Catabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 288(13), 8785-8793. <https://doi.org/10.1074/jbc.R113.451211>
- [16] Libby, P. (2013). Collagenases and cracks in the plaque. *Journal of Clinical Investigation*, 123(8), 3201-3203. <https://doi.org/10.1172/jci67526>
- [17] Lim, S. N., Chang, Y. J., & Lin, S. K. (2016). Extracranial Carotid Artery Disease Risk Factors and Outcomes in Patients With Acute Critical Hemispheric Ischemic Stroke. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 35(2), 341-348. <https://doi.org/10.7863/ultra.15.03070>
- [18] Makris, G. C., Nicolaidis, A. N., Xu, X. Y., & Geroulakos, G. (2010). Introduction to the biomechanics of carotid plaque pathogenesis and rupture: review of the clinical evidence. *British Journal of Radiology*, 83(993), 729-735. <https://doi.org/10.1259/bjrl/49957752>
- [19] Bentzon, J. F., Otsuka, F., Virmani, R., & Falk, E. (2014). Mechanisms of Plaque Formation and Rupture. *Circulation Research*, 114(12), 1852-1866. <https://doi.org/10.1161/circresaha.114.302721>
- [20] Huang, X., Yin, X. P., Xu, Y. J., Jia, X. W., Li, J. H., Niu, P., . . . Huo, Y. L. (2016). Morphometric and hemodynamic analysis of atherosclerotic progression in human carotid artery bifurcations. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 310(5), H639-H647. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00464.2015>
- [21] Michel, J. B., Martin-Ventura, J. L., Nicoletti, A., & Ho-Tin-Noe, B. (2014). Pathology of human plaque vulnerability: Mechanisms and consequences of intraplaque haemorrhages. *Atherosclerosis*, 234(2), 311-319. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.020>
- [22] Teng, Z. Z., Sadat, U., Brown, A. J., & Gillard, J. H. (2014). Plaque hemorrhage in carotid artery disease: Pathogenesis, clinical and biomechanical considerations. *Journal of Biomechanics*, 47(4), 847-858. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2014.01.013>
- [23] Altaf, N., Kandiyil, N., Hosseini, A., Mehta, R., MacSweeney, S., & Auer, D. (2014). Risk Factors Associated With Cerebrovascular Recurrence in Symptomatic Carotid Disease: A Comparative Study of Carotid Plaque Morphology, Microemboli Assessment and the European Carotid Surgery Trial Risk Model. *Journal of the American Heart Association*, 3(3). <https://doi.org/10.1161/jaha.113.000173>
- [24] Van Doren, S. R. (2015). Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin. *Matrix Biology*, 44-46, 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.005>
- [25] De Wilde, D., Trachet, B., Van Der Donck, C., Vandeghinste, B., Descamps, B., Vanhove, C., . . . Segers, P. (2015). Vulnerable plaque detection and quantification with gold particle-enhanced computed tomography in atherosclerotic mouse models. *Molecular Imaging*, 14(4). <https://doi.org/10.2310/7290.2015.00009>

Субклінічні ознаки атеросклеротичного ремоделювання судин артеріального русла у хворих на ревматоїдний артрит

І. М. Фуштей*^F, О. В. Ткаченко^{A,B,C,E}, С. Л. Подсевахіна^D, О. І. Паламарчук^E

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

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:

ревматоїдний артрит, атеросклероз, артеріальні судини, кардіоваскулярний ризик.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 362–367

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188882

*E-mail: I_Fushtey@ukr.net

Мета роботи – вивчити структурно-функціональний стан артеріальної стінки у хворих на ревматоїдний артрит (РА) залежно від тривалості захворювання, серопозитивності за ревматоїдним фактором (РФ)/антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (АЦЦП) та активності захворювання.

Матеріали та методи. Обстежили 82 пацієнтів з РА: 19 чоловіків (23,1 %) і 63 жінки (76,9 %), середній вік становив $37,6 \pm 5,1$ року. Група контролю – 30 клінічно здорових осіб. Усім пацієнтам вимірювали діаметр і товщину комплексу інтима-медіа (КІМ) загальних сонних артерій (ЗСА), розраховували індекс жорсткості.

Результати. 47,5 % (n = 39) пацієнтів мали РА з тривалістю анамнезу хвороби менше ніж 3 роки, у 52,5 % хворих (n = 43) тривалість РА перевищувала 3-річний період. У 48 (58,5 %) хворих виявили РФ/АЦЦП-серопозитивний варіант РА, у 34 (41,5 %) пацієнтів – РФ/АЦЦП-серонегативний варіант захворювання. Серед усіх обстежених хворих із РА найвищі значення товщини КІМ ЗСА виявили в пацієнтів із тривалим (понад 3 роки) анамнезом РФ/АЦЦП – серопозитивного РА; у хворих цієї групи також визначили вищий індекс жорсткості ЗСА, що характеризує локальну (каротидну) ригідність судинної стінки. Кореляційний аналіз виявив наявність прямих зв'язків між DAS28 і КІМ ЗСА, тривалістю РА та індексом жорсткості ЗСА, товщиною КІМ ЗСА, а також між величиною КІМ ЗСА і рівнем РФ, АЦЦП, що показує істотний внесок активності та тривалості перебігу аутоімунного запалення при РА у зміну архітекtonіки судинної стінки.

Висновки. Результати свідчать про наявність у хворих на РА без серцево-судинних захворювань субклінічного ураження ЗСА, більш вираженого при тривалому перебігу (понад 3 роки) серопозитивного за РФ/АЦЦП варіанті захворювання.

Ключевые слова:

ревматоидный артрит, атеросклероз, артериальные сосуды, кардиоваскулярный риск.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 362–367

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188882

*E-mail: I_Fushtey@ukr.net

Субклинические признаки атеросклеротического ремоделирования сосудов артериального русла у больных с ревматоидным артритом

І. М. Фуштей, О. В. Ткаченко, С. Л. Подсевахіна, А. І. Паламарчук

Цель работы – изучить структурно-функциональное состояние артериальной стенки у больных ревматоидным артритом (РА) в зависимости от длительности заболевания, серопозитивности по ревматоидному фактору (РФ)/антител к циклическому цитрулинованному пептиду (АЦЦП) и активности заболевания.

Материалы и методы. Обследованы 82 пациента с РА: 19 мужчин (23,1 %) и 63 женщины (76,9 %), средний возраст – $37,6 \pm 5,1$ года. Группу контроля составили 30 клинически здоровых лиц. Всем пациентам проводили измерение диаметра и толщины комплекса интима-медиа (КИМ) общих сонных артерий (ОСА), рассчитывали индекс жесткости.

Результаты. 47,5 % (n = 39) пациентов имели РА с длительностью анамнеза болезни менее 3 лет, у 52,5 % больных (n = 43) длительность РА превышала 3-летний период. У 48 (58,5 %) больных имел место РФ/АЦЦП-серопозитивный вариант РА, у 34 (41,5 %) пациентов – РФ/АЦЦП-серонегативный вариант заболевания. Среди всех обследованных больных с РА наиболее высокие значения толщины КИМ ОСА отмечены у пациентов с длительным (более 3 лет) анамнезом РФ/АЦЦП-серопозитивного РА; у больных этой группы также определен более высокий индекс жесткости ОСА, характеризующий локальную (каротидную) ригидность сосудистой стенки. Корреляционный анализ показал наличие прямых связей между DAS28 и КИМ ОСА, длительностью РА и индексом жесткости ОСА, толщиной КИМ ОСА, а так же между величиной КИМ ОСА и уровнем РФ, АЦЦП, что отражает существенный вклад активности и длительности течения аутоиммунного воспаления при РА в изменения архитектоники сосудистой стенки.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о наличии у больных РА при отсутствии сердечно-сосудистых заболеваний субклинического поражения ОСА, более выраженного при длительном течении (более 3 лет) серопозитивного по РФ/АЦЦП варианта заболевания.

Key words:

rheumatoid arthritis, arteriosclerosis, arterial vessels, cardiovascular risk.

Pathologia 2019; 16 (3), 362–367

Subclinical features of atherosclerotic remodeling of arteries in patients with rheumatoid arthritis

I. M. Fushtei, O. V. Tkachenko, S. L. Podsevakhina, O. I. Palamarchuk

The aim of the research – to study the structural-functional state of artery walls in patients with rheumatoid arthritis depending of disease duration, seropositivity for rheumatoid factor/ cyclic citrullinated peptide antibodies, disease activity.

Materials and methods. 82 patients with rheumatoid arthritis were investigated: 19 men (23.1 %) and 63 women (76.9 %), the average age of whom was (37.6 ± 5.1) years old. The control group consisted of 30 apparently healthy persons. In all the patients measurements of diameter and thickness of intima-media complex of common carotid arteries were carried out, the stiffness index was calculated.

Results. 47.5 % ($n = 39$) of patients had rheumatoid arthritis with the present illness duration less than 3 years, in 52.5 % of patients ($n = 43$) the duration of rheumatoid arthritis was more than 3 years. In 48 (58.5 %) of patients rheumatoid factor/cyclic citrullinated peptide antibodies were present – seropositive variant of rheumatoid arthritis, in 34 (41.5 %) patients – rheumatoid factor/cyclic citrullinated peptide antibodies seronegative variant of the disease. Within all investigated patients with rheumatoid arthritis the highest rates of intima-media thickness complex of common carotid arteries were detected in patients with longer-term (more than 3 years) present illness rheumatoid factor/cyclic citrullinated peptide antibodies of seropositive rheumatoid arthritis; in patients of this group higher stiffness index of common carotid arteries was also detected that characterizes the local (carotid) rigidity of artery wall.

Correlation analysis showed the existence of direct relationship between DAS28 and intima-media complex of common carotid arteries, the duration of rheumatoid arthritis and stiffness index of intima-media complex of common carotid arteries, and also between their size and the level of rheumatoid factor, cyclic citrullinated peptide antibodies, which shows the substantial contribution of activity and duration of autoimmune inflammation course in rheumatoid arthritis to changes of common carotid arteries architectonics.

Conclusions. The data obtained demonstrate the existence of subclinical lesion of common carotid arteries in patients with rheumatoid arthritis and absence of cardiovascular diseases, more significant in long-term course (more than 3 years) of seropositive for rheumatoid factor/ cyclic citrullinated peptide antibodies disease variant.

Медико-соціальна значущість ревматоїдного артриту (РА) зумовлена чималою поширеністю та важким перебігом захворювання, що неухильно прогресує, ранньою інвалідизацією, скороченням тривалості життя хворих, а також відсутністю позитивної динаміки серцево-судинної захворюваності та смертності при РА, незважаючи на вагомий досягнення в їхньому зниженні в загальній популяції протягом останніх десятиліть [1,2]. Серед причин високого кардіоваскулярного ризику (КВР) у хворих на РА вирізняють сукупність факторів, що включають накопичення традиційних факторів ризику (ТФР) серцево-судинних захворювань (ССЗ), персистенція хронічного аутоімунного запалення, тривалу терапію базисними протизапальними препаратами (БПЗП) і високу поширеність коморбідних станів [3,4]. Незважаючи на дослідження багатьох вітчизняних і закордонних вчених, питання патофізіологічних механізмів розвитку та прогресування ССЗ при РА залишаються предметом наукових дискусій [5,6].

Результати досліджень свідчать: якщо маніфестацію клінічного атеросклерозу (стенокардія, інфаркт міокарда (ІМ), ураження мозкових і периферичних артерій) спостерігають приблизно у 20–25 % пацієнтів із РА [2], то субклінічні його прояви, що включають дисфункцію ендотелію, зниження еластичності дрібних і великих судин, підвищення судинної резистентності, збільшення товщини комплексу інтима-медіа (КІМ) сонних артерій і формування атеросклеротичних бляшок, реєструють у 35–50 % цих хворих [7,8]. Встановлено, що в пацієнтів із РА стандартизований коефіцієнт смертності від серцево-судинних катастроф (ІМ, інсульту та раптової серцевої смерті) підвищений у 1,5 рази порівняно з загальною популяцією [9]. Ці дані дають можливість розглядати кардіоваскулярну патологію як один із позасуглобових проявів РА [8], наявність якої позиціонується як предиктор несприятливого прогнозу в таких хворих [10].

Дослідженнями останніх років встановлена залежність між частотою виникнення серцево-су-

динних ускладнень і процесами ремоделювання артеріального русла, що включають порушення пружно-еластичних і структурно-функціональних властивостей судинної стінки, а зниження податливості та збільшення жорсткості артеріального річища позиціонується як незалежний чинник ризику розвитку ССЗ [11,12]. Однак при РА патогенетичні механізми формування артеріальної ригідності потребують уточнення у зв'язку з недостатньою вивченістю та суперечливістю даних.

Важливість оцінювання предикторів атеросклерозу й ризику розвитку серцево-судинних ускладнень при РА не викликає сумнівів, особливо враховуючи відсутність дотепер загальної стратегії з контролю та запобігання кардіоваскулярним ускладненням, що передбачає ранній моніторинг як ТФР, так і індивідуальних особливостей перебігу захворювання.

Мета роботи

Вивчити структурно-функціональний стан артеріальної стінки у хворих на РА залежно від тривалості захворювання, серопозитивності за ревматоїдним фактором (РФ)/антитіл до циклічного цитрулінованого пептиду (АЦЦП) та активності захворювання.

Матеріали і методи дослідження

Для реалізації мети на базі ревматологічного відділення КНП «Міська лікарня № 10 ЗМП» обстежили 82 пацієнтів. Усі підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Середній вік хворих становив $37,6 \pm 5,1$ року. Обстежили 19 чоловіків (23,1 %) і 63 жінки (76,9 %), тобто переважали жінки (1:3), що відповідає даним фахової літератури про статевий диморфізм хворих на РА [1]. Діагноз РА встановили за класифікаційними критеріями American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) (2010).

Кількісне оцінювання активності РА здійснили, використавши індекс DAS 28 (Disease Activity Score),

Таблиця 1. Клінічна характеристика хворих на РА (n = 82)

Показник, одиниці вимірювання	Значення
Стать, ч/ж, n (%)	19 (23,1) / 63 (76,9)
Вік, роки (M ± m)	37,6 ± 5,1
Загальний холестерин, ммоль/л (Me [25Q;75Q])	4,2 [3,7; 5,1]
ЛПВЩ, ммоль/л (Me [25Q; 75Q])	1,62 [1,23;1,89]
ЛПНЩ, ммоль/л (Me [25Q; 75Q])	2,4 [2,29; 3,14]
Індекс атерогенності, ум. од. (Me [25Q; 75Q])	2,6 [1,7; 3,1]
КВР за шкалою SCORE, n (%): низький / помірний / високий / дуже високий	17 (21,5) / 52 (63) / 13 (15,5) / 0
Тривалість РА, місяці (Me [25Q; 75Q])	28,6 [9,1; 47,8]
Позасуглобові прояви, n (%)	62 (75,4)
ВАШ біль, мм (Me [25Q; 75Q])	59,2 [48,0; 64,9]
DAS 28, бали (Me [25Q; 75Q])	5,2 [4,2; 6,6]
ШОЕ, мм/ч (Me [25Q; 75Q])	41,6 [33,5; 49,6]
СРБ, мг/мл (Me [25Q; 75Q])	21,8 [15,7; 28,3]
Імунологічний субтип РА (за РФ і/або АЦЦП), n (%): негативний / позитивний	34 (41,5) / 48 (58,5)

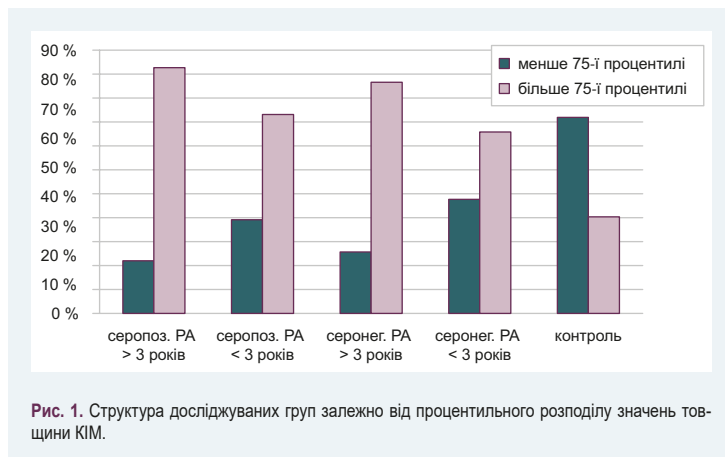


Рис. 1. Структура досліджуваних груп залежно від перцентильного розподілу значень товщини КІМ.

що рекомендований EULAR. Розраховували індекс DAS 28 за формулою:

$$\text{DAS 28} = 0,56 \times (t\ 28) + 0,28 \times (\text{ЧПС 28}) + 0,70 \times \ln(\text{ШОЕ}) + 0,014 \times 3\text{СЗ},$$

де t 28 – кількість суглобів, що болять, із 28 суглобів; ЧПС 28 – кількість суглобів із набряком із 28 суглобів.

Візуалізацію загальних сонних артерій виконували, використовуючи метод дуплексного сканування в М- і В-режимах після 10-хвилинного відпочинку пацієнта на ультразвуковому комплексі ULTIMAPRO-30, що оснащений лінійним датчиком 7,5 МГц. У М-режимі вимірювали діаметр просвіту загальної сонної артерії (ЗСА) в систолу та діастолу, для порівняння між групами вираховували середнє значення, що дорівнює сумі систолічного й діастолічного діаметрів.

Вимірювання товщини КІМЗСА здійснювали у В-режимі відповідно до стандартного протоколу на трьох рівнях судинного рiчища та білатерально: у проксимальній, медіальній і дистальній точках протягом 1 см від біфуркації по задній стінці загальної сонної артерії з обох боків. Надалі розраховували середню товщину КІМ як середнє з усіх 12 вимірювань.

За рекомендаціями ASE Consensus Statement [13], для оцінювання товщини КІМ використовували середні значення, що отримані в carotid Atherosclerosis

Progression Study [13]. Показники понад 75-й перцентиль у відповідній віковій групі вважали високими, вони відповідали збільшенню КВР [14]. Для оцінювання структурно-функціональних властивостей ЗСА визначали індекс жорсткості (stiffness index β), який характеризує локальну ригідність судинного рiчища. Індекс жорсткості обраховували за формулою:

$$\beta = \log(\text{САТ/ДАТ}) / (\Delta\text{Д/Д}) \text{ (ум. од.)},$$

де Д – діаметр ЗСА в діастолу; $\Delta\text{Д}$ – різниця діаметрів ЗСА в систолу і діастолу; САТ – систолічний артеріальний тиск (АТ); ДАТ – діастолічний АТ.

Група контролю – 30 практично здорових осіб віком $38,8 \pm 4,7$ року (25 (85,5 %) жінок і 5 (14,5 %) чоловіків).

Статистичне опрацювання даних виконали, використовуючи пакет прикладних програм PSPP (version 1.0.1, GNU Project, 1988–2017). У процесі аналізу використовували методи параметричної та непараметричної варіаційної статистики. Характер розподілу варіант визначали за критерієм Колмогорова–Смирнова, рівність генеральних дисперсій контролювали за допомогою F-критерію Фішера. Результати, що одержали, наведені як середні значення (M) \pm стандартне відхилення (s) у разі нормального розподілу змінних або медіани (Me) з інтерквартильним розмахом 25–75 перцентиль [25Q; 75Q] при розподілі, що відмінний від нормального. Для оцінювання взаємозв'язку між кількісними параметрами застосовували метод рангової кореляції Спірмена (r).

Результати

Серед 82 пацієнтів із РА 47,5 % (n = 39) мали РА з тривалістю анамнезу хвороби менше ніж 3 роки, у 52,5 % хворих (n = 43) тривалість РА перевищувала 3-річний період (табл. 1).

У 48 (58,5 %) хворих виявили РФ/АЦЦП-серопозитивний варіант РА, у 34 (41,5 %) пацієнтів – РФ/АЦЦП-серонегативний варіант захворювання. DAS 28 становив 5,2 [4,2; 6,6] бала, тобто в пацієнтів виділяли помірний і високий ступінь активності РА. Загальний стан здоров'я за 100-мм візуальною аналоговою шкалою становив 59,2 [48,0; 64,9] мм. Як базисну протизапальну терапію хворі на РА отримували метотрексат (10,0–15,0 мг/тиждень), серед них 58 % пацієнтів на тлі метотрексату приймали системні глюкокортикостероїди (метилпреднізолон у середній дозі $16,5 \pm 4,5$ мг/добу). Серед пацієнтів, які були залучені в дослідження, у 13 (15,5 %) хворих встановили обтяжений за ССЗ сімейний анамнез. Під час оцінювання за шкалою SCORE у 63,0 % і 21,5 % хворих встановили помірний (n = 52) або низький (n = 17) КВР відповідно, що не суперечить даним епідеміологічних досліджень, які виконані в популяції хворих на РА [3]. У всіх пацієнтів із РА без клінічних проявів ССЗ показники ліпідного спектра крові були в межах референтних значень, що визначаються як нормальні або «цільові».

Аналіз результатів вимірювань товщини КІМ загальної сонної артерії показав статистично значуще збільшення товщини КІМ у всіх групах хворих на РА порівняно з контролем. Встановили, що частка

Таблиця 2. Порівняльна характеристика структурно-функціональних показників ЗСА у хворих на РА залежно від тривалості захворювання та серопозитивності за РФ/АЦЦП (n = 82)

Показник (одиниці вимірювання)	Контроль (n = 30)	Серонегативний РА (n = 34)		Серопозитивний РА (n = 48)	
		Менше ніж 3 роки (n = 16)	Понад 3 роки (n = 18)	Менше ніж 3 роки (n = 23)	Понад 3 роки (n = 25)
Діаметр ЗСА (мм) $p_{1,2} = 0,087$; $p_{1,4} = 0,062$; $p_{2,3} = 0,056$; $p_{2,4} = 0,075$; $p_{3,5} = 0,085$; $p_{4,5} = 0,081$	6,0 [5,4; 6,7]	6,0 [5,6; 6,4]	5,9 [5,3; 6,6]	5,8 [5,4; 6,6]	6,0 [5,3; 6,9]
Товщина КІМ ЗСА (мм) $p_{1,2} = 0,012$; $p_{1,4} = 0,004$; $p_{2,3} = 0,038$; $p_{2,4} = 0,041$; $p_{3,5} = 0,018$; $p_{4,5} = 0,001$	0,56 [0,5; 0,7]	0,71 [0,58; 0,91]	0,88 [0,65; 1,04]	0,84 [0,62; 0,98]	0,99 [0,68; 1,18]
Індекс жорсткості (ум.од) $p_{1,2} = 0,014$; $p_{1,4} = 0,001$; $p_{2,3} = 0,003$; $p_{2,4} = 0,022$; $p_{3,5} = 0,008$; $p_{4,5} = 0,005$	3,6 [2,8; 4,9]	4,8 [3,9; 5,8]	6,5 [5,9; 8,1]	5,6 [4,9; 6,8]	7,2 [5,7; 9,3]

пацієнтів із РА, товщина КІМ ЗСА яких перевищувала значення 75 перцентилі, що відповідає високому КВР, становила 74 % (n = 61) і була значущо вища, ніж у групі здорових осіб – 33 % (n = 21) (рис. 1).

У хворих із серонегативним за РФ/АЦЦП варіантом РА спостерігали збільшення частоти виявлення потовщення КІМ ЗСА зі збільшенням тривалості захворювання. Так, якщо при анамнезі хвороби менше ніж 3 роки потовщення КІМ ЗСА виявлені у 62 % хворих, то при тривалості РА понад 3 роки подібні зміни визначили у 79 %, що на 29 % і 46 % (p < 0,001) відповідно частіше, ніж у групі контролю. Максимальна частота потовщення КІМ ЗСА (84 % хворих) визначена при тривалості РФ/АЦЦП-серопозитивного РА понад 3 роки, що на 16 % (p < 0,001) перевищувало частку пацієнтів із тривалістю РА менше ніж 3 роки, і в середньому на 6,5 % (p < 0,05) діагностована частіше, ніж у хворих при аналогічній тривалості серонегативного за РФ/АЦЦП варіанта захворювання.

Вивчаючи структурно-функціональні показники ЗСА у хворих РА з різними клініко-імунологічними варіантами та тривалістю захворювання, статистично значущі зміни діаметра ЗСА не виявили (табл. 2).

При РФ/АЦЦП-серонегативному РА середньогрупове значення товщини КІМ у хворих із тривалістю захворювання менше ніж 3 роки були на 19,3 % (p = 0,038) менше ніж відповідний показник у хворих з анамнезом хвороби понад 3 роки, на 21,1 % (p = 0,012) перевищуючи показник у групі контролю. У групі хворих із серопозитивним за РФ/АЦЦП варіанті з тривалістю РА менше ніж 3 роки відбувалося збільшення КІМ ЗСА в середньому в 1,5 раза (p = 0,004) порівняно з контролем, середнє групове значення цього показника було на 16 % (p = 0,001) менше, ніж у хворих з анамнезом хвороби понад 3 роки.

Серед усіх обстежених хворих на РА найбільше значення товщини КІМ ЗСА (0,99 [0,68; 1,18] мм) виявили в пацієнтів із тривалим (понад 3 роки) анамнезом РФ/АЦЦП-серопозитивного РА, що в середньому на 12 % (p = 0,018) перевищувало показник у хворих з аналогічним за тривалістю анамнезом серонегативного за РФ/АЦЦП варіанта захворювання.

Визначення індексу жорсткості ЗСА (stiffness index β) у хворих із тривалістю серонегативного захворювання менше ніж 3 роки показало його збільшення в середньому на 25,3 % (p = 0,014) порівняно з контролем і на 35,7 % (p = 0,008) щодо групи РФ/АЦЦП-серопозитивних пацієнтів. При тривалості РФ/АЦЦП-серопозитивного варіанта РА понад 3 роки цей показник в 1,3 раза (p = 0,005) перевищував його зна-

чення у групі хворих з анамнезом хвороби менше ніж 3 роки і в середньому на 18 % (p = 0,008) був вищим, ніж у хворих із такою самою тривалістю серонегативного РФ/АЦЦП варіанта захворювання.

Обговорення

Науково-практичний інтерес вивчення структурно-функціональних властивостей судинного русла при РА визначається наявністю доволі тривалого субклінічного періоду процесу його ремоделювання при атерогенезі, що визначає можливість діагностики та корекції виявлених порушень на доклінічному етапі. Одним із загальноприйнятих підходів до вивчення ранніх стадій атеросклерозу та структурних змін великих судин у клінічних умовах є вимірювання товщини КІМ ЗСА [13,15]. За даними популяційних досліджень, збільшення товщини КІМ сонних артерій є прогностичним фактором серцево-судинних ускладнень [14,16].

Результати свідчать про наявність у хворого на РА патологічного ремоделювання ЗСА, які характеризуються збільшенням товщини комплексу КІМ та індексу жорсткості ЗСА, що прогресує зі збільшенням тривалості захворювання. Крім того, встановлено, що найбільші зміни показників, що характеризують локальну жорсткість ЗСА, є у хворих серопозитивних за РФ/АЦЦП варіантом захворювання.

З огляду на те, що в клінічному аспекті найбільш стабільним маркером активності запалення при РА є СРБ, оцінювали його вміст у сироватці крові хворих із різними клініко-імунологічними варіантами та тривалістю РА. У хворих із тривалістю серопозитивного варіанта РА менше ніж 3 роки встановлена вища сироваткова концентрація СРБ порівняно з серонегативним РА (8,1 [7,8; 13,3] мг/л, p = 0,042). Визначення рівня СРБ у сироватці крові хворих із серонегативним за РФ/АЦЦП РА показало значущо більшу концентрацію СРБ при анамнезі хвороби понад 3 роки, яка в середньому на 28,6 % (p = 0,05) перевищувала його вміст у хворих із тривалістю захворювання менше ніж 3 роки. При тривалості серопозитивного за РФ/АЦЦП варіанта РА понад 3 роки вміст СРБ був в 1,3 раза (p = 0,05) більше показника у групі пацієнтів з анамнезом хвороби менше ніж 3 роки і в 1,6 раза (p = 0,001) вище, ніж у хворих з аналогічною тривалістю серонегативного варіанта РА.

Результати кореляційного аналізу показали наявність прямих зв'язків між DAS28 і товщиною КІМ ЗСА (r = 0,45, p = 0,008), тривалістю РА та індексом жорсткості ЗСА (r = 0,48, p = 0,028), товщиною КІМ ЗСА (r = 0,51, p = 0,04). Також виявлено кореляцію вели-

чини КІМ ЗСА з рівнем РФ і АЦЦП ($r = 0,49$, $p = 0,04$ і $r = 0,45$, $p = 0,003$ відповідно). Отже, дані кореляційного аналізу підтверджують суттєвий внесок активності та тривалості перебігу аутоімунного запалення при РА в зміни архітекtonіки судинної стінки.

Крім того, встановили, що процес ремоделювання ЗСА при РА має дезадаптивний характер та асоційований із потовщенням КІМ і підвищенням індексу жорсткості на тлі збереженого діаметра артерій. Відомо, що процес ремоделювання артерій характеризується потовщенням tunica media, зменшенням просвіту судини та збільшенням позаклітинного матриксу [17]. На прикладі хворих з артеріальною гіпертензією доведено: зміни в судинах еластичного та м'язового типу мають різний характер. Так, у великих еластичних артеріях, як-от аорта та сонна артерія, відбувається «пасивне» збільшення їхнього діаметра, тобто підвищений тиск розтягує артеріальну стінку, а потовщена інтима-медіа нормалізує її напругу [18,19]. У разі нормотензії, ймовірно, відсутній такий елемент, як виснажливий вплив високого рівня артеріального тиску, особливо його пульсаційного компонента, на такі елементи судинної стінки, як еластин і колаген, що певною мірою не сприяє дегенеративним змінам судинної стінки та запобігає розширенню її інтрадвентриціального діаметра.

В основі ремоделювання артерій великого калібру та погіршення еластичних властивостей ЗСА в обстежених хворих на РА передусім лежить розвиток ендотеліальної дисфункції, істотний внесок у розвиток якої робить хронічне імунне запалення. Підтвердженням є факт найбільших порушень структурно-функціонального стану ЗСА при РФ/АЦЦП-серопозитивному варіанті захворювання з тривалістю анамнезу понад 3 роки, для яких характерні найбільш виражені зміни імунного статусу та ендотеліальної функції.

Висновки

1. Серед обстежених хворих на РА найбільші значення товщини КІМ ЗСА виявили в пацієнтів із тривалим (понад 3 роки) анамнезом РФ/АЦЦП-серопозитивного РА; у хворих цієї групи також визначений вищий індекс жорсткості ЗСА (stiffness index β), що характеризує локальну (каротидну) ригідність судинної стінки.

2. Кореляційний аналіз показав наявність прямих зв'язків між DAS28 і КІМ ЗСА, тривалістю РА та індексом жорсткості ЗСА, товщиною КІМ ЗСА, а також між величиною КІМ ЗСА й рівнем РФ, АЦЦП, що показує істотний внесок активності та тривалості перебігу аутоімунного запалення при РА у зміну архітекtonіки судинної стінки.

3. Результати свідчать про наявність у хворих із РА за відсутності серцево-судинних захворювань субклінічного ураження ЗСА, більш вираженого при тривалому перебігу (понад 3 роки) серопозитивного за РФ/АЦЦП варіанті захворювання.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні механізмів ремоделювання артеріального річища у хворих на РА в поєднанні з артеріальною гіпертензією та впливу різних видів базисних препаратів на ремоделювання судинної стінки.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України» «Перебіг артеріальної гіпертензії в поєднанні з запальними захворюваннями легень та суглобів як прояви коморбідності: традиційні та додаткові фактори ризику кардіоваскулярних подій, механізми розвитку, діагностики і лікування» (№ держреєстрації 0115U000658).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 16.10.2019

Після доопрацювання / Revised: 20.11.2019

Прийнято до друку / Accepted: 25.11.2019

Відомості про авторів:

Фуштей І. М., д-р мед. наук, професор каф. терапії, клінічної фармакології та ендокринології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».
ORCID ID: 0000-0001-5629-5264

Ткаченко О. В., д-р мед. наук, доцент каф. терапії, клінічної фармакології та ендокринології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».
ORCID ID: 0000-0003-1454-4837

Подсевахіна С. Л., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. терапії, клінічної фармакології та ендокринології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».
ORCID ID: 0000-0001-7851-1706

Паламарчук О. І., канд. мед. наук, доцент каф. терапії, клінічної фармакології та ендокринології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».
ORCID ID: 0000-0003-3159-3649

Сведения об авторах:

Фуштей И. М., д-р мед. наук, профессор каф. терапии, клинической фармакологии и эндокринологии, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Ткаченко О. В., д-р мед. наук, доцент каф. терапии, клинической фармакологии и эндокринологии, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Подсевахина С. Л., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. терапии, клинической фармакологии и эндокринологии, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Паламарчук А. И., канд. мед. наук, доцент каф. терапии, клинической фармакологии и эндокринологии, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Information about authors:

Fushtei I. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Therapy, Clinical Pharmacology and Endocrinology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Tkachenko O. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Therapy, Clinical Pharmacology and Endocrinology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Podsevakhina S. L., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Therapy, Clinical Pharmacology and Endocrinology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Palamarchuk O. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Therapy, Clinical Pharmacology and Endocrinology, State Institution "Zaporizhzhia Medical Academy of Post-Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Список літератури

[1] The new 2010 ACR/EULAR criteria as predictor of clinical and radiographic response in patients with early arthritis/ R. B. Mueller,

- M. Schiff, T. Kaegi et al. *Clinical Rheumatology*. 2015. Vol. 34, Iss. 1. P. 51-59. <https://doi.org/10.1007/s10067-014-2737-5>
- [2] Березин А. Е. Ревматоидный артрит и кардиоваскулярный риск. *Український ревматологічний журнал*. 2013. № 2. С. 34-45.
- [3] Сердечно-сосудистые осложнения ревматоидного артрита: распространенность и патогенез / Л. Б. Крултый, О. А. Фомичева, Ю. А. Карпов и др. *Кардиология*. 2016. Т. 56, № 6. С. 89-95. doi: 10.18565/cardio.2016.6.89-95
- [4] Disease Activity in Rheumatoid Arthritis and the Risk of Cardiovascular Events / D. H. Solomon, G. W. Reed, J. M. Kremer et al. *Arthritis & Rheumatology*. 2015. Vol. 67, Iss. 6. P. 1449-1455. <https://doi.org/10.1002/art.39098>
- [5] Challenges of developing a cardiovascular risk calculator for patients with rheumatoid arthritis / C. S. Crowson, S. Rollefstad, G. D. Kitas et al. *Plos One*. 2017. Vol. 12, Iss. 3. P. e0174656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174656>
- [6] EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update / R. Agca, S. C. Heslinga, S. Rollefstad et al. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017. Vol. 76, Iss. 1. P. 17-28. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209775>
- [7] The association between functional and morphological assessments of endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study / A. Sandoo, J. Hodson, K. M. Douglas et al. *Arthritis Research & Therapy*. 2013. Vol. 15, Iss. 5. <https://doi.org/10.1186/ar4287>
- [8] Classical cardiovascular disease risk factors associate with vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a six-year prospective study / A. Sandoo, N. Chanchlani, J. Hodson, J. P. Smith et al. *Arthritis Research & Therapy*. 2013. Vol. 15, Iss. 6. <https://doi.org/10.1186/ar4396>
- [9] Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies / J. A. Avina-Zubieta, J. Thomas, M. Sadatsafavi et al. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012. Vol. 71, Iss. 9. P. 1524-1529. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200726>
- [10] Amaya-Amaya J., Montoya-Sanchez L., Rojas-Villarraga, A. (2014). Cardiovascular Involvement in Autoimmune Diseases. *Biomed Research International*. 2014. Vol. 10, Iss. 5. P. 36-40. <https://doi.org/10.1155/2014/367359>
- [11] Aortic stiffness is associated with atherosclerosis of the coronary arteries in older adults: the Rotterdam Study / N. M. van Popelet, F. U. S. Mattace-Raso, R. Vliegenthart et al. *Journal of Hypertension*. 2006. Vol. 24, Iss. 12. P. 2371-2376. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000251896.62873.c4>
- [12] Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke – The Rotterdam Study / F. U. S. Mattace-Raso et al. *Circulation*. 2006. Vol. 113, Iss. 5. P. 657-663. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.105.555235>
- [13] Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: A consensus statement from the American society of echocardiography carotid intima-media thickness task force endorsed by the society for vascular medicine / J. H. Stein, C. E. Korcarz, R. T. Hurst et al. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2008. Vol. 21, Iss. 2. P. 93-111. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2007.11.011>
- [14] Li C. L., Liu L., Wang J. R. Relationship between blood pressure variability and target organ damage in elderly patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017. Vol. 21, Iss. 23. P. 5451-5455. https://doi.org/10.26355/eurrev_201712_13934
- [15] Predictive Value of Arterial Stiffness and Subclinical Carotid Atherosclerosis for Cardiovascular Disease in Patients with Rheumatoid Arthritis / E. Ik Dahl, S. Rollefstad, G. Wibetoe et al. *Journal of Rheumatology*. 2016. Vol. 43, Iss. 9. P. 1622-1630. <https://doi.org/10.3899/jrheum.160053>
- [16] Carotid intima media thickness as a measure of cardiovascular disease burden in nigerian africans with hypertension and diabetes mellitus / B. N. Okeahialam, B. A. Alonge, S. D. Pam, F. H. Puepet. *International Journal of Vascular Medicine*. 2011. Vol. 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/327171>
- [17] Зависимость толщины интима-медиа сонных артерий от массы тела больных гипертонической болезнью / В. В. Сыволап, В. А. Матсалаева, М. С. Потепенко, И. В. Лихасенко. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 1. С. 4-11. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.1.121605>
- [18] Study of Carotid Intimal Medial Thickness in Essential Hypertension With or Without Left Ventricular Hypertrophy / H. Khutan, S. Aggarwal, K. S. Kajal et al. *Annals of African Medicine*. 2017. Vol. 16, Iss. 4. P. 192-195. https://doi.org/10.4103/aam.aam_9_17
- [19] Alizargar J., Bai C. H. Value of the arterial stiffness index and ankle brachial index in subclinical atherosclerosis screening in healthy community-dwelling individuals. *Bmc Public Health*. 2019. Vol. 19, Iss. 1. P. 65-69. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6398-9>
- [2] Berezin, A. E. (2013). Revmatoidnyi artrit i kardiovaskulyarnyi risk [Rheumatoid arthritis and cardiovascular risk]. *Ukrainskyi revmatologichnyi zhurnal*, 2, 34-45. [In Russian].
- [3] Krougly, L. B., Fomicheva, O. A., Karpov, Y. A., Popkova, T. V., Novikova, D. S., & Nasonov, E. L. (2016). Serdechno-sosudistyie oslozhneniya revmatoidnog oartrita: rasprostranennost' i patogenez [Cardiovascular Complications of Rheumatoid Arthritis: Prevalence and Pathogenesis]. *Kardiologiya*, 56(6), 89-95. <https://doi.org/10.18565/cardio.2016.6.89-95> [in Russian].
- [4] Solomon, D. H., Reed, G. W., Kremer, J. M., Curtis, J. R., Farkouh, M. E., Harrold, L. R., ... Greenberg, J. D. (2015). Disease Activity in Rheumatoid Arthritis and the Risk of Cardiovascular Events. *Arthritis & Rheumatology*, 67(6), 1449-1455. <https://doi.org/10.1002/art.39098>
- [5] Crowson, C. S., Rollefstad, S., Kitas, G. D., van Riel, P., Gabriel, S. E., Semb, A. G., & Trans-Atlantic Cardiovasc, R. (2017). Challenges of developing a cardiovascular risk calculator for patients with rheumatoid arthritis. *Plos One*, 12(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174656>
- [6] Agca, R., Heslinga, S. C., Rollefstad, S., Heslinga, M., McInnes, B., Peters, M. J. L., ... Nurmohamed, M. T. (2017). EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 76(1), 17-28. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209775>
- [7] Sandoo, A., Hodson, J., Douglas, K. M., Smith, J. P., & Kitas, G. D. (2013). The association between functional and morphological assessments of endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Arthritis Research & Therapy*, 15(5). <https://doi.org/10.1186/ar4287>
- [8] Sandoo, A., Chanchlani, N., Hodson, J., Smith, J. P., Douglas, K. M., & Kitas, G. D. (2013). Classical cardiovascular disease risk factors associate with vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a six-year prospective study. *Arthritis Research & Therapy*, 15(6). <https://doi.org/10.1186/ar4396>
- [9] Avina-Zubieta, J. A., Thomas, J., Sadatsafavi, M., Lehman, A. J., & Lacaille, D. (2012). Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(9), 1524-1529. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200726>
- [10] Amaya-Amaya, J., Montoya-Sanchez, L., & Rojas-Villarraga, A. (2014). Cardiovascular Involvement in Autoimmune Diseases. *Biomed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/367359>
- [11] van Popelet, N. M., Mattace-Raso, F. U. S., Vliegenthart, R., Grobbee, D. E., Asmar, R., van der Kuip, D. A. M., ... Witteman, J. C. M. (2006). Aortic stiffness is associated with atherosclerosis of the coronary arteries in older adults: the Rotterdam Study. *Journal of Hypertension*, 24(12), 2371-2376. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000251896.62873.c4>
- [12] Mattace-Raso, F. U. S., van der Cammen, T. J. M., Hofman, A., van Popelet, N. M., Bos, M. L., Schalekamp, M., ... Witteman, J. C. M. (2006). Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke – The Rotterdam Study. *Circulation*, 113(5), 657-663. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.105.555235>
- [13] Stein, J. H., Korcarz, C. E., Hurst, R. T., Lonn, E., Kendall, C. B., Mohler, E. R., ... Post, W. S. (2008). Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: A consensus statement from the American society of echocardiography carotid intima-media thickness task force endorsed by the society for vascular medicine. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 21(2), 93-111. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2007.11.011>
- [14] Li, C. L., Liu, R., Wang, J. R., & Yang, J. (2017). Relationship between blood pressure variability and target organ damage in elderly patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(23), 5451-5455.
- [15] Ik Dahl, E., Rollefstad, S., Wibetoe, G., Olsen, I. C., Berg, J. J., Hisdal, J., ... Semb, A. G. (2016). Predictive Value of Arterial Stiffness and Subclinical Carotid Atherosclerosis for Cardiovascular Disease in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Journal of Rheumatology*, 43(9), 1622-1630. <https://doi.org/10.3899/jrheum.160053>
- [16] Okeahialam, B. N., Alonge, B. A., Pam, S. D., & Puepet, F. H. (2011). Carotid intima media thickness as a measure of cardiovascular disease burden in nigerian africans with hypertension and diabetes mellitus. *International Journal of Vascular Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/327171>
- [17] Syvolap, V. V., Matsalaeva, V. A., Potapenko, M. S., & Likhassenko, I. V. (2018). Zavisimost' tolshchiny intima-media sonnykh arterii ot massy tela bol'nykh gipertonicheskoi bolezni'yu [Dependence of carotid arteries intima-media thickness on body weight of patients with hypertension]. *Zaporozhye Medical Journal*, 20(1), 4-11. [In Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.1.121605>
- [18] Khutan, H., Aggarwal, S., Kajal, K. S., Garg, R., Kaur, R., & Kaur, A. (2017). Study of Carotid Intimal Medial Thickness in Essential Hypertension With or Without Left Ventricular Hypertrophy. *Annals of African Medicine*, 16(4), 192-195. https://doi.org/10.4103/aam.aam_9_17
- [19] Alizargar, J., & Bai, C. H. (2019). Value of the arterial stiffness index and ankle brachial index in subclinical atherosclerosis screening in healthy community-dwelling individuals. *Bmc Public Health*, 19. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6398-9>

References

- [1] Mueller, R. B., Schiff, M., Kaegi, T., Finckh, A., Haile, S., Schulze-Koops, H., ... Phys, S. (2015). The new 2010 ACR/EULAR criteria as predictor of clinical and radiographic response in patients with early arthritis. *Clinical Rheumatology*, 34(1), 51-59. <https://doi.org/10.1007/s10067-014-2737-5>

Factors of angiogenesis and placental hormones in pregnant women with arterial hypertension

O. V. Deinichenko*^{B,C,D}, Yu. Ya. Krut^{A,E,F}

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:

factors of angiogenesis, placental hormones, pregnancy, arterial hypertension.

Pathologia

2019; 16 (3), 368–372

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188891

*E-mail:

agol0309@gmail.com

The changes of the factors of angiogenesis and hormones of pregnancy in pregnant women with hypertension of I and II stages has been studied inadequately and their interaction in such patients is not fully elucidated at present time.

Aim. To detect peculiarities of angiogenesis factors and placental hormones in pregnant women with arterial hypertension I and II grades in comparison with results of healthy pregnant women.

Materials and methods. A one-time study of pregnant women was performed in pregnancy of 12–13 weeks in all groups. 88 pregnant women were inspected. The 1st basic group consisted of 28 pregnant women with AH of I grade; the 2nd group consisted of 33 pregnant women with AH of II grade; the comparison group included 27 women without AH. The following hormones were determined: HCG, PG, E. Among the angiogenesis indices, the placental growth factor (PGF), as a pro-angiogenic factor and placental soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt-1) was determined as an anti-angiogenic factor, sFlt-1/PGF ratio was also estimated. Statistical analysis was done by using Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Results. Pregnant women in 1st group were the youngest: the average age was 26.4 ± 0.8 years versus 33.8 ± 0.6 years in 2nd group and 32.0 ± 1.0 years in control group, $P < 0.001$. PGF levels were decreased in both 1st (17.5 ± 3.4 pg/ml) and 2nd groups (13.5 ± 2.5 pg/ml) in comparison with results in 3rd group (46.1 ± 7.0 pg/ml), $P < 0.001$. We didn't find statistical differences between results of women with AH of I and II degree, $P > 0.05$. Contrary to previous results, sFlt-1 levels were increased in both 1st and 2nd groups, $P < 0.05$: 1703.1 ± 99.2 pg/ml in 1st group and 1673.7 ± 93.5 pg/ml in 2nd group versus 1384.4 ± 77.1 pg/ml in control group, but they weren't different between basic groups, $P > 0.05$. As a result, sFlt-1/PGF ratio level was increased in both 1st (273.3 ± 54.6 units) and 2nd (415.8 ± 79.0 units) groups in comparison with control (46.6 ± 9.4 units), $P < 0.001$. We didn't set statistical differences in hormones levels among pregnant patients. PGF level was connected with E ($r = -0.54$, $P < 0.01$) and HCG ($r = -0.42$, $P < 0.05$) levels in pregnant women with AH of I degree. It was connected with HCG level in control group, but this correlation was contrary: $r = +0.63$, $P < 0.001$.

Conclusions. Pregnant women with AH in I trimester have disturbances in balance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors with prevalence of sFlt-1 and reducing of PGF in blood serum. Due to such disbalance in pregnant women with AH of I grade correlation between angiogenesis factors and hormones changed from direct to inverse.

Ключові слова:

фактори ангіогенезу, плацентарні гормони, вагітність, артеріальна гіпертензія.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 368–372

Фактори ангіогенезу та плацентарні гормони у вагітних з артеріальною гіпертензією

О. В. Дейніченко, Ю. Я. Круть

Зміни факторів ангіогенезу та гормонів вагітності у жінок із гіпертензією (АГ) I та II ступенів вивчені недостатньо, а їхня взаємодія в таких пацієнток достеменно не встановлена.

Мета роботи – визначити особливості факторів ангіогенезу та плацентарних гормонів у вагітних жінок з АГ I та II ступенів порівняно з результатами здорових вагітних.

Матеріали та методи. Виконали одномоментне дослідження вагітних у термінах вагітності 12–13 тижнів у всіх групах. Обстежили 88 вагітних: у 1 основну групу ввійшли 28 вагітних з АГ I ступеня; 2 група включала 33 вагітних із АГ II ступеня; у групу порівняння ввійшли 27 вагітних жінок без АГ. Досліджували сироватку крові, визначали гормони: хоріонічний гонадотропін (ХГЛ), прогестерон (ПГ), естрадіол (Е). Серед показників ангіогенезу досліджували плацентарний фактор росту (PGF) як про-ангіогенний фактор, а також плацентарну розчинну тирозинкіназу (sFlt-1) як анти-ангіогенний фактор; обчислювали sFlt-1/PGF співвідношення. Статистичний аналіз виконали за допомогою програми Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Результати. Вагітні 1 групи були наймолодшими – їхній середній вік становив $26,4 \pm 0,8$ року проти $33,8 \pm 0,6$ року в жінок 2 групи та $32,0 \pm 1,0$ року у вагітних контрольної групи, $p < 0,001$. Рівні PGF були зниженими в 1 ($17,5 \pm 3,4$ пг/мл) і 2 ($13,5 \pm 2,5$ пг/мл) групах порівняно з показниками 3 ($46,1 \pm 7,0$ пг/мл) групи, $p < 0,001$. Не встановили статистичну різницю між показниками жінок із АГ I та II ступенів, $p > 0,05$. На відміну від цих даних, рівні Flt-1 були підвищеними в 1 і 2 групах, $p < 0,05$: $1703,1 \pm 99,2$ пг/мл у 1 групі та $1673,7 \pm 93,5$ пг/мл у 2 групі проти $1384,4 \pm 77,1$ пг/мл у контрольній групі, але вони не відрізнялися в пацієнток основних груп, $p > 0,05$. Як результат, співвідношення sFlt-1/PGF було підвищеним в 1 ($273,3 \pm 54,6$ одиниці) і 2 ($415,8 \pm 79,0$ одиниці) групах порівняно з контролем ($46,6 \pm 9,4$ одиниці), $p < 0,001$. Не виявили статистично значущу різницю між групами вагітних за рівнями плацентарних гормонів. Рівні PGF були пов'язані з рівнями Е ($r = -0,54$, $p < 0,01$) та ХГЛ ($r = -0,42$, $p < 0,05$) у вагітних з АГ I ступеня. Рівень PGF також був пов'язаний із рівнем ХГЛ у контрольній групі, але ця кореляція була іншого напрямку – $r = +0,63$, $p < 0,001$.

Висновки. У вагітних з АГ у I триместрі визначили порушення балансу між про-ангіогенними та анти-ангіогенними факторами з переважанням sFlt-1 і зниженням PGF у сироватці крові. У зв'язку з таким дисбалансом у вагітних із АГ I ступеня змінюється на протилежну кореляція між факторами ангіогенезу та гормонами.

Факторы ангиогенеза и плацентарные гормоны у беременных с артериальной гипертензией

Е. В. Дейниченко, Ю. Я. Круть

Изменения факторов ангиогенеза и гормонов беременности у женщин с артериальной гипертензией (АГ) I и II степеней изучены недостаточно, а их взаимодействие у таких пациенток полностью не определено.

Цель работы – установить особенности факторов ангиогенеза и плацентарных гормонов у беременных с АГ I и II степеней в сравнении с результатами здоровых беременных.

Материалы и методы. Провели одномоментное исследование беременных в сроках беременности 12–13 недель во всех группах. Обследовали 88 беременных: 1 основная группа состояла из 28 беременных с АГ I степени; 2 группа включала 33 беременных с АГ II степени; в группу сравнения вошли 27 беременных без АГ. Исследовали сыворотку крови, определяли гормоны: хорионический гонадотропин (ХГЧ), прогестерон (ПГ), эстрадиол (Е). Среди показателей ангиогенеза исследовали плацентарный фактор роста (PGF) как про-ангиогенный фактор, а также плацентарную растворимую тирозинкиназу (sFlt-1) как анти-ангиогенный фактор; вычисляли sFlt-1/PGF соотношение. Статистический анализ провели с помощью программы Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Результаты. Беременные 1 группы были самыми молодыми – их средний возраст составил $26,4 \pm 0,8$ года против $33,8 \pm 0,6$ года женщин 2 группы и $32,0 \pm 1,0$ года у беременных контрольной группы, $p < 0,001$. Уровни PGF были снижены в 1 ($17,5 \pm 3,4$ пг/мл) и 2 ($13,5 \pm 2,5$ пг/мл) группах в сравнении с данными 3 ($46,1 \pm 7,0$ пг/мл) группы, $p < 0,001$. Не установлена статистическая разница между результатами женщин с АГ I и II степеней, $p > 0,05$. В отличие от этих данных, уровни Flt-1 были повышенными в 1 и 2 группах, $p < 0,05$: $1703,1 \pm 99,2$ пг/мл в 1 группе и $1673,7 \pm 93,5$ пг/мл во 2 группе против $1384,4 \pm 77,1$ пг/мл в контрольной группе, но они не отличались у пациенток основных групп, $p > 0,05$. Как результат, соотношение sFlt-1/PGF было повышенным в 1 ($273,3 \pm 54,6$ единицы) и 2 ($415,8 \pm 79,0$ единицы) группах сравнительно с контролем ($46,6 \pm 9,4$ единицы), $p < 0,001$. Не установлена статистически значимая разница между группами беременных по уровням плацентарных гормонов. Уровни PGF связаны с уровнями Е ($r = -0,54$, $p < 0,01$) и ХГЧ ($r = -0,42$, $p < 0,05$) у беременных с АГ I степени. Уровень PGF также связан с уровнем ХГЧ в контрольной группе, хотя эта корреляция была обратной – $r = +0,63$, $p < 0,001$.

Выводы. У беременных с АГ в I триместре установлено нарушение баланса между про-ангиогенными и анти-ангиогенными факторами с преобладанием sFlt-1 и снижением PGF в сыворотке крови. В связи с таким дисбалансом у беременных с АГ I степени меняется на обратную корреляция между факторами ангиогенеза и гормонами.

Ключевые слова:

факторы ангиогенеза, плацентарные гормоны, беременность, артериальная гипертензия.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 368–372

Cardiovascular diseases have the first place among extragenital diseases in the structure of the causes of perinatal morbidity and mortality. Arterial hypertension (AH) occupies a leading position among these cardiovascular diseases. AH promotes the development of long-term vascular and metabolic disorders [1,2]. There is a decrease in placental blood flow in pregnant women with AH due to changes in the functioning of the cardiovascular system. Disturbances of the normal relationship between vasodilators and vasoconstrictors in pregnant women with AH are accompanied by dysregulation of vascular tone and leads to placental insufficiency [3,4]. One of the leading theories of placental insufficiency is vascular-endothelial dysfunction theory. Endothelial cells of vessels synthesize a large number of biologically active substances that are involved in providing a variety of processes in the physiological and pathological gestational processes [5].

The activity of placental angiogenesis is controlled by a spectrum of growth factors with pro-angiogenic and anti-angiogenic properties. The placental growth factor (PGF) in the first trimester of pregnancy stimulates the synthesis of trophoblastic DNA, increases the number of trophoblast cells and improves the conditions for its infestation. During the third trimester of pregnancy PGF expression reaches a maximum of 28–30 weeks of gestation, gradually increasing from the first to the se-

cond trimester of pregnancy [6,7]. Anti-angiogenic factors include placental soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt-1). It counteracts the action of PGF on specific receptors [8]. The imbalance between pro- and anti-angiogenic factors contributes to placental insufficiency [6].

Estradiol (E) is the main hormone of pregnancy. Reduced E, its constantly low concentration, or insufficient growth indicate a violation of the fetoplacental complex. Human chorionic gonadotropin (HCG) appears in the blood of the mother on 8–9 days after fertilization of the egg. During the first trimester of pregnancy, HCG levels are rapidly increasing, doubling every 2–3 days, reaching its maximum at 8th–10th weeks of gestation. After that, its content is somewhat reduced and remains constant during the second half of pregnancy [9]. Progesterone (PG) improves the conditions for trophoblast migration in 1st–2nd gestational trimesters by stimulating the growth and remodeling of the coiled arteries of the uterus, increasing the expression of the vascular endothelial growth factor and its receptor [10].

The changes of the factors of angiogenesis and hormones of pregnancy in pregnant women with hypertension of I and II stages has been studied inadequately and their interaction in such patients is not fully elucidated at present time.

Aim

To detect peculiarities of angiogenesis factors and placental hormones in pregnant women with arterial hypertension I and II grades in comparison with the results of healthy pregnant women.

Materials and methods

Criteria for inclusion in the study: pregnancy, the presence of AH of I and II grades. Criteria for exclusion from the study: AH of III grade, diabetes mellitus, multiple pregnancy, chromosomal and genetic disorders, thrombophilia, perinatal infections, systemic connective tissue diseases, heart disease (heart defects, myocarditis), anemia of moderate to severe degrees, diseases of the lungs, oncological diseases, pregnancy that comes with assisted reproductive technology.

A one-time study of pregnant women was performed in pregnancy of 12–13 weeks in all groups. 88 pregnant women were inspected. The 1st basic group consisted of 28 pregnant women with AH of I grade; the 2nd group consisted of 33 pregnant women with AH of II grade; the comparison group included 27 women without AH. Anamnesis, general clinical examination, blood pressure measurement, standard obstetric and gynecological examination according to clinical protocols were done in all cases. AH was diagnosed according to the existing clinical protocols.

The following hormones were determined: HCG, PG, E. Among the angiogenesis indices, the placental growth factor (PGF), as a pro-angiogenic factor and placental soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt-1) was determined as an anti-angiogenic factor, sFlt-1/PGF ratio was also estimated. Research of hormones and factors of angiogenesis was performed on the basis of the Educational Medical Laboratory Center (the head is professor A. V. Abramov) of Zaporizhzhia State Medical University. For this purpose, the microplate reader Sirio-S (Seac, Italy) was used. Blood serum was examined. Indicators of hormones and factors of angiogenesis were performed using immuno-enzymatic methods in accordance with

the relevant instructions using the appropriate sets of reagents: HCG, PG, E (Monobind Inc, USA); PGF and sFlt-1 (R&D systems, Inc, USA&Canada).

Statistical analysis was done by using Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Normality of data distribution in groups was determined by Shapiro–Wilk method. Results were presented as mean \pm error of mean ($M \pm m$). Differences between groups were estimated by Student's criterion. To determine the relationship between the indicators, the correlation coefficient was calculated using the Spearman method; statistically significant results were considered with a coefficient of more than 0.3 and with a level of $P < 0.05$.

The Bioethical committee of Zaporizhzhia State Medical University decided that scientific work corresponds to all the requirements of moral and ethical standards (Protocol number 2 from 03/22/2017).

Results

We could say, that pregnant women in 1st group were the youngest: the average age was 26.4 ± 0.8 years versus 33.8 ± 0.6 years in 2nd group and 32.0 ± 1.0 years in control group, $P < 0.001$. It may be explained, that progression of AH needs some time from beginning. PGF levels were decreased in both 1st (17.5 ± 3.4 pg/ml) and 2nd groups (13.5 ± 2.5 pg/ml) in comparison with results in control group (46.1 ± 7.0 pg/ml), $P < 0.001$. We didn't find statistical differences between results of women with AH of I and II degree, $P > 0.05$. Contrary to previous results, sFlt-1 levels were increased in both 1st and 2nd groups, $P < 0.05$: 1703.1 ± 99.2 pg/ml in 1st group and 1673.7 ± 93.5 pg/ml in 2nd group versus 1384.4 ± 77.1 pg/ml in control group, but they weren't different between basic groups, $P > 0.05$. As a result, sFlt-1/PGF ratio level was increased in both 1st (273.3 ± 54.6 units) and 2nd (415.8 ± 79.0 units) groups in comparison with control (46.6 ± 9.4 units), $P < 0.001$. But it was the highest in pregnant women with AH of II grade (Fig. 1).

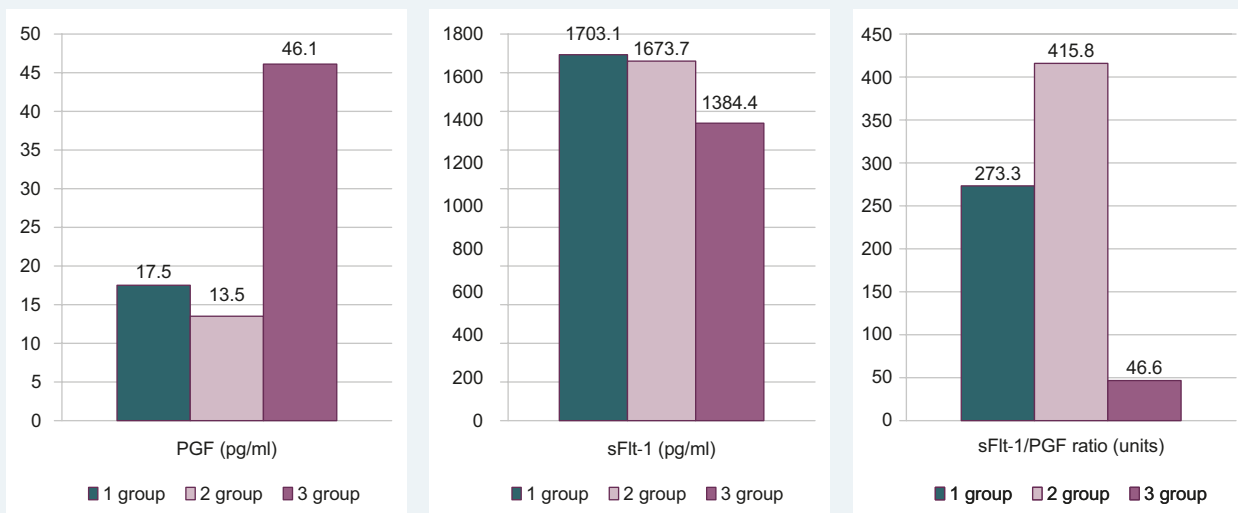


Fig. 1. Angiogenesis factors and sFlt-1/PGF ratio in groups of women.

Table 1. Hormones levels in groups of women, M ± m

Indicators, units	1st group, n = 28	2nd group, n = 33	Control group, n = 27	P
PG, ng/ml	32.0 ± 2.4	38.6 ± 3.0	36.1 ± 2.7	>0.05
E, pg/ml	2449.1 ± 228.7	2522.5 ± 230.4	2836.2 ± 268.6	>0.05
HCG, ng/ml	516.1 ± 21.9	513.3 ± 22.6	521.3 ± 23.0	>0.05

We didn't dedicate statistical differences among pregnant patients in hormones levels, $P > 0.05$ for all indicators. There were only a little reducing in PG level in women with AH of I degree: 1.2 times as compared to 2nd group and 1.1 times as compared to control group (Table 1).

PGF level was connected with E ($r = -0.54$, $P < 0.01$) and HCG ($r = -0.42$, $P < 0.05$) levels in pregnant women with AH of I degree. It was connected with HCG level in control group, but this correlation was contrary: $r = +0.63$, $P < 0.001$. We couldn't detect any correlations between indicators in patients from 2nd group, $P > 0.05$.

Discussion

We detected reducing of PGF and growing of sFlt-1 (as sFlt-1/PGF ratio) in pregnant women with AH of both I and II grades. The similar results had group of authors [11,12]. But these authors examined patients in II trimester of pregnancy. PGF sFlt-1 levels were also detected [13], they included them to prognosis of preeclampsia and showed their levels in 1st trimester. The highest sFlt-1/PGF ratio was in pregnant women with AH of II grade, that may indicate progression of pathological changes after several years of living with arterial hypertension. But we didn't find any statistical differences in hormones levels between groups of patients. Another results were received by groups of scientists [9,14,15]. They found decrease of E levels in pregnant women. Contrary to literature results we examined both angiogenesis factors and hormones. We defined inverse correlations between PGF levels and two hormones levels (E and HCG) in women with AH of I grade versus to direct correlation between this pro-angiogenesis factor and HCG in control group. It may indicate disturbances in cooperation of such indicators in case of AH beginning. We suppose, such changes may lead to development of placental insufficiency in future. That's why treatment/prophylaxis of it should be administered to pregnant women with AH of I grade in I trimester.

Conclusions

1. Pregnant women with AH in I trimester have disturbances in balance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors with prevalence of sFlt-1 and reducing of PGF in serum.

2. Due to such disbalance in pregnant women with AH of I grade correlation between angiogenesis factors and hormones changed from direct to inverse.

Future researches plans. We plan to find features of angiogenesis factors and hormones changes in patients with arterial hypertension with fetal growth retardation and to detect early indicators of such complication of placental insufficiency.

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

Надійшла до редакції / Received: 11.06.2019
Після доопрацювання / Revised: 13.11.2019
Прийнято до друку / Accepted: 14.11.2019

Information about authors:

Deinichenko O. V., Postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Krut Yu. Ya., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Дейніченко О. В., аспірант каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Круть Ю. Я., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Дейниченко Е. В., аспирант каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Круть Ю. Я., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Padyganova, A. V. Chicherina, E. N. Kardiometabolicheskii risk u beremennykh s khronicheskoi arterial'noi gipertenziei i sovremennye podkhody k ego korrektsii [Cardiometabolic risk and modern methods of its correction in pregnant women with chronic arterial hypertension]. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal*, 5, 75-80. [in Russian].
- [2] Bramham, K., Parmell, B., Nelson-Piercy, C., Seed, P. T., Poston, L., & Chappell, L. C. (2014). Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *Bmj-British Medical Journal*, 348. <https://doi.org/10.1136/bmj.g2301>
- [3] Korol, T. M. (2013). Fetoplatsentarna nedostatnist (FPN) – aktualna problema medytsyny. Kliniko-etopatohetnychni kryterii diahnozytyky, likuvannia ta profilaktyky [Fetoplacental insufficiency (FPN) – actual problem of medicine. Clinical-etopathogenetical diagnostic criteria, tretment and prevention]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*, 1(2), 49-54. [in Ukrainian].
- [4] Alekseeva, L. L., Borgolov, A. V., Mangataeva, M. R., Afanas'eva, O. M., & Radnaeva S. A. (2008). Mekhanizm formirovaniya KhFPN pri arterial'noi gipertenzii u beremennykh zhenshchin [The mechanism of chronicle fetoplacental deficiency forming due to arterial hypertension of the pregnant women]. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta*, 12, 82-86. [in Russian].
- [5] Orlov, A. V., & Kudinova, E. I. Etiopatogeneticheskie aspekty razvitiya platsentarnoi nedostatochnosti i zaderzhki rosta ploda [Aspects etiopathogenesis of the development to insufficiency of placenta and fetal growth retardation]. *Zhurnal fundamental'noi meditsyny i biologii*, 4, 4-10. [in Russian].
- [6] Fomina, M. P., Divakova, T. S., Rzheusskaya, L. D. (2014). Endotelial'naya disfunktsiya i balans angiogennykh faktorov u beremennykh s platsentarnymi narusheniyami [Effect of otolonium bromide on intensity of chronic abdominal pain]. *Meditsinskie novosti*, 3, 63-67. [in Russian].
- [7] Makarov, O. V., Volkova, E. V., Dzhokhadze, L. S. (2012). Rol' pro- i antiangiogennykh faktorov v diagnostike razlichnykh form gipertenzivnykh sostoyanii pri beremennosti [Role of pro- and antiangiogenic factors in

- the diagnosis of different forms of hypertensive states of pregnancy]. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*, 3, 15-20. [in Russian].
- [8] Goryunova, A. G., Simonova, M. S., & Murashko, A. V. (2016). Sindrom zaderzhki rosta ploda i adaptatsiya platsentyi [Fetal growth retardation syndrome and adaptation of placenta]. *Arhiv akusherstva i ginekologii im. V.F. Snegireva*, 3(2), 76-80. [in Russian]. <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2016-3-2-76-80>
- [9] Trishkin, A. G., Novikova, O. N., Artymuk, N. V., Ushakova, G. A., Kiprina, E. S., & Bikmetova, E. S. (2012). Gormonalno-metabolicheskie osobennosti fetoplatsentarnogo kompleksa pri zaderzhke rosta ploda [Hormonal and metabolic characteristics of fetoplacental complex in women with fetal growth restriction]. *Mat' i ditya v Kuzbasse*, 1, 59-63. [in Russian].
- [10] Divakova, T. S., & Famina, M. P. (2014). Osobennosti vliyaniya dihydrogesterona i atsetilsalitsilovoy kisloty na platsentarnyy angiogenez pri oslozhnennoy beremennosti [Effects of dydrogesterone and acetylsalicylic acid on placental angiogenesis in complicated pregnancies]. *Meditsinskie novosti*, 2, 67-72. [in Russian].
- [11] Volkova, E. V., Lysyuk, E. Yu., Dzhokhadze, L. S., & Makarov, O. V. (2013). Osobennosti izmeneniy pro- i antiangiogennykh faktorov u beremennykh s hronicheskoi arterial'noi gipertenziei [Specific features of changes in pro- and antiangiogenic factors in pregnant women with chronic arterial hypertension]. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*, 3, 9-13. [in Russian].
- [12] Zeisler, H., Llurba, E., Chantraine, F., Vatish, M., Staff, A. C., Sennstrom, M., . . . Verlohren, S. (2016). Predictive Value of the sFlt-1:PIGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*, 374(1), 13-22. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414838>
- [13] Youssef, A., Righetti, F., Morano, D., Rizzo, N., & Farina, A. (2011). Uterine artery Doppler and biochemical markers (PAPP-A, PIGF, sFlt-1, P-selectin, NGAL) at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in the prediction of late (>34 weeks) pre-eclampsia. *Prenatal diagnosis*, 3, 1141–1146. <https://doi.org/10.1002/pd.2848>
- [14] Alekseeva L. L., Protopopova N. V. (2012). Sostoyanie platsentarnoi sistemy i gormonal'naya funktsiya platsenty u beremennykh s arterial'noi gipertenziei v raznykh etnicheskikh gruppakh [The state of placental system and hormonal function of placenta at pregnant women with arterial hypertension in different ethnic groups]. *Journal of Siberian Medical Sciences*, (1), 52. [in Russian].
- [15] Sanghavi, M., Rutherford, J. D. (2014). Cardiovascular physiology of pregnancy. *Circulation*, 130(12), 1003-1008. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.114.009029>

Функціональний стан серцево-судинної системи в поранених з ушкодженнями кінцівок на рівнях медичного забезпечення за даними тетраполярної реографії

І. П. Хоменко^{1,A}, С. О. Король^{*2,B,D}, А. А. Кожокару^{2,E}, Б. В. Матвійчук^{3,C}, Р. М. Січинава^{4,F}

¹Головне військово-медичне управління, м. Київ, Україна, ²Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна, ³Військово-медичний клінічний центр професійної патології особового складу, м. Ірпінь, Україна, ⁴Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин Міністерства охорони здоров'я 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

Ступінь незворотних патофізіологічних змін при травматичному шоку не має ранніх клінічних проявів, тому що в 16,7 % випадків виявляють невідповідність анатомічної оцінки тяжкості травми та тяжкості стану поранених, що пов'язано з особливістю компенсаційних можливостей організму, своєчасністю та якістю протишочкових заходів.

Мета роботи – на підставі клінічно-статистичного аналізу змін показників функціональних розладів серцево-судинної системи здійснити патофізіологічне обґрунтування загального стану поранених із бойовою травмою кінцівок на рівнях медичного забезпечення.

Матеріали та методи. Масив дослідження становили 378 поранених із бойовими травмами кінцівок. Патофізіологічне оцінювання гомеостазу у групах порівняння здійснювали за 14 показниками, що визначені одразу після надходження поранених у протишочкову палату за методикою тетраполярної реографії. Для оцінювання тяжкості поранень використали шкалу Admission trauma scale (AdTS).

Результати. У поранених із тяжкою та вкрай тяжкою травмою, починаючи з другого рівня медичного забезпечення, при послідовному вживанні протишочкових заходів на етапах медичної евакуації спостерігали позитивну динаміку змін показників стану серцево-судинної системи до легкого ступеня. Під час скорочення етапів спостерігали тенденцію до погіршення загального стану поранених і зниження показників на 41,8–53,6 % до незворотних величин ($p_a < 0,05$). Динамічні зміни показника виразності функціональних розладів серцево-судинної системи підтверджували перевагу схеми послідовної евакуації поранених із тяжкими та вкрай тяжкими травмами. У поранених із нетяжкою травмою скорочення рівнів не призводило до погіршення загального стану, а функціональні розлади мали помірний характер.

Висновки. Послідовне надання травматологічної допомоги на рівнях медичного забезпечення шляхом своєчасно виконаних оперативних втручань, вживання протишочкових заходів і збереження резервних сил організму поранених з вкрай тяжкими та тяжкими бойовими травмами кінцівок (5 і більше балів) дає змогу досягти поступової зміни функціонального стану серцево-судинної системи з важкого ступеня до помірного. Надання допомоги пораненим із нетяжкою травмою (<5 балів) за скороченою схемою не призводить до зниження функціональних показників.

Ключові слова:

бойова травма кінцівки, тетраполярна реографія, травматичний шок, серця функціональні тести.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 373–380

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188892

*E-mail: sergej.korol72@gmail.com

Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы у раненых с повреждениями конечностей на уровнях медицинского обеспечения по данным тетраполярной реографии

И. П. Хоменко, С. А. Король, А. А. Кожокару, Б. В. Матвийчук, Р. М. Сичинава

Степень необратимых патофизиологических изменений при травматическом шоке не имеет ранних клинических проявлений, потому что в 16,7 % случаев наблюдают несоответствие анатомической оценки тяжести травмы и тяжести состояния раненых в связи с особенностью компенсаторных возможностей организма, своевременностью и качеством противошоковых мероприятий.

Цель работы – на основе клинико-статистического анализа изменений показателей функциональных расстройств сердечно-сосудистой системы провести патофизиологическое обоснование общего состояния раненых с боевой травмой конечностей на уровнях медицинского обеспечения.

Материалы и методы. Массив исследования составили 378 раненых с боевыми травмами конечностей. Патофизиологическую оценку гомеостаза в группах сравнения осуществляли по 14 показателям, определенным сразу после поступления раненых в противошоковую палату по методике тетраполярной реографии. Для оценки тяжести ранений использована шкала Admission trauma scale (AdTS).

Результаты. У раненых с тяжелой и крайне тяжелой травмой, начиная со второго уровня медицинского обеспечения, при последовательном проведении противошоковых мероприятий на этапах медицинской эвакуации наблюдали положительную динамику изменений показателей состояния сердечно-сосудистой системы до легкой степени. При сокращении этапов отмечена тенденция к ухудшению общего состояния раненых и снижению показателей на 41,8–53,6 % до необратимых величин ($p_a < 0,05$). Динамические изменения показателя выраженности функциональных расстройств

Ключевые слова:

боевая травма конечности, тетраполярная реография, травматический шок, сердца функциональные тесты.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 373–380

сердечно-сосудистой системы подтверждали преимущество схемы последовательной эвакуации раненых с тяжелыми и крайне тяжелыми травмами. У раненых с нетяжелыми травмами сокращение уровней не приводило к ухудшению общего состояния, а функциональные расстройства носили умеренный характер.

Выводы. Последовательное оказание травматологической помощи на уровнях медицинского обеспечения за счет своевременно выполненных оперативных вмешательств, проведения противошоковых мероприятий и сохранения резервных сил организма раненых с крайне тяжелыми и тяжелыми боевыми травмами конечностей (5 и более баллов) позволяет достичь постепенного изменения функционального состояния сердечно-сосудистой системы с тяжелой степени до умеренной. Оказание помощи раненым с нетяжелой травмой (<5 баллов) по сокращенной схеме не приводит к снижению функциональных показателей.

Key words:
war-related injuries,
extremities,
heart function
tests, tetrapolar
rheography,
traumatic shock.

Pathologia
2019; 16 (3), 373–380

Functional status of the cardiovascular system in the wounded with limb injuries at the levels of health care according to tetrapolar rheography

I. P. Khomenko, S. O. Korol, A. A. Kozhokaru, B. V. Matviichuk, R. M. Sichinava

The degree of irreversible pathophysiological changes in traumatic shock has no early clinical manifestations, since in 16.7 % of cases the anatomical assessment of the severity of the injury and the severity of the condition of the injured is determined, which is related to the peculiarity of the body compensatory capacity, timeliness and quality of quality of anti-shock measures.

The aim of the work is to conduct, on the basis of clinical and statistical analysis of changes in the indicators of functional disorders of the cardiovascular system, a pathophysiological justification of the general condition of the wounded with combat trauma of the extremities at the levels of medical support.

Materials and methods. An array of studies consisted of 378 wounded with combat injuries to their extremities. Pathophysiological assessment of homeostasis in the comparison groups was performed according to 14 indicators determined immediately after the admission of the wounded to the anti shock ward by the method of tetrapolar rheography. The Admission trauma scale (AdTS) was used to assess the severity of the injuries.

Results. In the wounded with severe and extremely severe trauma, starting from the second level of medical support, during the sequential implementation of countermeasures during the stages of medical evacuation, there was a positive dynamics of changes in the indicators of the cardiovascular system status to a mild degree. With the reduction of stages, there was a tendency to deterioration of the general condition of the wounded and decrease of indicators by 41.8–53.6 % to irreversible values ($P_a < 0.05$). Dynamic changes in the severity of functional disorders of the cardiovascular system confirmed the benefits of a sequential evacuation scheme for the wounded with severe and extremely severe injuries. In patients with mild trauma, reducing the levels did not worsen the general condition, and functional disorders were moderate.

Conclusions. Consistent providing of traumatological care to the wounded at the levels of medical support, due to timely performed surgical interventions, carrying out countermeasures and maintaining the reserve forces of the body of the wounded with extremely severe and severe combat injuries of the extremities (5 points or more) allows to achieve a gradual change of the functional state of the cardiovascular system from severe to moderate. Assistance to the injured with a minor trauma (<5 points) under the reduced scheme does not lead to a decrease in functional indicators.

Актуальність теми зумовлена бойовими діями на сході України та проведенням збройними силами Антитерористичної операції та Операції об'єднаних сил (АТО/ООС). За останніми даними, поранення кінцівок становлять 56,7 % випадків і супроводжуються травматичним шоком (ТШ) у 8–10 % поранених [1,2]. Під час діагностики й визначенні ступеня тяжкості ТШ основними є показники загального стану, гемодинаміки та дихання. Відомо, що систолічний артеріальний тиск на початкових стадіях ТШ не показує всієї глибини патологічних процесів і часто не змінюється [3–5]. Ступінь незворотних патофізіологічних змін при ТШ не має ранніх клінічних проявів, бо в 16,7 % випадків виявляють невідповідність анатомічного оцінювання тяжкості травми та тяжкості ТШ, що є показником особливості компенсаторних можливостей організму, своєчасності та якості протишокових заходів на рівнях медичного забезпечення [6–8].

Мета роботи

На підставі клінічно-статистичного аналізу змін показників функціональних розладів серцево-судинної

системи здійснити патофізіологічне обґрунтування загального стану поранених із бойовою травмою кінцівок на рівнях медичного забезпечення.

Матеріали і методи дослідження

Масив дослідження становили 378 поранених із бойовими травмами кінцівок (БТК), які отримали ушкодження у 2014–2018 рр. під час проведення АТО/ООС. Середній вік поранених – 33,18 ± 4,21 року. Поранених поділи на 3 групи порівняння. Групу 1 становили 162 поранених із БТК, яким медичну допомогу надавали на всіх рівнях, групу 2 – 170 поранених, яким допомогу надавали при скороченні одного рівня, групу 3 – 46 осіб при скороченні двох рівнів. Групи порівняння за віком, статтю, травмогенезом, клінічно-нозологічною структурою, тяжкістю та характером вогнепальних поранень, сегментами кінцівок, що ушкоджені, не відрізнялися ($p_a > 0,05$), а масив дослідження був репрезентативним. У контрольну групу залучені 35 здорових військовослужбовців відповідного віку, в яких показники визначали у стані фізіологічного спокою.

Для оцінювання тяжкості поранень на рівнях медичного забезпечення використана шкала Admission trauma scale (AdTS), що розроблена колективом Української військово-медичної академії. Градація тяжкості поранень: нетяжка (<5 балів), тяжка (5–9 балів) та вкрай тяжка (>9 балів) травма. Особливість методики: універсальність, можливість оцінити тяжкість відкритої та закритої травми, висока статистична вірогідність, чутливість і специфічність за принципом вижив – помер – 89 % [9].

Патофізіологічне оцінювання гомеостазу у групах порівняння здійснювали за 14 показниками, котрі визначали одразу після надходження поранених у протишокову палату за методикою тетропольної реографії. Дослідження виконали при частоті 50 кГц з використанням апарата «ДІАМАНТ-РЕОГРАФ»; прилад NN: 11407. Обчислення результатів здійснювали за програмою ЗАО «Діамант», С.-Петербург, РФ; v.10.05.2011 р. Два паралельно з'єднані електроди накладали на передпліччя, два – на гомілки. Реограму реєстрували на ділянці верхні кінцівки – тулуб – нижні кінцівки. Вихідний електричний базовий опір визначали після попереднього балансування. Інтегральну реографію тіла записували при швидкості 25 мм/с. Точність виміру базового опору між електродами – $\pm 1,5$ Ом [10].

Під час мінно-вибухових пораненнях (МВП), що супроводжувалися відривами верхніх і нижніх кінцівок, електроди накладали на незмінену шкіру, на дистальні відділи кукси.

У військовослужбовців визначали показники тетрапольної реографії:

1. Частота скорочень серця (ЧСС) – кількість серцевих циклів за одну хвилину.

2. Ударний індекс (УІ) – величина разової продуктивності серця, відношення ударного об'єму лівого шлуночка (УО) до площі поверхні тіла пораненого, мл/м².

3. Серцевий індекс (СІ) – показник, що визначає відношення хвилинного об'єму кровообігу (ХОК) до площі поверхні тіла, є показником продуктивності серця, л/хв/м².

4. Коефіцієнт резерву (КР) – відношення фактичного ХОК до належного для умов спокою. КР оцінює величину недостатності кровообігу та ступінь її підвищення (чи зниження). КР дає змогу оцінювати різні гіпоксичні реакції, резервні й компенсаційні можливості кровообігу, %.

5. Коефіцієнт інтегральної тоничності показує стан артеріального опору судин у цілих числах, прямопорційний системному артеріальному тону, ум. од.

6. Показник стабілізації тону (ПСТ) судин вказує на зміни опору артерій залежно від змін ударного об'єму крові, ум. од.

7. Коефіцієнт дихальних змін ударного об'єму (КДЗ) – величина, яка дає змогу оцінити дихальні зміни ударного об'єму лівого шлуночка, ум. од.

8. Показник напруження дихання (ПНД) характеризує побічні енергетичні витрати на роботу дихання, за його допомогою визначають взаємозв'язок центральної гемодинаміки і зовнішнього дихання, ум. од.

9. Показник гемодинамічного забезпечення (ПГЗ) враховує сукупність факторів, що беруть участь у формуванні взаємопов'язаних змін системного кровообігу та зовнішнього дихання. Показник гемодинамічного забезпечення дає змогу оцінити відповідність рівня кровообігу ступеня дихальної недостатності та киснезабезпечення організму загалом, %.

10. Показник балансу (ПБ) використовується для об'єктивного оцінювання об'єму позаклітинної рідини. Показник балансу показує відношення фактичного об'єму позаклітинної рідини до належної величини її об'єму, ум. од.

11. Показник виразності функціональних розладів серцево-судинної системи (ПВФР) – інтегральний показник комплексного оцінювання тяжкості стану пораненого, ум. од.

Аналіз показників виконали порівняно з контрольною групою та зіставляючи групи на рівнях медичного забезпечення.

Результати

Під час нетяжкої БТК у поранених груп 1 та 2 при надходженні на другий рівень спостерігали односторонні легкі функціональні розлади серцево-судинної системи (ПВФР = $6,56 \pm 0,98$ ум. од. у групі 1; $6,78 \pm 1,03$ ум. од. у групі 2) через незначне (на 12 %) зниження разової продуктивності серця (УІ = $42,56 \pm 1,28$ мл/м² у групі 1; $43,39 \pm 1,87$ мл/м² у групі 2) та зниження на 17 % хвилинної продуктивності серця (СІ = $3,49 \pm 0,11$ л/хв/м² у групі 1; $3,51 \pm 0,10$ у групі 2) порівняно з контрольною групою ($p_0 < 0,05$). Компенсація функціонального стану в поранених із нетяжкою БТК на другому рівні відбувалась унаслідок підвищення частоти серцевих скорочень на 30 % (ЧСС = $89,12 \pm 3,59$ уд/хв у групі 1; $88,94 \pm 3,76$ уд/хв у групі 2) та помірної аритмії (ПСТ = $1,09 \pm 0,01$ ум. од. у групі 1; $1,08 \pm 0,01$ ум. од. у групі 2).

На третьому рівні при нетяжкій БТК у групах порівняння визначали легкі функціональні розлади серцево-судинної системи. Їхня особливість – тенденція до нормалізації показника внаслідок підвищення разової продуктивності серця в динаміці у групах порівняння (УІ = $47,12 \pm 1,87$ мл/м² у групі 1; $44,56 \pm 2,56$ мл/м² у групі 2; $46,29 \pm 2,45$ мл/м² у групі 3). У групі 3 визначили вірогідне зниження на 18 % хвилинної продуктивності серця (СІ = $3,46 \pm 0,24$ л/хв/м²) порівняно з контролем ($p_0 < 0,05$). Компенсацію циркуляційних розладів у поранених із нетяжкою БТК на третьому рівні спостерігали внаслідок підвищення на 22 % частоти серцевих скорочень (ЧСС = $82,44 \pm 3,55$ уд/хв у групі 1; $90,34 \pm 3,79$ уд/хв у групі 2; $83,36 \pm 4,04$ уд/хв у групі 3) та помірної аритмії у групах 2 і 3 (ПСТ = $1,09 \pm 0,01$ ум. од.).

На четвертому рівні особливістю групи 3 слід вважати помірне підвищення на 22 % частоти серцевих скорочень (ЧСС = $82,11 \pm 2,01$ уд/хв) і збереження помірної аритмії (ПСТ = $1,09 \pm 0,01$ ум. од.) на тлі підвищення на 14 % показників зовнішнього дихання (ЧД = $18,03 \pm 0,99$ уд/хв; ПНД = $19,65 \pm 0,87$ ум. од.)

Отже, в поранених із нетяжкою БТК за сприятливого прогнозу виживання помірно порушення гемодинаміки, що спостерігали на другому рівні,

характеризувалися нормалізацією кровообігу на третьому. Аналіз наведених змін показників гомеостазу доводить можливість скорочення етапів під час надання медичної допомоги пораненим із вогнепальними ушкодженнями кисті та стопи для якнайшвидшого спеціалізованого лікування у клініках реконструктивно-відновної хірургії четвертого рівня.

Під час надходження поранених із тяжкою БТК на другий рівень у групах порівняння функціональний стан серцево-судинної системи був тяжким (ПВФР = $5,19 \pm 0,63$ ум. од. у групі 1; $5,21 \pm 0,69$ ум. од. у групі 2) унаслідок помірного зниження на 32 % разової продуктивності серця ($УІ = 32,15 \pm 3,56$ мл/м² у групі 1; $33,18 \pm 4,22$ мл/м² у групі 2), зниження на 23 % хвилинної продуктивності серця ($СІ = 3,25 \pm 0,11$ л/хв/м² у групі 1; $3,21 \pm 0,13$ у групі 2) та вираженої недостатності зовнішнього дихання (у групі 1 ЧД = $20,89 \pm 0,72$ /хв; КДЗ = $1,54 \pm 0,06$ ум. од.; ПНД = $32,17 \pm 2,10$ ум. од.; у групі 2 ЧД = $22,59 \pm 0,79$ /хв; КДЗ = $1,51 \pm 0,07$ ум. од.; ПНД = $34,10 \pm 2,17$ ум. од.) ($p_a < 0,05$). Компенсацію функціональних розладів у поранених із тяжкою БТК на другому рівні досягнуто шляхом підвищення на 60 % частоти серцевих скорочень ($108,07 \pm 3,11$ уд/хв у групі 1; $109,12 \pm 4,02$ уд/хв у групі 2) та помірної аритмії (ПСТ = $1,11 \pm 0,01$ ум. од.).

У поранених із тяжкою БТК у групах 1 і 2 визначили помірну централізацію кровообігу на тлі гіпотонії (КІТ = $79,77 \pm 1,91$ ум. од.; систолічний АТ = $82,75 \pm 1,71$ мм рт. ст.; КІТ = $80,14 \pm 2,03$ ум. од.; систолічний АТ = $83,70 \pm 1,82$ мм рт. ст. відповідно).

На третьому рівні при тяжкій БТК у групах порівняння спостерігали суттєві функціональні розлади серцево-судинної системи (ПВФР = $5,36 \pm 0,27$ ум. од. у групі 1; $4,89 \pm 1,03$ ум. од. у групі 2; $3,12 \pm 1,09$ ум. од. у групі 3). Встановили тенденцію до збільшення названого показника у групі 1 унаслідок зміни разової та хвилинної продуктивності серця ($УІ = 38,73 \pm 1,87$ мл/м²; $СІ = 3,96 \pm 0,12$ л/хв/м²) у динаміці.

У поранених зі тяжкою БТК у групі 3 під час надходження на третій рівень встановили значущі функціональні розлади внаслідок зниження разової та хвилинної продуктивності серця з розвитком надалі недостатності кровообігу ($УІ = 22,96 \pm 3,42$ мл/м²; ХОК = $4,67 \pm 0,73$ л/хв, $СІ = 2,16 \pm 0,15$ л/хв/м²; КР = $76,17 \pm 6,05$ %) і дисгідрозу на тлі недостатньо корегованої крововтрати (ПБ = $0,85 \pm 0,04$ ум. од.).

У групах порівняння спостерігали помірне напруження зовнішнього дихання порівняно з контрольною групою ($p_a < 0,05$).

Встановили, що компенсація функціонального стану серцево-судинної системи у поранених із тяжкою БТК у групах 1 і 2 забезпечувалася шляхом підвищення на 28,02 % частоти серцевих скорочень ($86,89 \pm 2,02$ уд/хв у групі 1, $85,89 \pm 2,23$ уд/хв у групі 2), помірної аритмії серця (ПСТ = $1,10 \pm 0,01$ ум. од. у групі 1; ПСТ = $1,12 \pm 0,01$ ум. од. у групі 2). У групах порівняння 1 і 2 визначили помірну централізацію кровообігу на тлі гіпотонії (КІТ = $77,13 \pm 1,84$ ум. од.; систолічний АТ = $108,72 \pm 2,01$ мм рт. ст.; КІТ = $79,89 \pm 2,44$ ум. од.; систолічний АТ = $98,59 \pm 2,91$ мм рт. ст. відповідно).

У групі 3 в поранених із тяжкими БТК спостерігали підвищення на 61,57 % частоти серцевих скорочень

($108,40 \pm 3,12$ уд/хв) порівняно з контрольною групою, але це не призводило до компенсації функціональних розладів. У поранених із БТК, які померли, коефіцієнт інтегральної тоничності та систолічний артеріальний тиск характеризували односпрямовані зміни в бік гіпотонії (КІТ = $72,13 \pm 2,55$ ум. од.; систолічний АТ = $95,62 \pm 3,61$ мм рт. ст.).

У групі 3 комплексні показники тяжкості травми та тяжкості стану поранених із тяжкою БТК на третьому рівні в динаміці травматичної хвороби характеризували зміну тяжкості травми на край тяжку з несприятливим прогнозом у 3 поранених, які померли. Вони доставлені з поля бою на третій рівень: 2 поранених із тяжкими поєднаними вогнепальними пораненнями стегна з багатуламковими вогнепальними переломами стегнової кістки, 1 – із тяжкими поєднаними МВП і відривом стопи. Головна причина смерті поранених – незворотний декомпенсований ТШ.

Встановили, що на четвертому рівні при тяжкій БТК у групах 1 і 2 спостерігали легкі функціональні розлади серцево-судинної системи з тенденцією до нормалізації (ПВФР = $7,73 \pm 0,23$ ум. од. та $7,56 \pm 0,27$ ум. од. відповідно). Відзначили підвищення цього показника у групах 1 і 2 внаслідок нормалізації разової продуктивності серця на тлі підвищення ХОК у динаміці травматичної хвороби.

У поранених із тяжкою БТК під час надходження на четвертий рівень у групі 3 визначили суттєві негативні зміни показників функціонального стану серцево-судинної системи внаслідок зниження разової та хвилинної продуктивності з прогресуванням надалі недостатності кровообігу в поранених, які померли (група 3 поранені, які вижили, $УІ = 34,53 \pm 4,05$ мл/м²; $СІ = 3,56 \pm 0,24$ л/хв/м²; група 3 поранені, які померли, $УІ = 18,96 \pm 4,11$ мл/м²; $СІ = 2,05 \pm 0,25$ л/хв/м²; ХОК = $4,59 \pm 0,23$ л/хв; КР = $81,14 \pm 4,66$ %) та дисгідрозу в поранених, які померли, на тлі недостатньо корегованої крововтрати (ПБ = $0,81 \pm 0,05$ ум. од.).

У групах 1 і 2 визначили помірне напруження системи зовнішнього дихання. У групі 3 встановили виражене напруження системи зовнішнього дихання (в поранених, які вижили, ЧД = $23,71 \pm 0,84$ /хв; КДЗ = $1,38 \pm 0,08$ ум. од.; ПНД = $32,71 \pm 1,31$ ум. од.; у поранених, які померли, ЧД = $22,21 \pm 1,68$ /хв; КДЗ = $1,49 \pm 0,10$ ум. од.; ПНД = $33,08 \pm 2,27$ ум. од.) порівняно з контрольною групою ($p_a < 0,05$).

Визначили, що компенсація функціональних розладів у поранених із тяжкою БТК у групах 1 і 2 відбувалася внаслідок помірного підвищення на 14,32 % частоти серцевих скорочень ($76,70 \pm 2,47$ уд/хв у групі 1; $79,13 \pm 2,07$ уд/хв у групі 2), помірної аритмії серця (ПСТ = $1,14 \pm 0,01$ ум. од. у групі 1; $1,15 \pm 0,01$ ум. од. у групі 2).

Компенсацію функціональних розладів у поранених, які вижили, з тяжкою БТК у групі 3 спостерігали внаслідок підвищення на 47,49 % частоти серцевих скорочень ($98,95 \pm 2,02$ уд/хв), помірної аритмії серця (ПСТ = $1,10 \pm 0,01$ ум. од.).

У групі 3 в поранених, які померли, з тяжкими БТК підвищення на 61,57 % частоти серцевих скорочень ($110,52 \pm 4,81$ уд/хв) не призводило до компенсації функціональних розладів. У померлих поранених із

Таблиця 1. Результати порівняльного аналізу показників функціонального стану серцево-судинної системи в поранених із украй тяжкою травмою

Показники гомеостазу, одиниці вимірювання	Контрольна група у спокої	Поранені з украй тяжкою бойовою травмою кінцівок на рівнях медичного забезпечення							
		Група 1 рівень 2	Група 2 рівень 2	Група 1 рівень 3	Група 2 рівень 3	Група 3 рівень 3	Група 1 рівень 4	Група 2 рівень 4, живі	Група 2 рівень 4, померлі
Ударний індекс, мл/м ²	48,48 ± 3,14	26,08 ± 1,37**	27,25 ± 1,54**	31,97 ± 1,95*	30,13 ± 1,47**	22,44 ± 1,99**	19,44 ± 1,78**	40,06 ± 1,54*	17,44 ± 1,76**
Хвилинний об'єм кровообігу, л/хв	6,41 ± 0,04	5,37 ± 0,25**	5,42 ± 0,34**	5,58 ± 0,37*	5,24 ± 0,29*	3,68 ± 0,74**	3,34 ± 0,69**	5,97 ± 0,50	2,99 ± 0,41**
Серцевий індекс, л/хв/м ²	4,22 ± 0,03	2,64 ± 0,21**	2,73 ± 0,24**	3,24 ± 0,23*	2,81 ± 0,24**	1,74 ± 0,36**	1,64 ± 0,29**	3,54 ± 0,22*	1,25 ± 0,33**
Частота серцевих скорочень, уд/хв	67,09 ± 6,02	117,42 ± 3,15**	120,08 ± 3,84**	90,17 ± 3,65**	91,46 ± 3,54**	112,01 ± 9,81**	108,86 ± 8,43**	83,49 ± 2,96*	107,91 ± 9,11**
Коефіцієнт резерву, %	104,12 ± 4,16	92,72 ± 5,11*	94,47 ± 4,85*	85,05 ± 6,04*	91,11 ± 6,98*	69,09 ± 7,04**	70,63 ± 6,67**	97,17 ± 7,31	67,21 ± 4,22**
Частота дихання, /хв	15,33 ± 1,00	22,53 ± 1,02**	22,53 ± 1,16**	24,39 ± 1,24*	22,20 ± 1,18*	21,01 ± 3,22**	21,64 ± 2,85**	22,56 ± 1,09	21,97 ± 2,03**
Коефіцієнт дихальних змін, ум. од.	1,12 ± 0,04	1,56 ± 0,04**	1,54 ± 0,05**	1,32 ± 0,05	1,58 ± 0,04**	1,97 ± 0,15**	1,86 ± 0,13**	1,45 ± 0,04*	1,94 ± 0,15**
Показник напруження дихання, ум. од.	17,17 ± 0,61	35,14 ± 2,16**	34,69 ± 2,41**	32,19 ± 2,35**	35,07 ± 2,17**	41,38 ± 5,29**	40,24 ± 4,12**	32,71 ± 2,95**	41,98 ± 4,19**
Показник гемодинамічного забезпечення, %	117,52 ± 5,12	51,14 ± 3,82**	52,78 ± 4,83**	51,20 ± 5,34**	50,35 ± 6,73**	32,36 ± 5,27**	34,02 ± 5,78**	58,54 ± 4,74**	31,03 ± 6,18**
Коефіцієнт інтегральної тонічності, ум. од.	74,17 ± 5,17	76,19 ± 2,35	75,86 ± 2,11	77,31 ± 1,98	74,12 ± 1,87	69,13 ± 3,21	64,88 ± 2,96*	75,11 ± 2,13	64,76 ± 2,51*
Показник стабілізації тону, ум. од.	1,01 ± 0,02	1,05 ± 0,01*	1,06 ± 0,01*	1,09 ± 0,01**	1,06 ± 0,01*	0,98 ± 0,01	0,91 ± 0,01**	1,09 ± 0,02*	0,85 ± 0,01**
Показник балансу, ум. од.	1,05 ± 0,05	0,92 ± 0,04*	0,89 ± 0,05*	1,01 ± 0,05	0,87 ± 0,04*	0,76 ± 0,08**	0,82 ± 0,09*	1,09 ± 0,04	0,61 ± 0,09**
Показник виразності функціональних розладів, ум. од.	8,23 ± 0,27	2,54 ± 0,12**	2,61 ± 0,20**	3,17 ± 0,18**	2,43 ± 0,18**	1,32 ± 0,15**	1,47 ± 0,16**	4,96 ± 0,54**	1,45 ± 0,26**

*: різниця статистично вірогідна порівняно з контрольною групою ($p_a < 0,05$); **: різниця статистично вірогідна порівняно з контрольною групою ($p_a < 0,01$).

БТК коефіцієнт інтегральної тонічності та систолічний артеріальний тиск характеризували односпрямовані зміни в бік гіпотонії (KIT = 72,70 ± 2,21 ум. од.; систолічний АТ = 79,20 ± 7,49 мм рт. ст.).

У групі порівняння 3 із 16 поранених із тяжкою БТК у трьох комплексні показники тяжкості травми на четвертому рівні в динаміці травматичної хвороби характеризували зміну тяжкості травми на край тяжку зі зміною прогнозу виживання на несприятливий. Таку тенденцію спостерігали до смерті поранених. Головною причиною смерті у 2 поранених із вогнепальними переломами стегнової кістки була жирова емболія, в 1 особи з вогнепальними переломами кісток гомілки – тромбоемболія легеневої артерії.

Отже, в поранених із тяжкою БТК під час надходження на другий рівень функціональний стан серцево-судинної системи був тяжким. Після надання медичної допомоги на другому та третьому рівнях і надходження на четвертий у групі 1 відбувалася поступова нормалізація цих показників, у групі 2 – зміна на помірні, у групі 3 – патофізіологічні показники залишались тяжкими, у 6 випадках із тенденцією до край тяжких і незворотних.

Під час надходження на другий рівень у поранених із край тяжкою БТК у групах порівняння спостерігали край тяжкі функціональні розлади серцево-судинної системи (ПВФР = 2,54 ± 0,12 ум. од. у групі 1; 2,61 ± 0,20

ум. од. у групі 2) внаслідок зниження на 43,80 % разової продуктивності серця (УІ = 26,08 ± 1,37 мл/м² у групі 1; 27,25 ± 1,54 мл/м² у групі 2), зниження на 35,31 % хвилинної продуктивності серця (ХОК = 5,25 ± 0,25 л/хв; СІ = 2,64 ± 0,21 л/хв/м² у групі 1 та ХОК = 5,42 ± 0,34 л/хв; СІ = 2,73 ± 0,24 у групі 2) з розвитком вираженої недостатності кровообігу та зовнішнього дихання (у групі 1 ЧД = 22,53 ± 1,02/хв; КДЗ = 1,56 ± 0,04 ум. од.; ПНД = 35,14 ± 2,16 ум. од.; у групі 2 ЧД = 22,53 ± 1,16/хв; КДЗ = 1,54 ± 0,05 ум. од.; ПНД = 34,69 ± 2,41 ум. од.) порівняно з контрольною групою ($p_a < 0,01$). Компенсація функції серцево-судинної системи в поранених із край тяжкою БТК наставала внаслідок підвищення на 60 % частоти серцевих скорочень (117,42 ± 3,15 уд/хв у групі 1 та 120,08 ± 3,84 уд/хв у групі 2) (табл. 1).

У поранених з край тяжкою БТК у групах 1 і 2 встановлена помірна централізація кровообігу на тлі гіпотонії (KIT = 76,19 ± 2,35 ум. од.; систолічний АТ = 58,22 ± 2,78 мм рт. ст. та KIT = 75,86 ± 2,11 ум. од.; систолічний АТ = 59,37 ± 2,97 мм рт. ст. відповідно). Показник балансу характеризував дисгідроз на тлі недостатньо корегованої крововтрати у групах 1 і 2 (0,92 ± 0,04 ум. од. та 0,89 ± 0,05 ум. од. відповідно).

На третьому рівні у групах порівняння спостерігали край тяжкий функціональний стан серцево-судинної системи (ПВФР = 3,17 ± 0,18 ум. од. у групі 1; 2,43 ± 0,18 ум. од. у групі 2; 1,32 ± 0,15 ум. од. у групі 3).

Особливістю слід вважати тенденцію до підвищення цього показника у групах 1 і 2 внаслідок зміни разової та хвилинної продуктивності серця на тлі збереження помірної недостатності кровообігу в динаміці (у групі 1 $UI = 31,97 \pm 1,95$ мл/м²; ХОК = $5,58 \pm 0,37$ л/хв, CI = $3,24 \pm 0,23$ л/хв/м²; КР = $85,05 \pm 6,04$ %; у групі 2 $UI = 30,13 \pm 1,47$ мл/м²; ХОК = $5,24 \pm 0,29$ л/хв, CI = $2,81 \pm 0,24$ л/хв/м²; КР = $91,11 \pm 6,98$ %).

У поранених із украї тяжкою БТК у групі 3 під час надходження на цьому етапі визначили суттєві зміни функціонального стану серцево-судинної системи внаслідок зниження разової та хвилинної продуктивності серця ($UI = 22,44 \pm 1,99$ мл/м²; ХОК = $3,68 \pm 0,74$ л/хв; CI = $1,74 \pm 0,36$ л/хв/м²) із розвитком критичної недостатності кровообігу (КР = $69,09 \pm 7,04$ %) та дисгідрозу на тлі недостатньо корегованої крововтрати (ПБ = $0,76 \pm 0,08$ ум. од.).

На третьому рівні визначили помірне напруження зовнішнього дихання у групі 1, виражене – у групах 2 і 3 (ЧД = $22,20 \pm 1,18$ /хв; КДЗ = $1,58 \pm 0,04$ ум. од.; ПНД = $35,07 \pm 2,17$ ум. од. та ЧД = $21,01 \pm 3,22$ /хв; КДЗ = $1,97 \pm 0,15$ ум. од.; ПНД = $41,38 \pm 5,29$ ум. од. відповідно) порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).

Компенсація функціональних розладів у поранених із украї тяжкою БТК у групах 1 і 2 наставала внаслідок підвищення на 34,4 % частоти серцевих скорочень ($90,17 \pm 3,65$ уд/хв у групі 1; $91,46 \pm 3,54$ уд/хв у групі 2), помірної аритмії серця у групі 1 (ПСТ = $1,09 \pm 0,01$ ум. од.). У групі порівняння 1 визначили помірну централізацію кровообігу на тлі гіпертонії (КІТ = $77,31 \pm 1,98$ ум. од.; систолічний АТ = $133,52 \pm 4,37$ мм рт. ст.), у групі 2 – на тлі гіпотонії (КІТ = $79,89 \pm 2,44$ ум. од.; систолічний АТ = $98,59 \pm 2,91$ мм рт. ст.).

У групі 3 в поранених з украї тяжкими БТК збільшення частоти серцевих скорочень в 1,5 раза ($112,01 \pm 9,81$ уд/хв) не призводило до компенсації функції серцево-судинної системи. У поранених із БТК, які померли, коефіцієнт інтегральної тоничності та систолічний артеріальний тиск характеризували односпрямовані зміни в бік гіпотонії з наступним колапсом артеріального тону (КІТ = $69,13 \pm 3,21$ ум. од.; систолічний АТ = $57,03 \pm 4,17$ мм рт. ст.).

На цьому етапі у групі 3 комплексні показники тяжкості травми та стану поранених із украї тяжкою БТК у динаміці травматичної хвороби характеризували тяжкість травми як украї тяжку з несприятливим прогнозом для життя. У зв'язку з цим 3 поранених із украї тяжкими ушкодженнями стегна та голілки померли від незворотного декомпенсованого ТШ.

На четвертому рівні в поранених із украї тяжкою БТК, які померли, у групах 1 та 2 спостерігали вкрай тяжкий функціональний стан серцево-судинної системи (ПВФР = $1,47 \pm 0,16$ ум. од. та $1,45 \pm 0,26$ ум. од. відповідно). Визначили зниження цього показника внаслідок незворотного падіння разової та хвилинної продуктивності серця та розвитку вираженої недостатності кровообігу (у групі 1 $UI = 19,44 \pm 1,78$ мл/м²; CI = $1,64 \pm 0,29$ л/хв/м²; ХОК = $3,34 \pm 0,69$ л/хв; КР = $70,63 \pm 6,67$ %; у групі 2 $UI = 17,44 \pm 1,76$ мл/м²; CI = $1,25 \pm 0,33$ л/хв/м²; ХОК = $2,99 \pm 0,41$ л/хв; КР = $67,21 \pm 4,22$ %) та ознак дисгідрозу на тлі недостат-

ньо корегованої крововтрати (у групі 1 ПБ = $0,82 \pm 0,09$ ум. од. та у групі 2 ПБ = $0,61 \pm 0,09$ ум. од.).

У групах 1 і 2 в поранених, які померли, визначали критичне напруження системи зовнішнього дихання (ЧД = $21,64 \pm 2,85$ /хв; КДЗ = $1,86 \pm 0,13$ ум. од.; ПНД = $40,24 \pm 4,12$ ум. од. та ЧД = $21,97 \pm 2,03$ /хв; КДЗ = $1,94 \pm 0,15$ ум. од.; ПНД = $41,98 \pm 4,19$ ум. од. відповідно) порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).

У померлих з украї тяжкою БТК підвищення на 62,26 % частоти серцевих скорочень у групі 1 та на 60,84 % у групі 2 ($108,86 \pm 8,43$ уд/хв та $107,91 \pm 9,11$ уд/хв відповідно) порівняно з контрольною групою не призводило до компенсації функціональних розладів. У поранених із вкрай тяжкою БТК, які померли, коефіцієнт інтегральної тоничності та систолічний артеріальний тиск характеризували односпрямовані зміни в бік гіпотонії та наступного колапсу артеріального тону (у групі 1 КІТ = $64,88 \pm 2,96$ ум. од.; систолічний АТ = $58,19 \pm 2,54$ мм рт. ст. та у групі 2 КІТ = $64,76 \pm 2,51$ ум. од.; систолічний АТ = $61,07 \pm 3,95$ мм рт. ст.).

У поранених з украї тяжкою БТК, які вижили, у групі 2 під час надходження на четвертий рівень визначили помірні зміни показників функціонального стану внаслідок зниження разової продуктивності серця ($UI = 40,06 \pm 1,54$ мл/м²). Спостерігали також помірне напруження системи зовнішнього дихання (ЧД = $22,56 \pm 1,09$ /хв; КДЗ = $1,45 \pm 0,04$ ум. од.; ПНД = $32,71 \pm 2,95$ ум. од.). Компенсація функціонального стану в поранених, які вижили, у групі 2 відбувалась унаслідок помірного підвищення на 24,44 % частоти серцевих скорочень ($83,49 \pm 2,96$ уд/хв), помірної аритмії серця (ПСТ = $1,09 \pm 0,02$ ум. од.).

У групі порівняння 1 померли четверо поранених із вкрай тяжкою БТК: 3 поранених із поєднаними ушкодженнями стегна з вогнепальними переломами стегнової кістки та відривами кінцівки з украї тяжкою травмою, 1 особа – внаслідок украї тяжкого ізолюваного МВП голілки. Головна причина смерті – поліорганна недостатність.

У групі порівняння 2 з 13 поранених із вкрай тяжкою БТК померли четверо. Головною причиною смерті у 2 поранених із вкрай тяжкими поєднаними ушкодженнями стегна була поліорганна недостатність, в 1 – тромбоемболія легеневої артерії, в 1 особи – жирова емболія. У 9 поранених украї тяжка травма з декомпенсованим зворотним ТШ у динаміці змінила прогноз перебігу травматичної хвороби з сумнівного на сприятливий.

Обговорення

Здійснені дослідження, що присвячені розв'язанню проблеми патофізіологічного обґрунтування стану поранених на рівнях медичного забезпечення. Для розв'язання проблеми з позиції доказової медицини проаналізували показники функціонального стану серцево-судинної системи на всіх рівнях медичного забезпечення залежно від тяжкості БТК.

На початку проведення АТО/ООС була невизначеність категорій поранених, яких можна евакуювати на наступний рівень без погіршення загального стану за скороченою схемою, а яким необхідно надавати медичну допомогу послідовно з поетапним вживанням

протишокових заходів і хірургічною тактикою контролю ушкоджень «damage control». Дехто з авторів рекомендували проходити всі рівні послідовно [11, 12]. Але тоді втрачався час на реконструкцію таких анатомо-функціональних структур, як кисть і стопа, що призводило до погіршення функціональних результатів лікування поранених. Інші дослідники вважали, що необхідно одразу доставляти поранених на четвертий рівень медичного забезпечення [13]. Результатом такого підходу на початку АТО був високий рівень летальності серед поранених – 19,6 %.

Протягом досліджень доведено, що в поранених із тяжкою та вкрай тяжкою БТК, починаючи з другого рівня медичного забезпечення при послідовному проведенні протишокових заходів на етапах медичної евакуації, спостерігали позитивну динаміку показників функціонального стану серцево-судинної системи до легкого ступеня. При скороченні етапів спостерігали тенденцію до погіршення загального стану поранених і зниження функціональних показників на 41,8–53,6 % до незворотних величин ($p_a < 0,05$). Динамічні зміни показника виразності функціональних розладів серцево-судинної системи підтверджували перевагу схеми послідовної евакуації поранених із важкими та вкрай важкими БТК.

У поранених із нетяжкою БТК скорочення рівнів медичного забезпечення не призводило до погіршення загального стану, а функціональні розлади під час медичної евакуації мали помірний характер. Здійснені дослідження стали основою для удосконалення системи надання травматологічної допомоги на рівнях медичного забезпечення, що дало змогу зменшити рівень летальності (з 19,6 % до 5,6 %), рівень місцевих ускладнень (з 65,6 % до 49,3 %). Відбувається покращення функціональних результатів: збільшена питома вага хороших (з 46,9 % до 53,7 %), зменшена відносна кількість незадовільних (з 18,8 % до 11,6 %) і кількість поранених, які були звільнені з лав Збройних Сил України за станом здоров'я (з 28,1 % до 21,7 %) ($p_a < 0,05$).

Висновки

1. Послідовне надання травматологічної допомоги пораненим на рівнях медичного забезпечення шляхом своєчасно виконаних оперативних утручань, вживання протишокових заходів і збереження резервних сил організму поранених із вкрай важкими та важкими бойовими травмами кінцівок (5 і більше балів) дає змогу досягти поступової зміни функціонального стану серцево-судинної системи з важкого ступеня до помірного.

2. Надання медичної допомоги пораненим із нетяжкою травмою (<5 балів) за скороченою схемою не призводить до погіршення функціонального стану серцево-судинної системи, пацієнти можуть бути евакуйовані одразу у клініки реконструктивно-відновної хірургії четвертого рівня медичного забезпечення.

Перспективи подальших досліджень. На підставі комплексного анатомо-функціонального аналізу встановити закономірності змін показників гомеостазу в різні періоди травматичної хвороби та визначити категорії поранених, в яких залежно від тяжкості травми розвивається «феномен взаємного обтяження».

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.08.2019

Після доопрацювання / Revised: 22.10.2019

Прийнято до друку / Accepted: 04.11.2019

Відомості про авторів:

Хоменко І. П., член-кореспондент НАМН України, генерал-майор медичної служби, д-р мед. наук, професор, начальник Головного військово-медичного управління Міністерства оборони України, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-8199-5083

Король С. О., д-р мед. наук, доцент, професор каф. військової хірургії, полковник медичної служби, Українська військово-медична академія, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-1036-0355

Кожокару А. А., д-р мед. наук, професор, начальник каф. військово-профілактичної медицини, полковник медичної служби, Українська військово-медична академія, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-8233-421X

Матвійчук Б. В., ординатор травматологічного відділення, старший лейтенант медичної служби, Військово-медичний клінічний центр професійної патології особового складу, м. Ірпінь, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3770-3984

Січинава Р. М., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0003-2163-8460

Сведения об авторах:

Хоменко И. П., член-корреспондент НАМН Украины, д-р мед. наук, генерал-майор медицинской службы, начальник Главного военно-медицинского управления Министерства обороны Украины, г. Киев.

Король С. А., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. военной хирургии, полковник медицинской службы, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев.

Кожокару А. А., д-р мед. наук, профессор, полковник медицинской службы, начальник каф. военно-профилактической медицины, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев, Украина.

Матвийчук Б. В., ординатор травматологического отделения, старший лейтенант медицинской службы, Военно-медицинский клинический центр профессиональных проблем личного состава, г. Ирпень, Украина.

Сичинава Р. М., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, Украинский научно-исследовательский центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, г. Киев.

Information about authors:

Khomenko I. P., Corresponding Member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Major-General of the Medical Service, MD, PhD, DSc, Chief, General Military Medical Directorate of the Ministry of Defense of Ukraine, Kyiv.

Korol S. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Military Surgery, Colonel of Medical Service, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv.

Kozhokaru A. A., MD, PhD, DSc, Professor, Colonel of Medical Service, Head of the Department of Military Preventive Medicine, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv.

Matviichuk B. V., Traumatology Department Resident, Senior Medical Service Lieutenant, Military Medical Clinical Center for Professional Pathology of Personnel, Irpin, Ukraine.

Sichinava R. M., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv.

Список літератури

- [1] Update on gunshot wounds to extremities / F. von Lübken et al. *Unfallchirurg*. 2018. Vol. 121. Iss. 1. P. 59-72. <https://doi.org/10.1007/s00113-017-0449-4> [in German].
- [2] Военно-польова хірургія / за ред. Я. Л. Заруцького, В. Я. Білого. Київ: Фенікс, 2018. 544 с.
- [3] Predictors of outcome in 101 patients requiring emergent thoracotomy for penetrating pulmonary injuries / J. A. Asensio et al. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2018. Vol. 44. Iss. 1. – P. 55-61.
- [4] A retrospective analysis of the respiratory adjusted shock index to determine the presence of occult shock in trauma patients / N. Caputo et al. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2018. Vol. 84. Iss. 4. P. 674-678.
- [5] Permissive hypotension versus conventional resuscitation strategies in adult trauma patients with hemorrhagic shock: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / A. Tran et al. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2018. Vol. 84. Iss. 5. P. 802-808.
- [6] Convertino V. A. Mechanisms of inspiration that modulate cardiovascular control: The other side of breathing. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*. 2019. Vol. 127. Iss. 5. P. 1187-1196.
- [7] Li Y., Zhou J. Advances in the research of application of pulse contour cardiac output monitor technology in patients with large area of burns. *Chinese Journal of Burns*. 2018. Vol. 34. Iss. 10. P. 737-740.
- [8] Effects of different target blood pressure resuscitation on peripheral blood inflammatory factors and hemodynamics in patients with traumatic hemorrhagic shock / Z. Shao et al. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2019. Vol. 31. Iss. 4. P. 428-433. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.011>
- [9] Заруцький Я. Л., Король С. О., Крешун Є. А. Диференційована тактика надання травматологічної допомоги пораненим з бойовими травмами кінцівок на етапах медичної евакуації. *Одеський медичний журнал*. 2017. № 3. С. 18-23.
- [10] Взаимосвязь показателей сердечно-сосудистой системы и эндотелиальной дисфункции у пациентов с геморрагическим шоком / Т. Н. Юдакова, А. О. Гирш, С. В. Максимишин, О. А. Мальков. *Анестезиология и реаниматология*. 2013. № 6. С. 11-14.
- [11] Treatment of gunshot fractures of the lower extremity: Part 2: Procedures for secondary reconstruction and treatment results / A. Franke et al. *Unfallchirurg*. 2014. Vol. 117. Iss. 11. P. 985-994. <https://doi.org/10.1007/s00113-014-2636-x> [in German].
- [12] Risk factors associated with amputation in civilian popliteal artery trauma / M. J. Ramdass et al. *Injury*. 2018. Vol. 49. Iss. 6. P. 1188-1192.
- [13] Schoenfeld A. J. Dunn J. C., Belmont P. J. Pelvic, spinal and extremity wounds among combat-specific personnel serving in Iraq and Afghanistan (2003-2011): A new paradigm in military musculoskeletal medicine. *Injury*. 2013. Vol. 44. Iss. 12. P. 1866-1870.
- [9] Zarutskyy, Ya. L., Korol, S. O., & Kreshun, Ye. A. (2017). Dyferenttsiivovana taktyka nadannia travmatolohichnoi dopomohy poranenyim z boiovymy travmamy kintsivok na etapakh medychnoi evakuatsii [Differential management of rendering traumatologic care to wounded from combat limb injuries during medical evacuation]. *Odeskii medichnyi zhurnal*, 3, 18-23 [in Ukrainian].
- [10] Iudakova T. N., Girsh A. O., Maksimishin S. V., & Malcov O. A. (2013). Vzaimosvyaz pokazateley serdечно-sosudistoy sistemy i endotelialnoy disfunktsii u patsientov s gemorragicheskim shokom [Association of cardiovascular system and endothelial dysfunction indicators in patients with hemorrhagic shock]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*, (6), 11–14 [in Russian].
- [11] Franke, A., Bieler, D., Wilms, A., Hentsch, S., Johann, M., & Kollig, E. (2014). Treatment of gunshot fractures of the lower extremity: Part 2: Procedures for secondary reconstruction and treatment results. *Unfallchirurg*, 117(11), 985-994. <https://doi.org/10.1007/s00113-014-2636-x> [in German].
- [12] Ramdass, M. J., Muddeen, A., Harnarayan, P., Spence, R., & Milne, D. (2018). Risk factors associated with amputation in civilian popliteal artery trauma. *Injury*, 49(6), 1188–1192. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2018.04.028>
- [13] Schoenfeld, A. J., Dunn, J. C., & Belmont, P. J. (2013). Pelvic, spinal and extremity wounds among combat-specific personnel serving in Iraq and Afghanistan (2003-2011): A new paradigm in military musculoskeletal medicine. *Injury*, 44(12), 1866–1870. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2013.08.001>

References

- [1] von Lübken, F., Achatz, G., Friemert, B., Mauser, M., Franke, A., Kollig, E., & Bieler, D. (2018). Update on gunshot wounds to extremities. *Unfallchirurg*, 121(1), 59-72. <https://doi.org/10.1007/s00113-017-0449-4> [in German].
- [2] Zarutskiy, Ya. L., & Bilyi, V. Ya. (Eds.). (2018). *Voенно-poliova khirurgiia* [Military field surgery]. Kyiv: Fenix [in Ukrainian].
- [3] Asensio, J. A., Ogun, O. A., Mazzini, F. N., Perez-Alonso, A. J., Garcia-Núñez, L. M., & Petrone, P. (2018). Predictors of outcome in 101 patients requiring emergent thoracotomy for penetrating pulmonary injuries. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 44(1), 55-61. <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0802-x>
- [4] Caputo, N., Reilly, J., Kanter, M., & West, J. (2018). A retrospective analysis of the respiratory adjusted shock index to determine the presence of occult shock in trauma patients. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 84(4), 674-678. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001761>
- [5] Tran, A., Yates, J., Lau, A., Lampron, J., & Matar, M. (2018). Permissive hypotension versus conventional resuscitation strategies in adult trauma patients with hemorrhagic shock: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 84(5), 802-808. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001816>
- [6] Convertino, V. A. (2019). Mechanisms of inspiration that modulate cardiovascular control: The other side of breathing. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 127(5), 1187-1196. doi: 10.1152/jappphysiol.00050.2019
- [7] Li, Y., & Zhou, J. L. (2018). Advances in the research of application of pulse contour cardiac output monitor technology in patients with large area of burns. *Chinese Journal of Burns*, 34(10), 737-740. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.10.018> [in Chinese].
- [8] Shao, Z., Du, Z., Wang, R., Wang, Z., He, X., Wang, H., . . . Cheng, F. (2019). Effects of different target blood pressure resuscitation on peripheral blood inflammatory factors and hemodynamics in patients with traumatic hemorrhagic shock. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 31(4), 428-433. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.04.011 [in Chinese].

Активність матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові при хронічному гранулювальному періодонтиті

Д. І. Гайдаш^{A,B}, І. С. Гайдаш^{*E,F}, О. О. Бондарь^B, Ю. О. Євтушенко^C, О. І. Гайдаш^D

Луганський державний медичний університет, м. Рубіжне, Україна

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

Мета роботи – вивчити активність матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові при хронічному гранулювальному періодонтиті.

Матеріали та методи. Дослідили сироватку крові 15 хворих на хронічний гранулювальний періодонтит і сироватку крові 15 здорових донорів чоловічої статі віком 32–37 років. Активність ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 визначали твердофазним імуноферментним методом, використовуючи тест-системи (R&D Diagnostics Inc., USA) на автоматичному імуноферментному комплексі «GBG Star Fax 2100» виробництва фірми «Awareness Technology Inc.» (USA). Статистичне оцінювання результатів здійснили з використанням сформованої бази даних у програмі Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), № STA999K347156-W.

Результати. Встановили, що у фазі загострення хронічного гранулювального періодонтиту в сироватці крові хворих відбувається підвищення концентрацій ММП-8 і ММП-9, які перевищують вміст ТІМП-1, що супроводжується зменшенням співвідношень ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1 порівняно з такими для здорових осіб. У фазі ранньої реконвалесценції, на 3–5 день після лікування хворих із загостренням хронічного гранулювального періодонтиту, концентрації ММП-8 і ММП-9 у сироватці крові зменшувались динамічніше, ніж концентрація ТІМП-1, що супроводжувалося підвищенням співвідношень ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1, однак повна нормалізація вмісту ММП-8, ММП-9, ТІМП-1 і співвідношень ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1 не відбувалась.

Висновки. Хронічний гранулювальний періодонтит супроводжується змінами в сироватці крові хворих вмісту ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1, що залежать від фази патологічного процесу. Найбільші концентрації ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 зареєстрували у фазі загострення захворювання. У фазі ранньої реконвалесценції, на 3–5 день після санації вогнища запалення, концентрації ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 у сироватці крові зменшуються, і динаміка зменшення вмісту ММП-8 і ММП-9 превалює над такою для ТІМП-1. Коефіцієнти ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1, що характеризують баланс у системі ММП/ТІМП, дають змогу оцінювати стан цієї системи в динаміці захворювання.

Ключові слова:

хронічний гранулювальний періодонтит, матричні металопротеїнази, інгібітори матричних металопротеїназ.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 381–386

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188896

*E-mail: igor.gaidasch@ukr.net

Активність матричних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові при хронічному гранулювальному періодонтиті

Д. І. Гайдаш, І. С. Гайдаш, А. А. Бондарь, Ю. А. Євтушенко, Е. І. Гайдаш

Цель работы – изучить активность матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов при хроническом гранулирующем периодонтите.

Материалы и методы. Исследовали сыворотку крови 15 больных хроническим гранулирующим периодонтитом и сыворотку крови 15 здоровых доноров мужского пола в возрасте 32–37 лет. Активность ММП-8, ММП-9 и ТІМП-1 определили твердофазным иммуноферментным методом с использованием тест-систем (R&D Diagnostics Inc., USA) на автоматическом иммуноферментном комплексе «GBG Star Fax 2100» производства фирмы «Awareness Technology Inc.» (USA). Статистическое оценивание результатов провели с использованием сформированной базы данных в программе Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), № STA999K347156-W.

Результаты. Установили, что в фазе обострения хронического гранулирующего периодонтита в сыворотке крови больных имеет место повышение концентраций ММП-8 и ММП-9, которые превышают содержание ТІМП-1, что сопровождается уменьшением соотношений ММП-8/ТІМП-1 и ММП-9/ТІМП-1, по сравнению с таковыми для здоровых. В фазе ранней реконвалесценции, на 3–5 день после проведения лечения больных с обострением хронического гранулирующего периодонтита, концентрации ММП-8 и ММП-9 в сыворотке крови уменьшались динамичнее, чем концентрация ТІМП-1, что сопровождалось повышением соотношений ММП-8/ТІМП-1 и ММП-9/ТІМП-1, при этом полная нормализация содержания ММП-8, ММП-9, ТІМП-1 и соотношений ММП-8/ТІМП-1 и ММП-9/ТІМП-1 не происходила.

Выводы. Хронический гранулирующий периодонтит сопровождается изменениями в сыворотке крови больных содержания ММП-8, ММП-9 и ТІМП-1, которые зависят от фазы патологического процесса. Наибольшие концентрации ММП-8, ММП-9 и ТІМП-1 зарегистрированы в фазе обострения заболевания. В фазе ранней реконвалесценции, на 3–5 день после санации очага воспаления, концентрации ММП-8, ММП-9 и ТІМП-1 в сыворотке крови уменьшаются, при этом динамика уменьшения содержания ММП-8 и ММП-9 превалирует над таковой для ТІМП-1. Коэффициенты ММП-8/ТІМП-1 и ММП-9/ТІМП-1, которые характеризуют баланс в системе ММП/ТІМП, позволяют оценивать состояние данной системы в динамике заболевания.

Ключевые слова:

хронический гранулирующий периодонтит, матричные металлопротеиназы, ингибиторы матричных металлопротеиназ.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 381–386

Key words:

chronic granulating periodontitis, matrix metalloproteinases, tissue matrix metalloproteinase inhibitors.

Pathologia

2019; 16 (3), 381–386

Activity of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in serum in chronic granulating periodontitis

D. I. Haidash, I. S. Haidash, O. O. Bondar, Yu. O. Yevtushenko, O. I. Haidash

Aim. The aim of the work is to study the activity of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in chronic granular periodontitis.

Materials and methods. We examined serum of 15 patients with chronic granulating periodontitis and 15 healthy male blood donors aged 32 to 37 years. Determination of MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 activity was performed by solid-phase enzyme immunoassay using test systems (R&D Diagnostics Inc., USA) on the automatic immunoenzyme complex "GBG Star Fax 2100" produced by "Awareness Technology Inc." (USA). Statistical evaluation of the results was carried out using the generated database in the program Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), № STA999K347156-W.

Results. It was established that in the phase of exacerbation of chronic granulating periodontitis in the blood serum of patients there was an increase in concentrations of MMP-8 and MMP-9, which exceeded the content of TIMP-1, which was accompanied by a decrease in the ratio of MMP-8/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-1, compared with those for healthy individuals. In the phase of early convalescence, 3–5 days after treatment of patients with exacerbation of chronic granulating periodontitis, concentrations of MMP-8 and MMP-9 in the blood serum of the examined patients decreased more dynamically than the concentration of TIMP-1, that was accompanied by an increase in the ratio of MMP-8/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-1, at the same time the full normalization of MMP-8, MMP-9, TIMP-1 and the ratio of MMP-8/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-1 did not happen.

Conclusions. Chronic granulating periodontitis is accompanied by changes in the blood serum of patients with MMP-8, MMP-9 and TIMP-1, which depend on the phase of the pathological process. The highest concentrations of MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 are recorded in the acute phase of the disease. In the phase of early convalescence, 3–5 days after the remediation of the focus of inflammation, the concentrations of MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 in serum are decreased, while the dynamics of decreasing of the content of MMP-8 and MMP-9 prevails over that for TIMP-1. The coefficients MMP-8/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-1, which characterize the balance in the system of MMP/TIMP, allow assessing the state of the system in the dynamics of the disease.

Періодонтит – одне з поширених запальних стоматологічних захворювань, що вражає сполучну тканину між кісткою лунки, в якій розташований зуб, і цементом його кореня [1]. Питома вага періодонтиту у структурі стоматологічної патології становить 40–75 %, його реєструють здебільшого в осіб віком 35–44 роки [2–4]. Одним із клінічних варіантів періодонтиту є хронічний гранулювальний періодонтит (ХГП) – процес, що активно прогресує в періодонті та прилеглий кістковій тканині, при цьому розростається грануляційна тканина, яка заміщує періодонт, а патологічний процес поширюється за межі періодонтальної щілини [1].

Найчастіше періодонтит виникає у відповідь на проникнення у тканини періодонта асоціацій мікроорганізмів – грамположитивних і грамнегативних неспорутовувальних анаеробних бактерій, ендотоксини та екзоферменти яких вражають навколишні тканини [5,6]. Бактеріальна інвазія стимулює імунну відповідь, яка зокрема має прояв в інфільтрації уражених тканин лейкоцитами, котрі внаслідок екскреції власних ферментів та інших цитокінів беруть участь у розгортанні запалення в періодонті [7].

Особливу роль у розвитку та підтримці запалення в періодонті відіграють матриксні металопротеїнази (ММП) – цинк- і кальцій-залежні ендopeптидази – ферменти катаболізму більшості білків позаклітинного матриксу [8,9]. ММП секретуються епітеліоцитами, фібробластами, нейтрофілами, макрофагами, остеобластами тощо, одна і та сама клітина може синтезувати різні ММП [9]. З усіх матриксних металопротеїназ найбільш вивченими є ММП-1 (колагеназа-1), ММП-8 (колагеназа-2) і ММП-13 (колагеназа-3), які беруть участь у розпаді колагену I, II, III типів, а також інших компонентів внутрішньоклітинного матриксу, як-от неколагенові білки [9].

Активність ММП у тканинах регулюється тканинними інгібіторами металопротеїназ (ТІМП), які зв'язу-

ються з активним центром ММП і пригнічують їхню активність. ТІМП синтезуються клітинами сполучної тканини та лейкоцитами. В організмі людини відомі 4 типи ТІМП: ТІМП-1, ТІМП-2, ТІМП-3, ТІМП-4 [10]. ММП є ключовим фактором пошкодження тканин при пародонтиті, ерозії дентину. Причина збільшення активності ММП під час цих стоматологічних патологій – порушення балансу між ММП та їхніми інгібіторами – ТІМП [11].

У науковій літературі наведено багато досліджень кількісного та якісного складу ММП і ТІМП при пародонтиті, однак про стан системи ММП/ТІМП при періодонтитах відомості поодинокі та стосуються стану системи ММП/ТІМП у ясенній рідині [19], що є підставою для ретельного вивчення кількісного та якісного вмісту ММП і ТІМП у сироватці крові хворих на періодонтити.

Мета роботи

Вивчити активність матриксних металопротеїназ та їхніх тканинних інгібіторів у сироватці крові при хронічному гранулювальному періодонтиті.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 15 хворих на ХГП, які отримували амбулаторне лікування в міській стоматологічній поліклініці м. Рубіжне з грудня до січня 2019 року.

Кров у хворих брали двічі: у фазі загострення та у фазі реконвалесценції (на 3–5 день після лікування). Усі пацієнти – чоловіки віком від 32 до 37 років (середній вік – $34,5 \pm 1,7$ року), супутня хронічна патологія нервової та ендокринної систем, внутрішніх органів й опорно-рухового апарату в пацієнтів із проявами ХГП відсутня.

У контрольну групу ввійшли 15 практично здорових чоловіків віком від 34 до 38 років (середній вік – $35,2 \pm 1,8$ року), в них під час обстеження не виявили дані щодо ураження періодонта, а також гострої або хронічної патології нервової та ендокринної систем, внутрішніх органів й опорно-рухового апарату.

Усі обстежені особи підписували інформаційну угоду про добровільну участь у дослідженні після всебічного роз'яснення його мети.

Матеріал для лабораторного дослідження – сироватка венозної крові, яку брали з вени осіб контрольної групи одноразово вранці натще, а у хворих на ХГП двічі – у стадії загострення ХГП і на 3–5 день після лікування. Сироватку крові до здійснення лабораторного дослідження зберігали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ у криостаті.

Активність ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 визначали твердофазним імуноферментним методом, використовуючи стандартні тест-системи Human MMP-8 (total), Human MMP-9 (total), Human TIMP-1 (R&D Diagnostics Inc., USA) на автоматичному імуноферментному комплексі «GBG Star Fax 2100» виробництва фірми «Awareness Technology Inc.» (USA).

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконали параметричними методами, використовуючи програми Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), ліцензійний № STA999K347156-W. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати

У хворих на ХГП встановили підвищення вмісту ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 у сироватці крові, і рівень підвищення залежав від фази патологічного процесу (табл. 1).

У фазі загострення ХГП концентрація ММП-8 у сироватці хворих була збільшена в 3,45 раза щодо аналогічного показника в контрольній групі, а концентрації ММП-9 і ТІМП-1 збільшені у 2,15 і в 1,48 раза відповідно.

У зв'язку з тим, що в сироватці обстежених рівні ММП-8 і ММП-9 істотно перевищували рівень ТІМП-1, коефіцієнти ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1 суттєво зростали порівняно з такими для осіб контрольної групи. Так, коефіцієнт ММП-8/ТІМП-1 був збільшеним у 2,21 раза, а коефіцієнт ММП-9/ТІМП-1 – в 1,45 раза.

У фазі реконвалесценції, тобто на 3–5 день після лікування хворих на ХГП, концентрації ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 зменшувались, але повна нормалізація не відбувалась. Зменшення концентрацій ММП-8 і ММП-9 відбувалося динамічніше, ніж зменшення концентрації ТІМП-1.

Так, вміст ММП-8 у сироватці крові пацієнтів у фазі реконвалесценції становив у середньому $36,65 \pm 1,21$ нг/мл, що було нижче рівня ММП-8 у фазі загострення ХГП у 2,14 раза ($p < 0,0001$), але цей рівень ММП-8 в 1,62 раза перевищував такий показник у контрольній групі ($p < 0,0001$). Вміст ММП-9 у фазі реконвалесценції зменшився порівняно з фазою загострення ХГП в 1,96 раза ($p < 0,0001$) і залишався в 1,10 раза вищим за аналогічний показник у контрольній групі, не досягаючи вірогідності різниці.

Концентрація ТІМП-1 у сироватці пацієнтів у фазі реконвалесценції зменшилась проти початкового

Таблиця 1. Концентрації матриксних металопротеїназ і тканинних інгібіторів металопротеїназу у сироватці крові хворих на ХГП у динаміці хвороби

Показники	Контрольна група (n = 15)	Загострення ХГП (n = 15)	Реконвалесценція після санації (n = 15)
ММП-8, нг/мл	$22,67 \pm 0,95$	$78,29 \pm 2,69$ $p_1 < 0,0001$	$36,65 \pm 1,21$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,0001$
ММП-9, нг/мл	$83,07 \pm 3,88$	$178,91 \pm 8,59$ $p_1 < 0,0001$	$91,21 \pm 2,05$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 = 0,07$
ТІМП-1, нг/мл	$83,86 \pm 3,61$	$124,44 \pm 5,16$ $p_1 < 0,0001$	$109,33 \pm 3,40$ $P_1 = 0,02$ $p_2 < 0,0001$
ММП-8/ТІМП-1, у. о.	$0,289 \pm 0,02$	$0,640 \pm 0,02$ $p_1 < 0,0001$	$0,340 \pm 0,01$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 = 0,03$
ММП-9/ТІМП-1, у. о.	$0,99 \pm 0,01$	$1,44 \pm 0,03$ $p_1 < 0,0001$	$0,840 \pm 0,01$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,0001$

p_1 : порівняно з групою контролю; p_2 : порівняно з показниками у фазі загострення ХГП.

рівня у фазі загострення ХГП в 1,14 раза ($p < 0,0001$), перевищуючи відповідний показник у контрольній групі в 1,30 раза ($p = 0,02$).

Унаслідок наведених змін вмісту ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 коефіцієнт ММП-8/ТІМП-1 у фазі реконвалесценції становив у середньому $0,34 \pm 0,01$ у.о., що було в 1,88 раза вище за такий у фазі загострення ХГП і в 1,18 раза вище порівняно з контрольною групою ($p = 0,03$). Коефіцієнт ММП-9/ТІМП-1 у фазі реконвалесценції зменшився проти початкового значення в 1,71 раза, становлячи у середньому $0,840 \pm 0,01$ у.о., тобто в 1,18 раза вище за аналогічний показник у контрольній групі ($p < 0,0001$).

Обговорення

Результати дослідження свідчать, що однією зі складових хронічного запалення в періодонті, що супроводжується формуванням гранульом у кістковій тканині, є активація системи матриксних металопротеїназ та їхніх інгібіторів.

Основним джерелом постачання ММП-8 при ХГП є поліморфноядерні нейтрофіли, які прямують у вогнище запалення, де активується періодонтопатогенна мікрофлора [12]. ММП-8, котра відома також як нейтрофільна колагеназа й колагеназа-2, забезпечує до 90–95 % колагенолітичної активності щодо колагену I типу [1]. Активізацію нейтрофілів у вогнищі запалення викликають ендотоксини пародонтопатогенних мікроорганізмів: пептидоглікани, ліпополісахариди, тейхоеві кислоти [6]. Після стимуляції ендотоксинами нейтрофіли виділяють зі своїх гранул ММП-8 майже негайно [1].

Матриксні металопротеїнази є ендопептидазами, які деградують компоненти позаклітинного матриксу, але також модулюють запалення. Під час бактеріальних інфекцій MMPs важливі в рекрутингу та міграції запальних клітин. Крім полегшення міграції клітин шляхом деградації компонентів позаклітинного матриксу, вони потенціюють дію кількох запальних молекул, включаючи цитокіни, хемокіни та антимікробні пептиди [13].

На думку дослідників [8,14], ММП-8 є одним із найбільш перспективних біомаркерів для ранньої

діагностики стоматологічної патології, але в деяких недавніх дослідженнях результати мають протиріччя, що потребує продовження вивчення ролі ММП-8 при запаленні пародонта та періодонта. За даними авторів [8], рівень ММП-8 у слині був істотно вищий у пацієнтів із періодонтитом порівняно з контролем.

Збільшення експресії ММП-8 в апікальній тканині при періодонтиті зареєстровано в досліджах [15], при цьому експресія ММП-8 за результатами полімеразної ланцюгової реакції як при симптоматичному, так і асимптоматичному апікальному періодонтиті була доволі значущою.

За даними [16], ММП-8 у слині людей, які хворі на періодонтит, наявна у множинних формах: комплекси, активовані молекули і проформи ММП-8 нейтрофільного та мезенхімального типів, а також фрагменти 20–27 кДа. Кількість цих фрагментів була підвищеною при різних клінічних формах хвороби.

Джерелом ММП-9 (желатиназа В) є лейкоцити, зокрема моноцити, макрофаги, фібробласти. Усі ці типи клітин наявні у вогнищі ХГП. ММП-9 секретується головним чином клітинами, які зазнали запалення. Субстратом для ММП-9 є денатурований колаген I типу (желатин), нативні колагени інших типів, фибриноген, а також ентактин, який з'єднує ламінін і колаген IV типу. ММП-9 бере участь у регуляції запалення шляхом процесингу цитокінів/хемокинів [17].

У наших дослідженнях підвищений вміст ММП-8 і ММП-9 у фазі загострення ХГП, без сумніву, зумовлений наявністю у вогнищі хронічного запалення в періодонті активованих нейтрофілів, моноцитів та інших клітин – продуцентів цих металопротеїназ. Привертає увагу, що ступінь збільшення вмісту ММП-8 у сироватці крові у хворих на ХГП у фазі загострення значно більший, ніж для ММП-9 (3,45 раза проти 2,15 раза).

Активність ММП у тканинах регулюється зокрема їхніми головними ендогенними інгібіторами – ТІМП, які продукуються клітинами стромы. Відомо, що основним місцем експресії ТІМП-1 є кісткова тканина. ТІМП-1 блокує руйнування екстрацелюлярного матриксу, стимулює клітинну проліферацію, володіє антиапоптотичною активністю [18].

За результатами нашого дослідження, вміст ТІМП-1 у сироватці крові хворих на ХГП у фазі загострення при чіткій тенденції до збільшення (в 1,48 раза проти показника контрольної групи) залишається недостатнім для інгібування ММП-8 і ММП-9, на що вказує збільшення коефіцієнтів ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1. Отже, домінує деструкція тканин у вогнищі запалення у фазі загострення ХГП.

У фазі реконвалесценції, після санації вогнища запалення ХГП визначили суттєве зниження в сироватці крові пацієнтів вмісту ММП-8 і ММП-9 при значно меншому темпі зниження вмісту ТІМП-1. Отже, у фазі реконвалесценції в місці руйнування періодонта починають превалювати процеси репарації тканин. Доказом цього є зареєстроване у фазі реконвалесценції ХГП зменшення коефіцієнтів ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1.

Спрямованість до зниження ММП-8 і ТІМП-1 після нехірургічного лікування хворих із періодонтальною патологією визначена в досліджах [19].

Загалом, результати дослідження свідчать: ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 відіграють важливу роль у патогенезі ХГП.

Висновки

1. Хронічний гранулювальний періодонтит супроводжується змінами в сироватці крові хворих вмісту ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1, які залежать від фази патологічного процесу. Найбільші концентрації ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 зареєстровано у фазі загострення ХГП. У фазі реконвалесценції хронічного гранулювального періодонтиту, після санації вогнища запалення концентрації ММП-8, ММП-9 і ТІМП-1 у сироватці крові зменшуються, і динаміка зменшення вмісту ММП-8 і ММП-9 превалює над такою для ТІМП-1.

2. Коефіцієнти ММП-8/ТІМП-1 і ММП-9/ТІМП-1, які характеризують баланс у системі матриксних металопротеїназ та їхніх інгібіторів, дають змогу оцінювати стан цієї системи в динаміці захворювання.

Перспективи подальших досліджень. Планується дослідження вмісту ММП-1, ММП-2 і ТІМП-2 у крові хворих на хронічний гранулювальний періодонтит у динаміці захворювання.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.04.2019

Після доопрацювання / Revised: 11.11.2019

Прийнято до друку / Accepted: 21.11.2019

Відомості про авторів:

Гайдаш Д. І., аспірант каф. нормальної фізіології і патофізіології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5686-4890

Гайдаш І. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, гігієни та екології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна, заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: 0000-0002-1502-4422

Бондарь О. О., асистент каф. стоматології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9701-9327

Євтушенко Ю. О., канд. пед. наук, зав. каф. медичної та біологічної фізики, медичної інформатики та біостатистики, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-7315-3337

Гайдаш О. І., асистент каф. мікробіології, гігієни та екології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7977-9966

Сведения об авторах:

Гайдаш Д. И., аспирант каф. нормальной физиологии и патофизиологии, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Гайдаш И. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, гигиены и экологии, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Бондарь А. А., ассистент каф. стоматологии, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Евтушенко Ю. А., канд. пед. наук, зав. каф. медичинської та біологічної фізики, медичинської інформатики та біостатистики, ГЗ «Луганський державний медичинський університет», г. Рубежне, Україна.
Гайдаш Е. І., асистент каф. мікробіології, гігієни та екології, ГЗ «Луганський державний медичинський університет», г. Рубежне, Україна.

Information about authors:

Haidash D. I., Postgraduate Student of the Department of Normal Physiology and Pathophysiology, State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

Haidash I. S., MD, PhD, DSc, Professor, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Head of the Department of Microbiology, Hygiene and Ecology, State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

Bondar O. O., Assistant of the Department of Dentistry, State Institution «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

Yevtushenko Yu. O., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Medical and Biological Physics, Medical Informatics and Biostatistics, State Institution «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

Haidash O. I., MD, PhD, Assistant Professor of the Department of Microbiology, Hygiene and Ecology, State Institution «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

Список літератури

- [1] Стоматологічні захворювання: терапевтична стоматологія / А. В. Борисенко, М. Ю. Антоненко, Л. В. Линовицька та ін. ; за ред. А. В. Борисенка. Київ : Медицина, 2017. 664 с.
- [2] Nazir M. A. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences-Ijhs*. 2017. Vol. 11, Iss. 2. P. 72-80.
- [3] Global-, Regional-, and Country-Level Economic Impacts of Dental Diseases in 2015 / A. J. Righolt, M. Jevdjovic, W. Marcenec, S. Listl. *Journal of Dental Research*. 2018. Vol. 97, Iss. 5. P. 501-507. <https://doi.org/10.1177/0022034517750572>
- [4] Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action / M. S. Tonetti, S. Jepsen, L. J. Jin, J. Otomo-Corgel. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017. Vol. 44, Iss. 5. P. 456-462. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12732>
- [5] Periodontal pathogenic bacteria and aMMP-8 findings depending on periodontal conditions of patients before and after liver transplantation / D. Ziebolz, G. Schmalz, A. Kauffels et al. *Clinical Oral Investigations*. 2017. Vol. 21, Iss. 3. P. 745-752. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1821-4>
- [6] Active matrix metalloproteinase-8 and periodontal bacteria depending on periodontal status in patients with rheumatoid arthritis / A. Kirchner, J. Jager, B. Krohn-Grimberghe et al. *Journal of Periodontal Research*. 2017. Vol. 52, Iss. 4. P. 745-754. <https://doi.org/10.1111/jre.12443>
- [7] Matrix metalloproteinase-8 levels in periodontal disease patients: A systematic review / E. F. de Moraes, J. C. Pinheiro, R. B. Leite et al. *Journal of Periodontal Research*. 2018. Vol. 53, Iss. 2. P. 156-163. <https://doi.org/10.1111/jre.12495>
- [8] Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis / L. Zhang, X. Li, H. Yan, L. Huang. *Medicine*. 2018. Vol. 97, Iss. 3. P. e9642. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000009642>
- [9] Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation / F. Cavalla, P. Hernandez-Rios, T. Sorsa et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18, Iss. 2. P. 440. <https://doi.org/10.3390/ijms18020440>
- [10] Probiotic intervention influences the salivary levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1 in healthy adults / H. Jasberg, T. Tervahartiala, T. Sorsa et al. *Archives of Oral Biology*. 2018. Vol. 85. P. 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.10.003>
- [11] Diabetes may affect the expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors more than smoking in chronic periodontitis / M. F. Bastos, M. A. Tucci, A. de Siqueira et al. *Journal of Periodontal Research*. 2017. Vol. 52, Iss. 2. P. 292-299. <https://doi.org/10.1111/jre.12394>
- [12] Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease / H. Alfakry, E. Malle, C. N. Koyani et al. *Innate Immunity*. 2016. Vol. 22, Iss. 1. P. 85-99. <https://doi.org/10.1177/1753425915617521>
- [13] Staphylococcal Superantigen-Like Protein 1 and 5 (SSL1 & SSL5) Limit Neutrophil Chemotaxis and Migration through MMP-Inhibition / K. J. Koymans, A. Bisschop, M. M. Vughs et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17, Iss. 7. P. E1072. <https://doi.org/10.3390/ijms17071072>
- [14] Anti-rheumatic medication and salivary MMP-8, a biomarker for periodontal disease / L. Ayravainen, A. M. Heikkinen, A. Kuuliala et al. *Oral Diseases*. 2018. Vol. 24, Iss. 8. P. 1562-1571. <https://doi.org/10.1111/odi.12930>
- [15] Expression of toll-like receptors 2 and 4 and its association with matrix metalloproteinases in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis / A. A. Fernández, A. M. Cárdenas, J. Astorga et al. *Clinical Oral Investigations*. 2019. Vol. 23, Iss. 12. P. 4205-4212. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02861-9>
- [16] Molecular forms and fragments of salivary MMP-8 in relation to periodontitis / U. K. Gursoy, E. Kononen, T. Tervahartiala et al. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018. Vol. 45, Iss. 12. P. 1421-1428. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13024>
- [17] Quantitative Evaluation of MMP-9 and TIMP-1 Promoter Methylation in Chronic Periodontitis / X. Li, J. Lu, W. Teng et al. *DNA and Cell Biology*. 2018. Vol. 37, Iss. 3. P. 168-173. <https://doi.org/10.1089/dna.2017.3948>
- [18] Gao Y., Hao C. D. Expression of miR-146a in saliva of chronic periodontitis patients and its influence on gingival crevicular inflammation and MMP-8/TIMP-1 levels. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2018. Vol. 27, Iss. 3. P. 309-312.
- [19] Wang L., Feng K., Sun L. (2014). The influences of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of MMP-8 and tissue inhibitor of TIMP-1. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2014. Vol. 23, Iss. 2. P. 229-232.

References

- [1] Borysenko, A. V., Antonenko, M. Yu., Lynovytska, L. V., Sidelnikova, L. F., Nesyn, O. F., Dikova, I. H., ... Skyba, I. M. (2017). *Stomatolo-hichni zakhvorivannia: terapevtychna stomatohiia* [Dental treatment: therapeutic dentistry]. Kyiv: Medytyna. [in Ukrainian].
- [2] Nazir, M. A. (2017). Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences-Ijhs*, 11(2), 72-80.
- [3] Righolt, A. J., Jevdjovic, M., Marcenec, W., & Listl, S. (2018). Global-, Regional-, and Country-Level Economic Impacts of Dental Diseases in 2015. *Journal of Dental Research*, 97(5), 501-507. <https://doi.org/10.1177/0022034517750572>
- [4] Tonetti, M. S., Jepsen, S., Jin, L. J., & Otomo-Corgel, J. (2017). Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(5), 456-462. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12732>
- [5] Ziebolz, D., Schmalz, G., Kauffels, A., Widmer, F., Widmer, K., Slotta, J. E., ... Kollmar, O. (2017). Periodontal pathogenic bacteria and aMMP-8 findings depending on periodontal conditions of patients before and after liver transplantation. *Clinical Oral Investigations*, 21(3), 745-752. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1821-4>
- [6] Kirchner, A., Jager, J., Krohn-Grimberghe, B., Patschan, S., Kottmann, T., Schmalz, G., ... Ziebolz, D. (2017). Active matrix metalloproteinase-8 and periodontal bacteria depending on periodontal status in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Periodontal Research*, 52(4), 745-754. <https://doi.org/10.1111/jre.12443>
- [7] de Moraes, E. F., Pinheiro, J. C., Leite, R. B., Santos, P. P. A., Barboza, C. A. G., & Freitas, R. A. (2018). Matrix metalloproteinase-8 levels in periodontal disease patients: A systematic review. *Journal of Periodontal Research*, 53(2), 156-163. <https://doi.org/10.1111/jre.12495>
- [8] Zhang, L., Li, X., Yan, H., & Huang, L. (2018). Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 97(3). <https://doi.org/10.1097/md.00000000000009642>
- [9] Franco, C., Patricia, H. R., Timo, S., Claudia, B., & Marcela, H. (2017). Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2). <https://doi.org/10.3390/ijms18020440>
- [10] Jasberg, H., Tervahartiala, T., Sorsa, T., Soderling, E., & Haukioja, A. (2018). Probiotic intervention influences the salivary levels of Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 and Tissue Inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1 in healthy adults. *Archives of Oral Biology*, 85, 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.10.003>
- [11] Bastos, M. F., Tucci, M. A., de Siqueira, A., de Faveri, M., Figueiredo, L. C., Vallim, P. C., & Duarte, P. M. (2017). Diabetes may affect the expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors more than smoking in chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 52(2), 292-299. <https://doi.org/10.1111/jre.12394>
- [12] Alfakry, H., Malle, E., Koyani, C. N., Pussinen, P. J., & Sorsa, T. (2016). Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease. *Innate Immunity*, 22(1), 85-99. <https://doi.org/10.1177/1753425915617521>
- [13] Koymans, K. J., Bisschop, A., Vughs, M. M., van Kessel, K. P. M., de Haas, C. J. C., & van Strijp, J. A. G. (2016). Staphylococcal Super-

- rantigen-Like Protein 1 and 5 (SSL1 & SSL5) Limit Neutrophil Chemotaxis and Migration through MMP-Inhibition. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/ijms17071072>
- [14] Ayravainen, L., Heikkinen, A. M., Kuuliala, A., Ahola, K., Koivuniemi, R., Moilanen, E., . . . Sorsa, T. (2018). Anti-rheumatic medication and salivary MMP-8, a biomarker for periodontal disease. *Oral Diseases*, 24(8), 1562-1571. <https://doi.org/10.1111/odi.12930>
- [15] Fernández, A., Cárdenas, A. M., Astorga, J., Veloso, P., Alvarado, A., Merino, P., . . . Hernández, M. (2019). Expression of toll-like receptors 2 and 4 and its association with matrix metalloproteinases in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis. *Clinical Oral Investigations*, 23(12), 4205-4212. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02861-9>
- [16] Gursoy, U. K., Kononen, E., Tervahartiala, T., Gursoy, M., Pitkanen, J., Torvi, P., . . . Sorsa, T. (2018). Molecular forms and fragments of salivary MMP-8 in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(12), 1421-1428. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13024>
- [17] Li, X. T., Lu, J. X., Teng, W., Zhao, C. J., & Ye, X. L. (2018). Quantitative Evaluation of MMP-9 and TIMP-1 Promoter Methylation in Chronic Periodontitis. *DNA and Cell Biology*, 37(3), 168-173. <https://doi.org/10.1089/dna.2017.3948>
- [18] Gao, Y., Hao, C. D. (2018). Expression of miR-146a in saliva of chronic periodontitis patients and its influence on gingival crevicular inflammation and MMP-8/TIMP-1 levels. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 27(3), 309-312.
- [19] Wang, L., Feng, K., & Sun, L. (2014). The influences of non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of MMP-8 and tissue inhibitor of TIMP-1. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 23(2), 229-232.

Клінічна ефективність екзогенного L-аргініну у хворих на гіпертонічну хворобу на тлі хронічного обструктивного захворювання легень

О. В. Крайдашенко^{E,F}, О. С. Тягла^{*A,B,C,D}

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

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) і гіпертонічна хвороба (ГХ) – одна з поширених, провідних проблем практичної охорони здоров'я.

Мета роботи – оцінювання клінічної ефективності засобу метаболічної корекції (Тівортін) у комплексному лікуванні хворих на хронічне обструктивне захворювання легень за наявності гіпертонічної хвороби.

Матеріали та методи. Обстежили 23 осіб, які хворі (основна група) на ГХ II стадії з рівнем артеріальної гіпертензії I–III ступеня та із ХОЗЛ II стадії без клінічно значущої супутньої патології, середній вік $51,72 \pm 1,22$ року, із різним кардіо-аскулярним ризиком, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії; 82,6 % – активні курці, індекс пачко-років – $17,23 \pm 2,69$, шкідливий професійний фактор (виробничий) відзначили 23,53 % осіб. Усі хворі основної групи приймали L-аргінін аспартат у вигляді 4,2 % розчину внутрішньовенно по 100 мл 1 раз на добу (курс 10–12 днів) із переходом надалі на розчин для перорального застосування по 10 мл 5 разів на добу (курс – 3 міс. \pm 3 доби). Обстежили також (початково та через 3 місяці) групу порівняння ($n = 15$, вік – $49,15 \pm 1,40$ року), що зіставна за клініко-демографічними показниками з основною групою. Особи з групи порівняння отримували аналогічну традиційну терапію ГХ і ХОЗЛ без застосування метаболіто-тропного препарату – екзогенного L-аргініну Тівортін. Діагностику ХОЗЛ і ГХ здійснили на підставі загальноприйнятих критеріїв. Параметри якості життя оцінювали згідно з «Коротким опитувальником оцінки статусу здоров'я» SF-36. Метаболізм глутатіону та стан тиол-дисульфідного балансу вивчали за вмістом окисленого та відновленого глутатіону, активності ферментів – глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази та глутатіон пероксидази в сироватці крові. Вміст ST2, CASPASE-7 і CASPASE-9 у крові визначали, використовуючи відповідні тест-системи ІФА.

Результати. Призначення L-аргініну сприяло пригніченню оксидативного стресу та відновленню тиол-дисульфідного балансу і, як результат названих процесів, гальмувало апоптотичні процеси в організмі пацієнтів із коморбідністю. Рівень експресії білка ST2 після лікування пацієнтів із ГХ і ХОЗЛ Тівортином зменшився вдвічі, а компенсаторна можливість організму хворого, котра полягає у включенні кардіозахисного сигнального каскаду запобігання фіброзу та ремоделюванню серця, оптимальним шляхом буде реалізована саме після експериментального лікування. Крім регресу клінічних симптомів, нормалізації артеріального тиску та поліпшення бронхіальної прохідності на тлі зниження рівня активності апоптотичних маркерів спостерігали відновлення якості життя, фізичного та психосоціального статусу.

Висновки. Додаткове призначення L-аргініну на тлі традиційної терапії ХОЗЛ і ГХ сприяє суттєвішому та вірогідному пригніченню оксидативного стресу та відновленню тиол-дисульфідного балансу, а отже гальмує інтенсифікацію процесів апоптозу в пацієнтів із коморбідністю, яку аналізували. Крім регресу клінічних симптомів, нормалізації артеріального тиску і поліпшення бронхіальної прохідності на тлі зниження рівня активності апоптотичних маркерів, встановили вірогідне відновлення якості життя, фізичного і психосоціального статусу.

Ключові слова:

артеріальна гіпертензія, хронічне обструктивне захворювання легень, тиоли, каспаза-7, L-аргінін.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 387–394

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188904

*E-mail:

oksana.tiagla@gmail.com

Клиническая эффективность экзогенного L-аргинина у больных гипертонической болезнью на фоне хронического обструктивного заболевания легких

О. В. Крайдашенко, О. С. Тягла

Хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ) и гипертоническая болезнь (ГБ) – одна из распространенных, ведущих и актуальных проблем практического здравоохранения.

Цель работы – оценка клинической эффективности средства метаболической коррекции (Тивортин) в комплексном лечении больных хроническим обструктивным заболеванием легких при наличии гипертонической болезни.

Материалы и методы. Обследовали 23 больных (основная группа) с диагнозом ГБ II стадии с уровнем артериальной гипертензии I–III степени и ХОЗЛ II стадии без клинически значимой сопутствующей патологии, средний возраст – $51,72 \pm 1,22$, с различным кардиоваскулярным риском, без адекватной систематической антигипертензивной терапии; 82,6 % – активные курильщики, индекс пачко-лет – $17,23 \pm 2,69$, на профессиональный фактор (производственный) указали 23,53 % обследованных. Все больные основной группы принимали L-аргинин аспартат в виде 4,2 % раствора внутривенно по 100 мл 1 раз в сутки (курс 10–12 дней) с последующим переходом на раствор для перорального применения по 10 мл 5 раз в сутки (курс 3 мес. \pm 3 суток). Также обследовали (изначально и через 3 мес.) группу сравнения ($n = 15$, возраст – $49,15 \pm 1,40$ года), сопоставимую по клинико-демографическим показателям с основной группой. Обследованные из группы сравнения получали аналогичную традиционную терапию ГБ и ХОЗЛ без применения метаболитотропного препарата – экзогенного L-аргинина Тивортин. Диагностику ХОЗЛ и ГБ проводили на основании общепринятых критериев. Параметры качества жизни оценивали согласно «Краткого опросника оценки

Ключевые слова:

артериальная гипертензия, хроническое обструктивное заболевание легких, тиоли, каспаза-7, L-аргинин.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 387–394

статуса здоров'я» SF-36. Метаболізм глутатиона і стан тіол-дисульфідного балансу вивчали за вмістом окисненого і відновленого глутатиона та активності ферментів – глутатион-S-трансферази, глутатионредуктази та глутатион пероксидази в сироватці крові. Вміст ST2, CASPASE-7 та CASPASE-9 в крові визначали за допомогою відповідних тест-систем ІФА.

Результати. Назначення L-аргініну сприяло подавленню окислювального стресу та відновленню тіол-дисульфідного балансу і, як результат вищеуказаних процесів, затримало апоптоз в організмі пацієнтів з коморбідністю. Рівень експресії білка ST2 після лікування пацієнтів з ГБ та ХОЗЛ Тивортином зменшився в два рази, а компенсаторна здатність організму хворого, яка полягає в включенні кардіозащитного сигнального каскаду запобігання фіброзу та ремоделирування серця найбільш оптимальним шляхом буде реалізована після проведення експериментального лікування. Крім регресу клінічних симптомів, нормалізації артеріального тиску та покращення бронхіальної прохідності на фоні зниження рівня активності апоптотических маркерів, спостерігається відновлення якості життя, як фізичного, так і психосоціального статусу.

Висновки. Додаткове призначення L-аргініну на фоні традиційної терапії ХОЗЛ та ГБ сприяє більш значимому та достовірному зменшенню окислювального стресу та відновленню тіол-дисульфідного балансу і, як результат вищеуказаних процесів, затримує інтенсифікацію процесів апоптозу у пацієнтів з вказаною коморбідністю. Крім регресу клінічних симптомів, нормалізації артеріального тиску та покращення бронхіальної прохідності на фоні зниження рівня активності апоптотических маркерів, спостерігається достовірне відновлення якості життя, як фізичного, так і психосоціального статусу.

Key words:
hypertension,
chronic obstructive
pulmonary disease,
thiols, caspase-7,
L-arginine.

Pathologia
2019; 16 (3), 387–394

Clinical efficiency of exogenous L-arginine in patients with essential hypertension against the background of chronic obstructive pulmonary disease

O. V. Kraidashenko, O. S. Tiahla

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and essential hypertension (EH) are one of the most common, leading and current problems of practical public health.

The purpose of this study was to evaluate the clinical efficacy of the metabolic correction agent ("Tivortin") in the complex treatment of patients with COPD in the presence of EH.

Materials and methods. We examined 23 patients with the diagnosis of EH stage II and COPD stage II as the main group, mean age 51.72 ± 1.22 ; various cardiovascular risk, without adequate systematic antihypertensive therapy; disease duration – 7.52 ± 1.14 ; 82.6 % – active smokers, pack-years index – 17.23 ± 2.69 . All patients of the main group took L-arginine aspartate in the form of a 4.2 % solution intravenously, 100 ml 1 time per day (course of 10–12 days) with the subsequent transfer to the solution for oral administration of 10 ml 5 times a day (course of 3 months \pm 3 days). The comparison group ($n = 15$, age 49.15 ± 1.40), comparable in clinical and demographic parameters to the main group, was also studied (initially and after 3 months) and received similar traditional therapy for EH and COPD without the use of a metabolite drug – exogenous L-arginine "Tivortin". Diagnosis of COPD and hypertension was carried out on the basis of generally accepted criteria. The quality of life (QOL) parameters were assessed according to the SF-36 "Short Health Assessment Questionnaire". The metabolism of glutathione and the state of the thiol-disulfide balance was studied by the content of oxidized and reduced glutathione and the activity of the enzymes glutathione-S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase in the blood serum. The content of ST2, CASPASE-7 and CASPASE-9 in the blood was determined using the appropriate ELISA test systems.

Results. The administration of L-arginine contributed to the suppression of oxidative stress and the restoration of the thiol-disulfide balance and, as a result of the above processes, inhibited the apoptosis in the body of patients with comorbidity. The expression level of ST2 protein after treatment of patients with EH and COPD by "Tivortin" decreased by half, and the compensatory ability of the patient body, which is to enable the cardioprotective signaling cascade to prevent fibrosis and remodeling of the heart in the most optimal way, will be realized after the experimental treatment. In addition to the regression of clinical symptoms, normalization of blood pressure and improvement of bronchial patency against the background of a decrease in the level of activity of apoptotic markers, there is a restoration of the quality of life, both physical and psychosocial status.

Conclusions. The additional use of L-arginine against the background of conventional therapy with COPD and EH promotes more significant and reliable suppression of oxidative stress and restores thiol-disulfide balance and, as a result of the above-mentioned processes, inhibits the intensification of apoptosis in patients with this comorbidity. In addition to regression of clinical symptoms, normalization of blood pressure and improvement of bronchial patency on the background of lowering the activity of apoptotic markers, there is a significant recovery of QOL, both physical and psychosocial status.

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) та гіпертонічна хвороба (ГХ) становлять одну з поширених, провідних проблем практичної охорони здоров'я [1]. Кількість хворих на ХОЗЛ постійно збільшується, прогресування хвороби під впливом факторів ризику (несприятливий стан довкілля, активне й пасивне куріння, професійні фактори, феномен атопії, респіраторні інфекції) свідчить про недостатню ефективність наявних методів лікування. Збільшен-

ня кількості хворих із цією коморбідною патологією завдає серйозного матеріального та соціального збитку суспільству, потребує пошуку та дослідження нових етіопатогенетичних чинників, особливостей перебігу, враховуючи взаємно обтяжливі патології, та розроблення новітніх підходів у лікуванні на додаток до класичних терапевтичних протоколів [2].

Характер і виразність змін у системі глутатиону при поєднаній патології серцево-судинної та леге-

невої систем у хворих показують захисну реакцію на індукований окислювальний стрес: зростає активність основних антиоксидантних ферментів – глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази; збільшується концентрація відновленого глутатіону у плазмі синхронно з підвищенням активності глутатіонредуктази. Інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів призводить до утворення великої кількості окисленого оксиду азоту – пероксинітриту, який є доволі потужним окислювачем і посилює процеси ремоделювання судин та апоптозу клітин [3].

Нині пропонують різні способи прямого пригнічення апоптозу, як-от пригнічення каспаз і блокаду Fas-рецепторів. Але неселективна супресія апоптотичної загибелі може призвести до збереження в організмі генетично дефектних і функціонально неповноцінних клітин [4]. Слід враховувати, що посилення апоптозу вказує на суттєві порушення фізіологічних внутрішньоклітинних процесів, тому доцільнішими видаються дослідження можливості пригнічення не власне загибелі клітин, а механізмів, що створюють умови для індукції цього процесу.

Уточненню деяких патогенетичних механізмів, одних із визначальних для протективного ефекту терапії, можуть служити клінічні зіставлення результатів, що отримані під час обстеження пацієнтів на тлі додаткового призначення Тівортину до традиційної терапії ХОЗЛ та артеріальної гіпертензії (АГ). L-аргінін (α -аміно- β -гуанідиновалеріанова кислота) – умовно незамінна амінокислота, що є активним і різнобічним клітинним регулятором багатьох життєво важливих функцій організму. Так, L-аргінін є субстратом для NO-синтази – ферменту, що каталізує синтез NO в ендотеліоцитах [5]. Він активує гуанілатциклазу й підвищує рівень циклічного гуанідинмонофосфату (цГМФ) в ендотелії судин, зменшує активацію та адгезію лейкоцитів і тромбоцитів до ендотелію, пригнічує синтез протеїнів адгезії VCAM-1 і MCP-1, запобігаючи в такий спосіб утворенню й розвитку атеросклеротичних бляшок, пригнічує синтез ендотеліну-1, що є потужним вазоконстриктором і стимулятором проліферації й міграції гладких міоцитів судинної стінки. Також L-аргінін пригнічує синтез асиметричного диметил-аргінину – потужного ендogenous стимулятора оксидативного стресу. Препарат має виражені вазодилатуючі, антигіпоксичні та антиоксидантні властивості, нормалізує структуру та метаболізм міокарда при гіпоксії, що дуже важливо в умовах бронхо-обструктивного синдрому. Названі властивості препарату свідчать, що призначення його у клінічній практиці терапії ХОЗЛ у поєднанні з ГХ може бути доволі раціональним і патогенетично обґрунтованим.

У вітчизняній і закордонній фаховій літературі є тільки поодинокі наукові роботи, що підсумовують накопичені знання про характер змін вегетативного статусу, системної гемодинаміки, показників апоптозу при ХОЗЛ на тлі ГХ протягом терапії донатором NO для корекції різних патогенетичних чинників коморбідної патології. Це обґрунтовує перспективність обраного напрямку наукових досліджень [6].

З погляду практики, оцінювання антиапоптотичної ролі відновленого глутатіону за допомогою

екзогенних донаторів L-аргінину становить інтерес для розробки нових підходів щодо таргетної терапії цієї коморбідності, робить їх перспективною інноваційною «мішенню» фармакологічної стратегії при ГХ на тлі ХОЗЛ-індукованої гіпоксії. Отже, порушена проблема не нова, однак її актуальність і доцільність на сучасному клінічному етапі – безсумнівна.

Мета роботи

Оцінювання клінічної ефективності засобу метаболічної корекції (Тівортін) у комплексному лікуванні хворих на хронічне обструктивне захворювання легень за наявності гіпертонічної хвороби.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 23 хворих (1 група) з діагнозом ГХ II стадії з рівнем артеріальної гіпертензії I–III ступеня та ХОЗЛ II стадії без клінічно значущої супутньої патології, середній вік – $51,72 \pm 1,22$ року, із різним кардіоваскулярним ризиком, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії; 82,6 % – активні курці, індекс пачко-років – $17,23 \pm 2,69$, шкідливий професійний фактор (виробничий) відзначили 23,53 % осіб.

Обстежили також (початково та через 3 міс.) 2 групу – порівняння ($n = 15$, вік – $49,15 \pm 1,40$), зіставну за клініко-демографічними показниками з основною групою.

Діагностику ХОЗЛ здійснювали на підставі загальноприйнятих критеріїв. Хворі, які брали участь у дослідженні, мали переважно ХОЗЛ середнього та важкого ступеня (згідно з GOLD і наказом МОЗ України № 128 від 12.03.07 р.).

Функцію зовнішнього дихання визначали за стандартною методикою на спірографічному апараті «СПІРОКОМ», використовуючи програмне забезпечення відповідно до рекомендацій Американської торакальної та Європейської респіраторної спілноти. Оцінювали обсяг форсованого видиху за першу секунду (ОФВ₁), форсовану життєву ємність легень (ФЖЄЛ, %), співвідношення обсягу форсованого видиху за першу секунду до форсованої життєвої ємності легень (ОФВ₁ / ФЖЄЛ), хвилинний об'єм дихання, життєву ємність легень, максимальну об'ємна швидкість (МОШ 25 %, 50 %, 75 %). Зворотність бронхіальної обструкції розраховували стандартним методом до і через 10 хвилин після вдиху 200 мкг сальбутамолу (методом пікфлоуметрії).

Параметри якості життя (ЯЖ) як показники комплексної інтегральної характеристики фізичного, психологічного, емоційного та соціального функціонування пацієнта, що засновані на його суб'єктивних відчуттях, встановлювали на підставі опитувальника для вивчення якості життя (згідно з «Коротким опитувальником оцінки статусу здоров'я» (офіційним українськомовним аналогом опитувальника SF-36, Short Form Medical Outcomes Study), який складається з 36 питань, що об'єднані у 8 шкал, сформованих з різної кількості питань.

Базуючись на результатах анкетування пацієнтів за SF-36, розраховували 5 показників, що харак-

теризують фізичний статус респондента (фізична активність – ФА, роль фізичних проблем в обмеженні життєдіяльності – РФ, біль – Б, загальне здоров'я – ЗЗ, життєздатність – ЖЗ), а також 5 параметрів, що показують його психосоціальний статус (роль емоційних проблем в обмеженні життєдіяльності – РЕ, соціальна активність – СА, психічне здоров'я – ПЗ, загальне здоров'я – ЗЗ, життєздатність – ЖЗ). Два останніх показники визначаються як фізичним, так і психічним статусом людини. SF-36 дає змогу оцінювати ЯЖ за 100-бальною шкалою. Шкали ФА, ЗЗ, ЖЗ, ПЗ, СА оцінюються як «прямі»: чим більші значення, тим краще ЯЖ пацієнта.

Лікування ХОЗЛ включало холінолітики, β_2 -агоністи, кортикостероїди, а також комбіновані дозовані інгаляторні засоби і муколітики. Антибіотики (макроліди, фторхінолони) призначали під час інфекційного загострення за наявності клінічних ознак інтоксикації, гнійного харкотиння, гіпертермії. Як антигіпертензивну терапію призначали гіпотензивні препарати: амлодіпін (10 мг/добу) та/або еналаприл (10 мг/добу). Також усі хворі додатково отримували L-аргінін аспартат (α -аміно- δ -гуанідиновалеріанова кислота, препарат Тівортін® аспартат, «Юрія-Фарм», Україна) – 4,2 % розчин внутрішньовенно по 100 мл 1 раз на добу (курс 10–12 днів) із переходом надалі на розчин для перорального застосування (склад: 5 мл розчину містять L-аргініну аспартату 1 г (L-аргініну – 0,57 г, кислоти аспарагінової – 0,43 г)) по 10 мл 5 разів на добу. Один пацієнт відмовився від додаткового візиту спостереження. Тривалість лікування становила 3 міс. \pm 3 доби. Хворі з групи порівняння отримували аналогічну традиційну терапію ГХ і ХОЗЛ, але без застосування метаболітоутворюючого препарату – екзогенного L-аргініну (Тівортін).

Усі пацієнти дали письмову добровільну згоду на участь у дослідженні та отримували традиційну терапію відповідно до рекомендацій ВООЗ.

Кров для досліджень брали вранці натще між 8:00 і 9:00 з кубітальної вени. Для взяття зразків крові для лабораторного аналізу використовували стерильні системи «Vacutainers Systems» виробництва фірми «Becton Dickinson and Company». Для отримання сироватки крові використовували пробірки з сепарувальним гелем. Збір крові та обробку здійснювали за інструкцією виробника. В окремих випадках біологічний матеріал для досліджень заморожували та зберігали в морозильних камерах за температури в межах від -25 °C (холодильна установка RL28DAT, № 4AAXB00089T) до -50 °C (морозильна камера УТ 327). Безпосередньо перед дослідженням необхідну кількість сироватки одночасно розморожували на водяній бані при температурі $+37$ °C в навчальному медико-лабораторному центрі ЗДМУ згідно з доданою до набору інструкцією (завідувач – проф. А. В. Абрамов).

Вміст ST2, CASPASE-7 і CASPASE-9 у сироватці крові визначали, використовуючи відповідні тест-системи ІФА (виробник – Bender Medsystems, Австрія). Стан тіол-дисульфідної системи вивчали за вмістом окисленого та відновленого глутатіону та активності ферментів – глутатіон-S-трансферази (ГТ), глутатіон-редуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГПО) в сиро-

ватці крові. Рівень окислених і відновлених форм глутатіону визначали флуориметрично за реакцією з о-фталевим ангідридом. Визначення активності ГР ґрунтувалося на вимірюванні швидкості окислення NADPH, яку реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Активність ГТ визначали за швидкістю утворення глутатіон-S-кон'югатів між відновленою формою глутатіону і 1-хлор-2,4-динітробензолом (CDNB). Активність ГПО (ммоль/хв/г білка) визначали за методикою [7], ГР (NADPH/ хв/мг білка, нМ) – за методикою Goldberg [8]. Концентрацію білка визначали за методом O. N. Lowry [9]. Для визначення рівня відновлених SH-груп тіолів до 0,1 мл сироватки крові додавали 0,8 мл трис-HCl-буфера і 0,1 мл ДТ-НБК. Інкубували 5 хв при 37 °C. Паралельно ставили холосту пробу, в яку замість біоматеріалу додавали 0,1 дистильованої води. Для визначення сумарного вмісту SH-груп до 0,1 мл сироватки додавали 0,5 мл концентрованої HCl, 0,5 мл трис-HCl-буфера та 10 мг цинкового пилу. Інкубували 20 хв при 37 °C. Фільтрували через промитий гарячою (70–80 °C) водою фільтр. До фільтрату додавали 0,1 мл ДТНБК і доводили трис-HCl-буфером до 3 мл. Паралельно ставили холосту пробу, до якої замість біоматеріалу додавали 0,1 дистильованої води. Реєстрували оптичну густину експериментальних проб проти холостої проби при довжині хвилі $\lambda = 412$ нм.

Статистичне опрацювання матеріалу виконали за допомогою програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) та з використанням параметричних і непараметричних методів оцінювання одержаних даних у пакеті Statistica, версія 13 (Copyright 1384-2018 TIBCO Software Inc. All rights reserved). Дані наведені як середнє і стандартна помилка репрезентативності вибіркового середнього значення (95 % довірчий інтервал – 95 % ДІ). Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критерієм Шапіро-Уїлка (W). Статистичну значущість відмінностей кількісних показників у групах оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента для залежних і незалежних груп. Порівняння груп за якісною ознакою, а також протягом дослідження частоти виявлення показників виконували за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць спряженості. Вірогідними вважали відмінності при рівні значущості менше ніж 0,05.

Результати

Дані щодо ензиматичної активності глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи у хворих на ГХ із ХОЗЛ на тлі лікування, що наведені в таблиці 1, свідчать про підвищення активності ферменту ГТ після лікування Тівортіном у пацієнтів із коморбідністю ГХ і ХОЗЛ на 31,16 % (табл. 1).

Суттєво збільшилася активність і іншого ферменту після лікування пацієнтів експериментальної групи – ГР – на 145,98 %, а фермент ГПО демонстрував елевачію значень після терапії на 133,88 %. Отже, визначили стійке підвищення активності названих ферментів тіол-дисульфідної системи в пацієнтів із ГХ і ХОЗЛ після призначення Тівортіну, що свідчить про вірогідне відновлення активності пулу ферментів

відновної ланки тіол-дисульфідної системи, яке виявляється поліпшенням клінічної ситуації в пацієнтів. Динаміка глутатіонзалежних ензимів під час традиційної терапії виявилася статистично невірогідною ($p > 0,05$), і $\Delta\%$ через 3 міс. не перевищувала 40 %.

Відновлений глутатіон у пацієнтів із коморбідністю після лікування Тівортіном збільшився на 121,46 % ($p < 0,05$), а кількість окислюваного глутатіону зменшилася на 47,24 % ($p > 0,05$), співвідношення відновлених форм глутатіону до окислених відповідно збільшилося втричі – на 152,23 % ($p < 0,05$), а рівень SH-груп продемонстрував елевацію на 105,04 % – статистично вірогідно ($p < 0,05$) (табл. 2).

Отже, пул відновлених тіолів суттєво збільшився на тлі лікування Тівортіном, формуючи резерв тіол-дисульфідної системи для стійкості до оксидативного стресу та вільних радикалів як ключової ланки патогенезу ГХ і ХОЗЛ, відновлюючи порушений хворобою тіол-дисульфідний баланс у пацієнтів цієї експериментальної групи. Дисбаланс у тіол-дисульфідних сполуках під час рутинного лікування без донатора L-аргініну зберігався, ймовірно, внаслідок відсутності/недостатності потенційних антиоксидантних властивостей терапії (відмінності між групами для співвідношення відновлених та окислених форм і приріст показника SH-груп становили 49,55 % та 27,84 % відповідно, $p < 0,05$).

Інтенсивність процесів апоптозу в пацієнтів до та після експериментального лікування вивчали за рівнем маркерів цього процесу – каспази-7 і каспази-9 (табл. 3).

Після лікування препаратом Тівортіном у пацієнтів із ГХ і ХОЗЛ визначили статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження ключових маркерів апоптозу: каспази-7 (на 80,0 %) та каспази-9 (на 48,53 %) – порівняно з рівнями цих ініціальних протеаз загибелі клітин до терапії. Отже, Тівортін не тільки сприяє пригніченню оксидативного стресу та відновленню тіол-дисульфідного балансу, але, як результат цих процесів, гальмує апоптоз в організмі пацієнтів із коморбідністю. Відмінності до та через 3 міс. традиційного лікування у групі порівняння становили 39,47 % та 40,24 % відповідно.

Перспективним біомаркером при захворюваннях серцево-судинної системи є стимулювальний фактор росту (ST2). Цей білок – член сімейства рецепторів інтерлейкіну-1, який є в трансмембранній формі на кардіоміоцитах і в розчинній формі (sST2) в сироватці крові. Збільшення концентрації sST2 доволі тісно асоційоване з тяжкістю серцево-судинної патології, підвищенням ризику летального результату, а також ризиком раптової смерті пацієнтів незалежно від об'єму фракції викиду. Динаміка експресії білка ST2 при ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування наведена в таблиці 4.

У здійсненому дослідженні рівень експресії білка ST2 після лікування пацієнтів із ГХ і ХОЗЛ Тівортіном зменшився вдвічі – на 51,54 %. Отже, компенсаторна можливість організму хворого, котра полягає у включенні кардіозахисного сигнального каскаду запобігання фіброзу та ремоделювання серця, оптимально буде реалізована саме після експериментального лікування. У групі порівняння $\Delta\%$ після 12 тижнів для цього показника дорівнював майже 39 % ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Ензиматична активність глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи в пацієнтів із ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування

Показники, одиниці вимірювання	Хворі	
	До лікування	Після лікування
1 група		
Активність глутатіон-S-трансферази, мкмоль/г білка	1,38 ± 0,15 (1,08–1,67)	1,81 ± 0,31 (1,20–2,41)*
Активність глутатіонредуктази, мкмоль/г білка	0,87 ± 0,13 (0,62–1,12)	2,14 ± 0,33 (1,50–2,78)*
Активність глутатіон-пероксидази, мкмоль/г білка	4,25 ± 0,63 (3,02–5,48)	9,94 ± 1,14 (7,70–12,18)*
2 група		
Активність глутатіон-S-трансферази, мкмоль/г білка	1,43 ± 0,15 (1,14–1,71)	1,58 ± 0,16 (1,27–1,89)
Активність глутатіонредуктази, мкмоль/г білка	0,92 ± 0,15 (0,64–1,21)	1,16 ± 0,19 (0,79–1,53)#
Активність глутатіонпероксидази, мкмоль/г білка	4,12 ± 0,39 (3,35–4,89)	5,63 ± 0,62 (4,41–6,84)**

*: $p < 0,05$ порівнюючи з показниками до лікування відповідної групи;

#: $p < 0,05$ порівнюючи з показниками після лікування різних груп.

Таблиця 2. Показники тіол-дисульфідного балансу в обстежених осіб із ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування

Показники, одиниці вимірювання	Хворі	
	До лікування	Після лікування
1 група		
Відновлений глутатіон, мкмоль/г білка	4,66 ± 0,74 (3,21–6,12)	10,32 ± 1,54 (7,31–13,34)*
Окислюваний глутатіон, мкмоль/г білка	1,99 ± 0,51 (0,98–2,99)	1,05 ± 0,10 (0,86–1,24)
Співвідношення від./окис. форм, у.о.	3,81 ± 0,34 (3,15–4,47)	9,61 ± 1,05 (7,56–11,67)*
SH-групи, мкмоль/г білка	36,73 ± 4,21 (28,47–44,99)	75,31 ± 7,25 (61,10–89,52)*
2 група		
Відновлений глутатіон, мкмоль/г білка	4,54 ± 0,48 (3,60–5,48)	6,01 ± 0,59 (4,85–7,17)#
Окислюваний глутатіон, мкмоль/г білка	1,96 ± 0,43 (1,12–2,79)	1,88 ± 0,41 (1,07–2,69)
Співвідношення від./окис. форм, у.о.	3,35 ± 0,49 (2,39–4,32)	5,01 ± 0,88 (3,29–6,73)#
SH-групи, мкмоль/г білка	32,15 ± 3,30 (25,69–38,61)	41,1 ± 4,65 (31,99–50,21)**

*: $p < 0,05$ порівнюючи з показниками до лікування відповідної групи;

#: $p < 0,05$ порівнюючи з показниками після лікування різних груп.

Таблиця 3. Динаміка маркерів апоптозу сироватки крові в обстежених осіб із ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування

Показники, одиниці вимірювання	Хворі	
	До лікування	Після лікування
1 група		
Каспаза-7, нг/мл	0,35 ± 0,11 (0,14–0,56)	0,07 ± 0,01 (0,05–0,09)*
Каспаза-9, нг/мл	2,04 ± 0,28 (1,49–2,58)	1,05 ± 0,18 (0,69–1,41)*
2 група		
Каспаза-7, нг/мл	0,38 ± 0,07 (0,24–0,53)	0,23 ± 0,04 (0,14–0,31)#
Каспаза-9, нг/мл	2,46 ± 0,36 (1,74–3,17)	1,47 ± 0,21 (1,07–1,87)*

*: $p < 0,05$ порівняно з показниками до лікування відповідної групи;

#: $p < 0,05$ порівняно з показниками після лікування різних груп.

Таблиця 4. Динаміка концентраційного показника білка ST2 сироватки крові при ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування

Показник, одиниці вимірювання	Хворі	
	До лікування	Після лікування
1 група		
ST2, нг/мл	32,73 ± 6,28 (20,43–45,04)	15,86 ± 0,67 (14,56–17,17)*
2 група		
ST2, нг/мл	34,81 ± 1,83 (31,22–38,40)	21,28 ± 1,86 (17,64–24,92)**

*: $p < 0,05$ порівняно з показниками до лікування відповідної групи;

#: $p < 0,05$ порівняно з показниками після лікування різних груп.

Таблиця 5. Показники якості життя за опитувальником SF-36 у хворих на ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування, бали

Показники	Хворі		Величина відмінностей
	До лікування	Після лікування	
Загальний стан здоров'я	31,65 ± 2,43 (26,9–36,41)	41,95 ± 2,87 (36,33–47,58)*	32,54 %
Фізична активність	34,43 ± 2,38 (29,77–39,10)	47,36 ± 2,85 (41,78–52,95)*	37,55 %
Роль фізичних проблем	44,57 ± 3,42 (37,85–51,28)	58,86 ± 4,70 (49,66–68,07)*	32,06 %
Соціальна активність	39,39 ± 1,28 (36,88–41,90)	45,50 ± 1,97 (41,63–49,37)	15,51 %
Роль емоційних проблем	47,83 ± 3,99 (40–55,65)	65,45 ± 5,11 (55,43–75,47)*	36,84 %
Інтенсивність болю	46,32 ± 1,28 (43,80–48,83)	42,39 ± 1,28 (39,88–44,90)	9,27 %
Життєздатність	40,30 ± 1,32 (37,72–42,89)	48,36 ± 1,99 (44,46–52,27)*	20,00 %
Психічне здоров'я	45,74 ± 2 (41,83–49,65)	61,01 ± 2,48 (56,15–65,85)*	33,36 %

*: $p < 0,05$ порівняно з підгрупою до лікування.

Показники якості життя пацієнтів за опитувальником SF-36 у хворих на ГХ у коморбідності з ХОЗЛ на тлі лікування наведені в таблиці 5.

Експериментальне лікування Тівортіном пацієнтів групи коморбідності ГХ і ХОЗЛ показало такі зміни ЯЖ пацієнтів: рівень загального здоров'я збільшився на 32,54 %, фізична активність – на 37,55 %, роль фізичних проблем в обмеженні життєдіяльності – на 32,06 % (більше впливала на загальну ЯЖ пацієнтів), соціальна активність – на 15,51 %, роль емоційних проблем в обмеженні життєдіяльності – на 36,84 % (більше впливала на загальну ЯЖ пацієнтів), больові відчуття пацієнтів зменшилися на 9,27 %, життєздатність хворих збільшилася на 20,00 %, а психічне здоров'я покращилося на 33,36 %. Отже, лікування пацієнтів Тівортіном сприяло поліпшенню ЯЖ пацієнтів за опитувальником SF-36, позитивно впливаючи як на фізичний статус респондента, так і на його психосоціальний статус. Динаміка аналогічних показників якості життя через 3 міс. традиційного лікування у групі порівняння була статистично значуща тільки для ролі емоційних проблем і психічного здоров'я ($p < 0,05$).

Слід відзначити вірогідне зменшення у хворих скарг на кашель ($\chi^2 = 18,96$, $p < 0,01$), частоти задухи ($\chi^2 = 10,41$, $p = 0,001$) і виділення мокротиння ($\chi^2 = 7,25$, $p = 0,007$) порівняно з первинним статусом скарг. Динаміка задишки була статистично не значуща. Важливо підкреслити, що порівняльна характеристика показників функції зовнішнього дихання до і після курсу терапії свідчила про вірогідне збільшення ФЖЕЛ на 9,40 % і ОФВ₂ на 8,64 % ($p < 0,05$). Виявили зниження САТ і ДАТ у середньому на 10,59 % і 19,61 %, а також нормалізацію АТ у 90,91 % хворих.

Обговорення

Перспективним біомаркером при захворюваннях серцево-судинної системи є стимулювальний фактор речу ST2. Цей білок – член сімейства рецепторів інтерлейкіну-1, що наявний у трансмембранній формі на кардіоміоцитах і в розчинній формі (sST2) в сироватці крові. Збільшення концентрації sST2 доволі тісно асоційоване з тяжкістю серцево-судинної патології, підвищенням ризику летального результату, а також ризиком раптової смерті пацієнтів, незалежно від об'єму фракції викиду [10]. Концентрації розчинної ST2 людини в циркуляторному руслі підвищені у хворих, які мають різні порушення, що пов'язані з аномальною від-

повіддю Т-хелперних клітин типу 2 (Th2), включаючи системний червоний вовчак та астму, а також запальні процеси, які переважно не залежать від відповіді Th2, як-от септичний шок і травма. Сигналізація системи інтерлейкіну-33/ST2L – ключовий механізм захисту серця в разі механічного перевантаження. Підвищення розчинної форми ST2 в людини є також маркером поганого прогнозу у хворих на серцеву недостатність і пацієнтів з інфарктом міокарда [11].

Реакція апоптозу в комплексному оцінюванні імунного статусу набуває важливого практичного значення для діагностики, прогнозування та моніторингу захворювання. У зв'язку з цим вивчення механізму участі клітинних факторів, імунної системи загалом, молекул адгезії, учасників реакції апоптозу в розвитку дисфункції ендотелію при легневих захворюваннях у хворих на ГХ є важливим та актуальним завданням. Механізми, що регулюють імунну відповідь при ГХ у поєднанні з ХОЗЛ, вивчені недостатньо, до кінця не з'ясована роль реакції апоптозу в перебігу захворювання. Дослідження процесів, які контролюють проліферативні та апоптотичні механізми при ГХ у поєднанні з ХОЗЛ, можуть бути цінними під час діагностики уражень органів-мішеней, що має важливе прогностичне значення та дасть змогу уточнити деякі ланки патогенезу [12].

Відомо, що гіпоксія – одна з причин порушення метаболізму тіололів та активації вільнорадикальних процесів, які є патогенетичним ланцюгом між ХОЗЛ і ГХ поряд із дисфункцією васкулярного ендотелію та системним запаленням. Етіологічні та патогенетичні механізми ГХ і ХОЗЛ подібні, тому при асоціації цих захворювань можливий взаємний потенційно негативний вплив, що ускладнює перебіг кожного з них і зумовлює важливість пошуку нових аспектів патофізіологічної спряженості порушень кардіоваскулярної системи та бронхолегневих змін [13]. Депривація глутатіонової системи в умовах комбінованого захворювання на ХОЗЛ і ГХ призводить до зниження показників антиоксидантної системи, а також формується мітохондріальна дисфункція. Очевидно, дефіцит відновленого глутатіону в мітохондріях призводить до посилення утворення активних форм кисню та азоту й окиснення цистеїнозалежних ділянок білків, що утворюють мітохондріальну пору. Надлишок активних форм азоту (пероксинітрит, іон нітронію), що утворюються при дефіциті глутатіону в мітохондріях, призводить до окисної модифікації супероксиддисмутази, зниження її активності.

Зниження активності Mn-SOD сприяє вторинній активації вільнорадикальних реакцій і посиленню окисної деструкції Red-Oxi чутливих ділянок мітохондріальної мембрани та формуванню стійкої мітохондріальної дисфункції [14].

Низка досліджень свідчить про високу клінічну ефективність L-аргініну в лікуванні різноманітних судинних патологій. Застосування незамінних амінокислот (Тівортін) у гострому періоді ішемічного інсульту сприяє швидшому регресу вогнищевої неврологічної симптоматики та позитивно впливає на відновлення функціональної активності [15,16].

Викликає зацікавленість вивчення впливу препарату Тівортін при поєднаній патології ХОЗЛ і ГХ, адже не всі гемодинамічні ефекти L-аргініну залежать від синтезу NO. Аргінін – амінокислота, що є активним і різнобічним клітинним регулятором життєво важливих функцій організму. Так, L-аргінін є субстратом для NO-синтази, активує гуанілатциклазу та підвищує рівень циклічного гуанідинмонофосфату в ендотелії судин, зменшує активацію та адгезію лейкоцитів і тромбоцитів до ендотелію судин, запобігає утворенню і розвитку атеросклеротичних бляшок, пригнічує синтез ендотеліну-1, який є потужним вазоконстриктором і стимулятором проліферації та міграції гладких м'язів судинної стінки. Також L-аргінін пригнічує синтез асиметричного диметиларгініну – ендогенного стимулятора оксидативного стресу [17]. NO утворюється в ендотелії шляхом перетворення незамінної амінокислоти L-аргініну в L-цитрулін за участі конституційного ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS). eNOS локалізується в ендотеліальних клітинах і відповідає за синтез базального рівня NO, за швидкі зміни рівня NO у відповідь на фізичні та хімічні стимули (брадикалін). L-аргінін використовується для синтезу білків, сечовини, креатину, вазопресину та агматину.

Висновки

1. Аналіз динаміки основних параметрів якості життя дає змогу встановити вірогідні позитивні зміни у хворих із додатковим призначенням L-аргініну на тлі адекватної комбінованої базисної терапії ХОЗЛ і ГХ.

2. Крім регресу клінічних симптомів, нормалізації артеріального тиску та поліпшення бронхіальної прохідності на тлі зниження рівня активності апоптотичних маркерів спостерігали відновлення ЯЖ, як фізичного, так і психосоціального статусу, на відміну від динаміки аналогічних показників без застосування Тівортину.

3. Призначення L-аргініну сприяє пригніченню оксидативного стресу та відновленню тиол-дисульфідного балансу і, як результат цих процесів, гальмує інтенсифікацію процесів апоптозу в організмі пацієнтів із названою коморбідністю.

4. Рівень експресії білка ST2 після лікування пацієнтів із ГХ і ХОЗЛ Тівортіном зменшився майже вдвічі, а компенсаторна можливість організму хворого, котра полягає у включенні кардіозахисного сигнального каскаду запобігання фіброзу та ремоделюванню серця, оптимально буде реалізована саме після експериментального лікування.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін показників варіабельності серцевого ритму на тлі лікування екзогенним L-аргініном.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 19.07.2019

Після доопрацювання / Revised: 01.11.2019

Прийнято до друку / Accepted: 15.11.2019

Відомості про авторів:

Крайдашенко О. В., д-р мед. наук, професор каф. клінічної фармакології, фармації та фармакотерапії з курсом косметології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Тягла О. С., асистент каф. внутрішніх хвороб 3, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Крайдашенко О. В., д-р мед. наук, профессор каф. клинической фармакологии, фармации и фармакотерапии с курсом косметологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Тягла О. С., ассистент каф. внутренних болезней 3, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Kraidashenko O. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Clinical Pharmacology, Pharmacy and Pharmacotherapy with the Course of Cosmetology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tiahla O. S., MD, Assistant of the Department of Internal Diseases 3, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Коморбидность хронической обструктивной болезни лёгких и сердечно-сосудистых заболеваний: место терапии современными β-адреноблокаторами / Ю. Н. Беленков, О. А. Цветкова, Е. В. Привалова и др. *Кардиология*. 2019. Т. 59, № 6. С. 48-55.
- [2] Quality of Life in Different Chronic Diseases and Its Related Factors / F. S. Siboni, Z. Alimoradi, V. Atashi et al. *International Journal of Preventive Medicine*. 2019. Iss. 10. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_429_17
- [3] Горбачева С. В., Беленичев И. Ф. Антиоксидантная модуляция нейроапоптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений in vitro. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Вип. 3, т. 1. С. 124-128.
- [4] Ju, J. An Increased Proportion of Apoptosis in CD4(+) T Lymphocytes Isolated from the Peripheral Blood in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2018. Vol. 81, Iss. 2. P. 132-137. <https://doi.org/10.4046/trd.2017.0079>
- [5] Лазур Я. В. Вплив комбінації поліоксидонію та тівортину аспартату на ліпідний спектр крові хворих на ішемічну хворобу серця у сполученні з хронічним обструктивним захворюванням легень. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2012. Вип. 5. С. 310-316.
- [6] Островський М. М. Роль тіотропію броміду в лікуванні ХОЗЛ з точки зору оновлених рекомендацій Gold 2017 року. *Український пульмонологічний журнал*. 2017. № 2. С. 62.
- [7] Доклиническое изучение специфической активности эндотелиопротективных препаратов / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова, Н. В. Бухтиярова : методические рекомендации. Киев, 2014. 60 с.
- [8] Goldberg D. M., Spooner R. J. Glutathione reductase. *Methods in Enzymatic Analysis* / eds. H. U. Bergmeyer, J. Bergmeyer, M. Grassl. Weinheim: Verlag Chemie, 1983. P. 258-265.
- [9] Protein measurement with the folinphenol reagent / O. N. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Tarr, R. J. Randall. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951. Vol. 193, Iss. 1. P. 265-275.

- [10] Ashino T., Yamamoto M., Numazawa S. Nrf2/Keap1 system regulates vascular smooth muscle cell apoptosis for vascular homeostasis: Role in neointimal formation after vascular injury. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6 <https://doi.org/10.1038/srep26291>
- [11] miRNA-206 regulates human pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis via targeting in chronic obstructive pulmonary disease / Y. Sun et al. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019. Vol. 120, Iss. 4. P. 6223-6236. <https://doi.org/10.1002/jcb.27910>
- [12] Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis in vitro and in vivo / X. Sun et al. *Clinical Science*. 2019. Vol. 133, Iss. 13. P. 1523-1536. <https://doi.org/10.1042/CS20190331>
- [13] Thiol-based drugs in pulmonary medicine: Much more than mucolytics / M. Cazzola et al. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2019. Vol. 40, Iss. 7. P. 452-463. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.04.015>
- [14] COPD guidelines: A review of the 2018 GOLD report / S. Mirza, R. D. Clay, M. A. Koslow, P. D. Scanlon. *Mayo Clinic Proceedings*. 2018. Vol. 93, Iss. 10. P. 1488-1502. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.05.026>
- [15] The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbacheva, A. V. Demchenko et al. *Neurochemical Journal*. 2014. Vol. 8, Iss. 1. P. 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [16] Belenichev I. F., Voitenko D. S., Bukhtiyarova N. V. Reduce the Neuroapoptosis in the Brain of Rats Born to Mothers with Experimental Placental Insufficiency by Combination of Thiotriazolone with L-Arginine and Thiotriazolone with Piracetam. *International Journal of Neurorehabilitation*. 2019. Vol. 6, Iss. 2. P. 344. <https://doi.org/10.4172/2376-0281.1000344>
- [17] Место тиотриазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств / И. Ф. Беленичев, В. А. Визир, В. И. Мамчур, А. В. Кuryта. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 1. С. 118-128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
- [11] Sun, Y., An, N., Li, J., Xia, J., Tian, Y., Zhao, P., . . . Zhang, X. (2019). miRNA-206 regulates human pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis via targeting in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(4), 6223-6236. <https://doi.org/10.1002/jcb.27910>
- [12] Sun, X., Feng, X., Zheng, D., Li, A., Li, C., Li, S., & Zhao, Z. (2019). Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis in vitro and in vivo. *Clinical Science*, 133(13), 1523-1536. <https://doi.org/10.1042/CS20190331>
- [13] Cazzola, M., Calzetta, L., Page, C., Rogliani, P., & Matera, M. G. (2019). Thiol-based drugs in pulmonary medicine: Much more than mucolytics. *Trends in Pharmacological Sciences*, 40(7), 452-463. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.04.015>
- [14] Mirza, S., Clay, R. D., Koslow, M. A., & Scanlon, P. D. (2018). COPD guidelines: A review of the 2018 GOLD report. *Mayo Clinic Proceedings*, 93(10), 1488-1502. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.05.026>
- [15] Belenichev, I. F., Gorbacheva, S. V., Demchenko, A. V., & Bukhtiyarova, N. V. (2014). The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs. *Neurochemical Journal*, 8(1), 24-27. <https://doi.org/10.1134/s181971241401005x>
- [16] Belenichev, I. F., Voitenko, D. S., & Bukhtiyarova, N. V. (2019). Reduce the Neuroapoptosis in the Brain of Rats Born to Mothers with Experimental Placental Insufficiency by Combination of Thiotriazolone with L-Arginine and Thiotriazolone with Piracetam. *International Journal of Neurorehabilitation*, 6(2), 344. <https://doi.org/10.4172/2376-0281.1000344>
- [17] Belenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. Yo., & Kuriata, O. V. (2019). Mesto tiotriazolina v galeree sovremennykh metabolitotropnykh lekarstvennykh sredstv [Place of thiotriazolone in the gallery of modern metabolitotropic medicines]. *Zaporozhye medical journal*, 21(1), 118-128. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>

References

- [1] Belenkov, Yu. N., Tsvetkova, O. A., Privalova, E. V., An, G. V., Ilgisonis, I. S., & Voronkova, O. O. (2019). Komorbidnost' khronicheskoi obstruktivnoi bolezni legkikh i serdechno-sosudistykh zabolevaniy: mesto terapii sovremennymi β -adrenoblokatorami [Comorbidity of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Cardiovascular Diseases: Place of Therapy with Modern β -Adrenoblockers]. *Kardiologiya*, 59(6), 48-55. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.6.n458>. [in Russian].
- [2] Siboni, F. S., Alimoradi, Z., Atashi, V., Alipour, M., & Khatooni, M. (2019). Quality of Life in Different Chronic Diseases and Its Related Factors. *International Journal of Preventive Medicine*, 10. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_429_17
- [3] Gorbacheva, S. V., & Belenichev, I. F. (2015). Antioksidantnaya modulyatsiya neuroapoptoza v usloviyakh disbalansa tiol-disulfidnoi sistemy i nakopleniya oksislennykh promezhutochnykh soedinenii in vitro [Antioxidant Neuroapoptosis Modulation Unbalance in a Thiol-Disulfide System and the Accumulation of Oxidized Intermediates in vitro]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*, 3(1), 124-128. [in Russian].
- [4] Ju, J. (2018). An Increased Proportion of Apoptosis in CD4(+) T Lymphocytes Isolated from the Peripheral Blood in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 81(2), 132-137. <https://doi.org/10.4046/trd.2017.0079>
- [5] Lazur, Ya. V. (2012). Vplyv kombinatsii polioksydoniiu ta tivortinu aspartatu na lipidnyi spektr krovi khvorykh na ishemichnu khvorobu sertsia u spoluchenni z khronichnym obstruktyvnym zakhvoriuvanniam lehen [Affecting of combination of polyoxidonium and tivortin aspartatum to lipids profile of blood of patients with ischemic heart trouble in combination]. *Problemy ekolohichnoi ta medychnoi henetyky i klinichnoi imunologii*, 5, 310-316. [in Ukrainian].
- [6] Ostrovskiy, M. M. (2017). Pol tiotropiiu bromidu v likuvanni khozl z tochky zoru onovlenykh rekomendatsii gold 2017 roku [The role of tiotropium bromide in the treatment of COPD in terms of updated Gold 2017 recommendations]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal*, 2, 62. [in Ukrainian].
- [7] Chekman, I. S., Belenichev, I. F., Gorchakova, N. A., & Bukhtiyarova, N. V. (2014). Doklinicheskoe izuchenie spetsificheskoi aktivnosti endoteliprotektivnykh preparatov [Preclinical study of the specific activity of endothelial protection drugs]. Kiev. [in Ukrainian].
- [8] Goldberg, D. M. & Spooner, R. J. (1983). Glutathione reductase. In: H. U. Bergmeyer, J. Bergmeyer, & M. Grassl (Eds.), *Methods in Enzymatic Analysis* (pp. 258-265). Weinheim: Verlag Chemie.
- [9] Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., & Randall R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.
- [10] Ashino, T., Yamamoto, M., & Numazawa, S. (2016). Nrf2/Keap1 system regulates vascular smooth muscle cell apoptosis for vascular homeostasis: Role in neointimal formation after vascular injury. *Scientific Reports*, 6 <https://doi.org/10.1038/srep26291>

Частота метастазування у сторожовий лімфовузол і його предиктори у хворих на рак гортані $T_{1-2}N_0M_0$

В. І. Троян^{*А,С-Ф}, І. О. Сінайко^{А,В,С}, О. В. Лобова^{А,В,С}, О. М. Костровський^{А,С,Е}

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Мета роботи – визначення у хворих на рак гортані $T_{1-2}N_0M_0$ частоти метастатичного ураження преперсноподібного сторожового лімфовузла (SNL) і кількісних показників предикторів, що асоціюються з метастатичним потенціалом первинної ракової пухлини.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 61 хворого на рак гортані $T_{1-2}N_0M_0$, середній вік – $57,71 \pm 0,93$ року, 56 (91,1 %) чоловіків. Критерій залучення в дослідження – підтверджений діагноз раку гортані без клінічних ознак регіонарного метастазування. Спеціалізоване лікування призначали за протоколом, на першому етапі комбінованого лікування, виконуючи різну за обсягом резекцію гортані з вилученням пухлини. Метастатичне ураження преперсноподібного SNL визначали гістоморфологічно на операційному матеріалі. Зв'язок між наявністю метастазування та показниками мікроциркуляції встановлювали, розраховуючи коефіцієнт асоціації та точний критерій Фішера з побудовою таблиці 2×2 . Розраховували відносний ризик метастазування. Дані наведені як відносний ризик і довірчі інтервали (ДІ).

Результати. Встановили, що в 15 (26,2 %) хворих поширеність пухлини відповідала критерію $T_1N_0M_0$, а у 46 (73,8 %) – $T_2N_0M_0$. Патоморфологічним дослідженням видалених преперсноподібних SNL ($n = 61$) метастатичне ураження (pN1sn) верифікували в 7 (11,4 %) хворих із $T_2N_0M_0$.

Протягом статистичного аналізу встановили наявність зв'язку між метастазуванням та глибиною інвазії пухлини (показник асоціації 0,85), ступенем диференціації пухлини (показник асоціації 0,66) і показником шунтування (показник асоціації 0,96). Встановили, що при показнику шунтування понад 1,63 пф. од. ризик виникнення метастазування зростав на 54 % (RR = 2,72 [1,64; 4,52], ДІ 95 %, OR = 13,06 [1,39; 122,50], ДІ 95 %), при глибині інвазії понад 6,28 мм відносний ризик метастазування зростав на 39 % (RR = 4,5 [1,72; 11,76], ДІ 95 %, OR = 8 [1,89; 33,81], ДІ 95 %).

Висновки. Встановили критичні значення кількісних показників таких предикторів метастазування раку гортані, як поширеність процесу до $T_2N_0M_0$, глибина інвазії пухлини понад 6,28 \pm 0,18 мм, низький ступень диференціації (G3), переважання в пухлині шунтового кровотоку над нутритивним – ПШ понад 1,84 \pm 0,05. Вони можуть бути використані для інтраопераційного прогнозування наявності прихованого метастазування у SNL і свідчити про доцільність виконання симультанної футлярно-фасціальної лімфодисекції шиї на боці ураження гортані.

Ключові слова:

рак гортані, метастази, функціональний стан неопластичного стану в пухлині.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 395–400

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188941

*E-mail: troyan1946@gmail.com

Частота метастазирования у сторожевой лимфоузел и его предикторы у больных раком гортані $T_{1-2}N_0M_0$

В. И. Троян, И. А. Синайко, Е. В. Лобова, А. Н. Костровский

Цель работы – установление у больных раком гортані $T_{1-2}N_0M_0$ частоты метастатического поражения преперстневидного сторожевого лимфоузла (SNL) и определение количественных показателей предикторов, которые ассоциируются с метастатическим потенциалом первичной опухоли.

Материалы и методы. В исследование включили 61 больного раком гортані $T_{1-2}N_0M_0$, средний возраст – $57,71 \pm 0,93$ года, 56 (91,1 %) мужчин. Критерий включения в исследование – подтвержденный диагноз рака гортані без клинических признаков регионарного метастазирования. Специализированное лечение проводили согласно протоколу с использованием на первом этапе комбинированного лечения различных по объему резекций гортані с удалением опухоли. Метастатическое поражение преперстневидного SNL определяли гистоморфологически на операционном материале. Связь между наличием метастазов и показателями микроциркуляции устанавливали с определением коэффициента ассоциации и точного критерия Фишера с построением таблицы 2×2 . Вычисляли относительный риск метастазирования. Данные приведены в виде относительного риска и доверительных интервалов (ДИ).

Результаты. Установлено, что у 15 (26,2 %) больных распространенность опухоли отвечала критерию $T_1N_0M_0$, а у 46 (73,8 %) – $T_2N_0M_0$. Патоморфологическими исследованиями удаленных преперстневидных SNL ($n = 61$) метастатическое поражение (pN1sn) верифицировано у 7 (11,4 %) больных $T_2N_0M_0$.

В ходе статистического анализа установлено, что существует связь между метастазированием и глубиной инвазии (показатель ассоциации 0,85), степенью дифференциации опухоли (показатель ассоциации 0,66) и показателем шунтирования (показатель ассоциации 0,96). Установлено, что при значении показателя шунтирования выше 1,63 пф. ед. относительный риск возникновения метастазов возрастал на 54 % (RR = 2,72 [1,64; 4,52], ДИ 95 %, OR = 13,06 [1,39; 122,50], ДИ 95 %), при глубине инвазии больше 6,28 мм относительный риск возникновения метастазов возрастал на 39 % (RR = 4,5 [1,72; 11,76], ДИ 95 %, OR = 8 [1,89; 33,81], ДИ 95 %).

Ключевые слова:

рак гортані, метастазы.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 395–400

Висновки. Установлены критические значения количественных показателей таких предикторов метастазирования рака гортани, как распространенность процесса до $T_2N_0M_0$, глубина инвазии опухоли более $6,28 \pm 0,18$ мм, низкая степень дифференциации (G3), преобладание в опухоли шунтового кровотока над нутритивным – ПШ более $1,84 \pm 0,05$. Они могут быть использованы для интраоперационного прогнозирования наличия скрытого метастазирования в SNL и свидетельствовать о целесообразности выполнения симультанной футлярно-фасциальной лимфодиссекции шеи на стороне поражения гортани.

Key words:

laryngeal cancer, metastasis, functional state of the neoangiogenesis process in tumor.

Pathologia

2019; 16 (3), 395–400

Frequency of metastasis in sentinel lymph node and its predictors in patients with laryngeal cancer $T_{1-2}N_0M_0$

V. I. Troian, I. O. Sinaiko, O. V. Lobova, O. M. Kostrovskiy

The purpose of the work is to establish the frequency of metastatic lesions of the precricoid sentinel lymph node (SNL) in patients with laryngeal cancer $T_{1-2}N_0M_0$ and to determine the predictors associated with the metastatic potential of the primary cancer tumor.

Materials and methods. The study involved 61 patients with $T1-2N0M0$ laryngeal cancer with an average age of 57.71 ± 0.93 years; among them 56 (91.1 %) persons were male patients. Confirmed diagnosis of laryngeal cancer without clinical signs of regional metastasis was the criterion for inclusion in the study. Specialized treatment was carried out according to the protocol, with the use of larynx resections of various extents with the tumor removal in the first stage of combination treatment. The metastasis of precricoid SNL was determined histomorphologically using surgical material. The relationship between metastasis and microcirculatory indices was established by calculating the association coefficient and Fisher's exact test with the creation of a 2×2 table. The relative risk of metastasis was calculated. Data are presented in the form of relative risk and confidence intervals of CI.

Results. It has been established that in 15 patients (26.2 %) tumor extension corresponded to the $T_1N_0M_0$ criterion and in 46 (73.8 %) persons – to $T_2N_0M_0$. The pathomorphological study of removed precricoid SNLs ($n = 61$) verified metastatic lesions (pN1sn) in 7 (11.4 %) patients with $T_2N_0M_0$.

Statistical analysis of the study found that there is a relationship between metastasis and the depth of invasion (association index 0.85), the degree of tumor differentiation (association index 0.66) and the bypass index (association index 0.96). It was found that when the value of the bypass index is higher than 1.63 pF units, the relative risk of metastases increases by 54 %, $RR = 2.72 [1.64; 4.52] - 95 \% CI, OR = 13.06 [1.39; 122.50], DI 95 \%$, with an invasion depth of greater than 6.28, the relative risk of metastases increases by 39 %, $RR = 4.5 [1.72; 11.76], CI 95 \%, OR = 8 [1.89; 33.81], CI 95 \%$.

Conclusions. Revealed critical values of quantitative indicators of such predictors of laryngeal cancer metastasis as the extension of the process to $T_2N_0M_0$, the depth of tumor invasion more than 6.28 ± 0.18 mm, the low degree of differentiation (G3), the prevalence of shunt blood flow over the nutritive one –shunt indicator is greater than 1.84 ± 0.05 , can be used for intraoperative prediction of the presence of latent metastasis in the SNL and indicate the advisability of performing simultaneous sheath-fascial lymph node dissection of the neck on the side of the larynx lesion.

У 2017 р. в Україні захворюваність на рак гортані, за даними національного канцер-реєстру, становила 5,2 випадка на 100 тисяч населення (світовий стандартний показник – 3,2). Майже 40 % хворих надходять на лікування з $T_{1-2}N_0M_0$. Одним з основних факторів, що визначають тактику лікування пацієнтів на рак гортані і прогноз захворювання, є інтраопераційне оцінювання стану регіонарних лімфатичних вузлів, оскільки частота появи метакронних метастазів у регіонарні лімфатичні вузли шії навіть при раку гортані $T_2N_0M_0$ досягає 10–15 % [1,2,10].

Останнім часом здійснили багато досліджень, що спрямовані на пошук надійних предикторів прихованого метастазування в лімфовузлі шії на ранніх стадіях раку гортані. Донедавна вважали, що для цього доцільне виконання превентивної шийної лімфодисекції на боці ураження гортані з наступним патоморфологічним дослідженням операційного матеріалу. Але навіть щадна функціональна шийна лімфодисекція негативно позначається на післяопераційному періоді, збільшуючи час загоєння та кількість місцевих ускладнень, що разом із порівняно невеликим відсотком появи метакронних шийних метастазів на ранніх стадіях викликає сумнів щодо доцільності її виконання [6,7].

З цією самою метою виконують морфологічні дослідження біопсійного матеріалу зі сторожових лімфовузлів (SNL), які безпосередньо отримують потік лімфи від первинної злоякісної пухлини, а отже є об'єктивним діагностичним критерієм регіонарного метастазування [8,11,14]. Щодо раку гортані, то нечисленні дослідження з вивчення стану SNL на ранніх стадіях не дають змоги визначитися щодо їхньої прогностичної надійності. Це свідчить про необхідність накопичення більшого клінічного матеріалу.

Відомо, що в метастатичному процесі важливе значення має стан неангіогенезу в первинній пухлині. Протягом досліджень [9,12,13] щільності судин у первинній пухлині доведено, що високий ступінь васкуляризації пухлини є статистично значущим маркером наявності регіонарного метастазування, але вони ґрунтуються на морфологічних дослідженнях, які не висвітлюють функціональний стан мікроциркуляторного русла в пухлині, що, на нашу думку, потребує удосконалення контролю над цим процесом.

Важливий внесок у вивчення цієї проблеми ЛОР-онкології зробили дослідження таких чинників метастазування, як глибина інвазії первинної ракової пухлини та її залежності від рівня експресії матричних протеїназ та їхніх інгібіторів (MMP-9 і ТІМП-1) [3,4], а також аномалії

кадергін-катенінового комплексу, який відповідає за підтримання міжклітинної адгезії [5], оскільки рівень пухлинної інфільтрації та ступінь її диференціації безпосередньо корелюють із появою метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів. Однак таку закономірність неможливо простежити в реальній клінічній інтраопераційній ситуації, щоб використати її як предиктор.

Це диктує необхідність пошуку додаткових діагностичних критеріїв, що дадуть змогу точніше прогнозувати ризик розвитку регіонарного метастазування.

Отже, аналіз стану проблеми показав: питання прогнозування наявності прихованого метастазування у хворих на ранніх стадіях раку гортані нині остаточно не вирішено, оскільки в жодному з попередніх досліджень не визначали критичні значення кількісних показників основних чинників метастазування, з якими асоціюється підвищений ризик метастазування.

Мета роботи

Встановити у хворих на рак гортані $T_{1-2}N_0M_0$ частоту метастатичного ураження преперсноподібного SNL і кількісні показники предикторів, що асоціюються з метастатичним потенціалом первинної ракової пухлини.

Матеріали і методи дослідження

Проаналізували 61 спостереження за хворими на рак гортані $T_{1-2}N_0M_0$, які перебували на обстеженні та лікуванні в ЛОР-клініці Запорізького державного медичного університету з 2015 до 2018 р.

У дослідження залучили 5 (8,1 %) жінок і 56 (91,9 %) чоловіків. Середній вік пацієнтів становив $57,71 \pm 0,93$ року. За морфологічною будовою домінував плоскоклітинний рак: із високим ступенем диференціації (G1) – 16,3 %, проміжним ступенем (G2) – 75,5 %, низьким ступенем (G3) – 8,2 %.

Критерій залучення в дослідження – підтверджений діагноз раку гортані без клінічних ознак регіонарного метастазування.

Поширеність пухлинного процесу оцінювали за системою TNM 7 видання. Топічний діагноз (доопераційне стадіювання) здійснювали за допомогою клінічних, ендоскопічних, інтроскопічних методик.

Враховуючи мультифакторний патогенез процесу метастазування, здійснили дослідження таких його чинників, як морфологічний статус преперсноподібного SNL, глибина інвазії первинної пухлини, ступінь диференціації пухлини, функціональний стан неоплігенозу у прилеглих до ракової пухлини тканинах.

Передопераційне інтроскопічне дослідження глибини пухлинної інвазії вивчали за допомогою рентгенівського комп'ютерного томографа (РКТ) Toshiba у спіральному режимі сканування з контрастним посиленням омніпаком. РКТ виконали зрізами завтовшки 1,0 мм і кроком томографії 1,0 мм в аксіальній проекції та з мультипланарними реконструкціями.

Глибину інвазії вилучених пухлин гортані вивчали за допомогою макроскопічної морфометрії.

Патоморфологічні дослідження та стадіювання рTNM виконали на базі патоморфологічного відділення № 6 Запорізького обласного патологоанатомічного

бюро лікарем патологоанатомом вищої категорії В. Я. Лелюком.

Функціональний стан процесу ангіогенезу у прилеглих до первинної пухлини тканинах досліджували методом ЛДФ-метрії з визначенням показників: показник мікроциркуляції (ГМ) і його сігма (σ), середнє квадратичне відхилення (K_v), міогенний (МТ) і нейрогенний тонуси (НТ) мікросудинного русла, показник шунтування (ПШ). Дослідження виконали за допомогою приладу ЛАКК-02 (РФ) із програмним забезпеченням LDF 2.20.0.507WL.

Метастатичне ураження SNL визначали на операційному матеріалі вилучених преперсноподібних лімфовузлів, які є першим колектором лімфи від голосникового відділу гортані [4]. Для гістологічного дослідження фрагменти лімфовузла фіксували в 10 % нейтральному забуференому розчині формаліну (рН 7,0). Гістологічні зрізи завтовшки 3–4 мікрони забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Статистичне опрацювання результатів виконали, використовуючи програми Statistica 13.0 (StatSoftInc., № JPZ8041382130ARCN10-J) і MedCalc.10.2.0.0. Обчислювали середнє значення (M), стандартну помилку репрезентативності середнього значення (m), розраховували довірчий інтервал середнього значення. Зв'язок між наявністю метастазування та показниками мікроциркуляції встановлювали, розраховуючи коефіцієнт асоціації та точний критерій Фішера з побудовою таблиці 2×2 . Розраховували відносний ризик метастазування. Результати наведені як відносний ризик і довірчі інтервали (ДІ). Результати вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Усі пацієнти, яких обстежили, дали свою інформовану згоду на участь у дослідженні.

Результати

В обстежених оцінювали поширеність пухлинного процесу. Встановили, що в 15 (26,2 %) хворих поширеність пухлини відповідала критерію $T_1N_0M_0$, а у 46 (73,8 %) – $T_2N_0M_0$.

Під час передопераційного РКТ-дослідження визначили, що у 15 хворих із $T_1N_0M_0$ середня глибина пухлинної інвазії гортані становила $3,37 \pm 0,18$ мм, а у 46 пацієнтів із $T_2N_0M_0$ – $5,17 \pm 0,11$ мм.

Для визначення функціонального стану процесу ангіогенезу в первинній пухлині гортані у всіх пацієнтів інтраопераційно виконали ЛДФ-метрію мікроциркуляції у прилеглих до пухлини тканинах гортані перед її вилученням.

Усі пацієнти отримували спеціалізоване лікування за протоколом, використовуючи різні за обсягом електрохірургічні резекції гортані. Характер хірургічних втручань описаний у *таблиці 1*.

Під час морфологічного дослідження вилучених преперсноподібних SNL їхнє метастатичне ураження виявили в 7 (11,8 %) пацієнтів із $T_2N_0M_0$.

Аналізуючи відмінності стану мікроциркуляції у прилеглих до пухлини тканинах гортані за наявності і без метастазування у преперсноподібній SNL, отримали дані, що наведені в *таблиці 2*.

Результати ЛДФ-метрії показали, що в пацієнтів із метастатичним ураженням преперсноподібного SNL

Таблиця 1. Характер хірургічних втручань (n = 61)

Вид хірургічного втручання	Кількість хворих	%
Хордектомія з вилученням пухлини	15	24,6
Геміларингектомія з вилученням пухлини	19	31,2
Фронтально-латеральна резекція гортані з вилученням пухлини	25	40,9
Горизонтальна надскладкова резекція гортані з вилученням пухлини	2	3,3

Таблиця 2. Показники мікроциркуляції у прилеглих до пухлини тканинах гортані у хворих з і без метастатичного ураження преперсноподібного SNL, M ± m

Показники ЛДФ, одиниці вимірювання	Без метастазів у сторожовому лімфовузлі (n = 15)	З метастазами у сторожовому лімфовузлі (n = 7)	p
ПМ, пф. од.	13,19 ± 0,38	22,62 ± 0,42	<0,05
σПМ	0,79 ± 0,10	0,72 ± 0,21	>0,05
K _v ПМ	13,59 ± 1,05	19,97 ± 2,45	>0,05
МТ, пф. од.	2,03 ± 0,17	5,05 ± 0,23	<0,05
НТ, пф. од.	1,81 ± 0,15	2,76 ± 0,16	<0,05
ПШ, пф. од.	1,07 ± 0,09	1,84 ± 0,05	<0,05

стан мікроциркуляції у прилеглих до пухлини тканинах гортані характеризувався вірогідним підвищенням показника мікроциркуляції понад 22,62 ± 0,42 пф. од., міогенного тону (МТ) до 5,05 ± 0,23, нейрогенного тону (НТ) до 2,76 ± 0,16, показника шунтування (ПШ) до 1,84 ± 0,05, тобто зниження нутритивного кровотоку з переважанням шунтового, що характерне для активізації процесу неоангіогенезу в пухлині.

Для визначення зв'язку між предикторами, які асоціюються з метастатичним потенціалом первинної пухлини, та враховуючи мультифакторний патогенез процесу метастазування, здійснили розрахунок коефіцієнта асоціації та критерію Фішера з побудовою таблиці 2 × 2.

Встановили, що є зв'язок між метастазуванням і глибиною інвазії пухлини (показник асоціації 0,85), ступенем диференціації пухлини (показник асоціації 0,66) та показником шунтування (показник асоціації 0,96). При показнику шунтування понад 1,63 пф. од. ризик виникнення метастазування зростає на 54 % (RR = 2,72 [1,64; 4,52], ДІ 95 %; OR = 13,06 [1,39; 122,50], ДІ 95 %).

Тривалість динамічного спостереження за цими хворими становила майже 3 роки. Серед 7 пацієнтів із вилученими метастазами у преперсноподібний SNL за період спостереження від 8 до 14 місяців у 4 виявили збільшення шийних лімфатичних вузлів, і припустили прогресування захворювання (метастази в регіонарні шийні лімфатичні вузли). Хворим виконали хірургічне лікування в обсязі фасціальній-футлярній лімфодисекції, гістологічно підтверджено метастатичне ураження. Протягом спостереження за іншими хворими в жодному випадку не зафіксували появу «стрибаючих» регіонарних метастазів – метастатичного ураження несторожового регіонарного лімфовузла при інтактних SNL.

Обговорення

Нині відсутня єдина думка щодо надійних предикторів ризику метастазування раку гортані на ранніх стадіях [1,2,10].

Для цього здійснюють морфологічні дослідження біопсійного матеріалу зі сторожових лімфовузлів, що безпосередньо отримують потік лімфи від первинної злоякісної пухлини, а отже вони є об'єктивним діагностичним критерієм регіонарного метастазування [8,11,14].

Відомо, що в метастатичному процесі важливе значення має стан неоангіогенезу в первинній пухлині. Дослідженнями [9,12,13] щільності судин у первинній пухлині доведено, що високий ступінь васкуляризації пухлини є статистично вагомих маркером наявності регіонарного метастазування, але вони ґрунтуються на постопераційних морфологічних дослідженнях.

Вагомий внесок у вивчення цієї проблеми ЛОР-онкології зробили дослідження таких чинників метастазування, як глибина інвазії первинної ракової пухлини та її залежності від рівня експресії матричних протеїназ та їхніх інгібіторів (ММР-9 і ТІМП-1) [3,4], а також аномалії кадєрґін-катенінового комплексу, який відповідає за підтримання міжклітинної адгезії [5], оскільки рівень пухлинної інфільтрації та ступінь її диференціації безпосередньо корелюють із появою метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів. Однак таку закономірність не можливо простежити в реальній клінічній інтраопераційній ситуації, щоб використати її як предиктор метастазування.

Отже, в доступній фаховій літературі не виявили даних щодо інтраопераційного комплексного вивчення кореляційних взаємозв'язків між метастазуванням у сторожовий лімфовузол і можливістю використання предикторів критичних параметрів таких індикаторів метастазування, як поширеність первинної ракової пухлини, глибина її інвазії, ступінь диференціації та функціональний стан неоангіогенезу з визначенням їхніх критичних кількісних показників.

За даними, що отримали, ризик метастатичного ураження преперсноподібних (pN1sn) лімфовузлів у 7 хворих корелював із критичними параметрами таких індикаторів метастазування, як поширеність первинної ракової пухлини до T₂N₀M₀, глибина інвазії понад 6,28 ± 0,18 мм, низький ступінь диференціації G3, переважання шунтового кровотоку над нутритивним (ПШ = 1,84 ± 0,05 пф. од.), участь яких у метастатичному процесі підтверджено наявністю кореляційних взаємозв'язків. Результати дослідження та термін спостереження свідчать про можливість їх використання для інтраопераційного прогнозування наявності прихованого регіонарного метастазування й визначення доцільності виконання симультанної шийної дисекції на боці ураження гортані пухлиною.

Висновки

1. Виявлене інтраопераційно у 7 (11,4 %) хворих на рак гортані з T₂N₀M₀ метастазування у преперсноподібний сторожовий лімфовузол, а також поява у 4 із них гістологічно підтверджених метастазів свідчать про актуальність дослідження цієї проблеми ЛОР-онкології.

2. Встановили, що є зв'язок між метастазуванням і глибиною інвазії пухлини (показник асоціації 0,85), ступенем диференціації пухлини (показник асоціації

0,66) та показником шунтування (показник асоціації 0,96). При показнику шунтування понад 1,63 пф. од. ризик виникнення метастазування зростає на 54 % (RR = 2,72 [1,64; 4,52], ДІ 95 %; OR = 13,06 [1,39; 122,50], ДІ 95 %). Результати дають змогу вважати ці показники вірогідними факторами ризику метастатичного процесу.

3. Визначили критичні значення кількісних показників таких предикторів метастазування раку гортані, як поширеність процесу до T₂N₀M₀, глибина інвазії пухлини понад 6,28 ± 0,18 мм, низький ступінь диференціації (G3), переважання в пухлині шунтового кровотоку над нутритивним – ПШ понад 1,84 ± 0,05. Вони можуть бути використані як предикторні тести можливості ураження регіонарних лімфатичних вузлів клінічно нереалізованими метастазами та стати показанням виконання симультанної функціональної лімфодисекції шиї на боці ураження гортані.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчити у хворих на рак гортані з T₁₋₂N₀M₀ ефективність застосування на хірургічному етапі комбінованого лікування симультанної функціональної лімфодисекції шиї для профілактики появи метакронних регіонарних метастазів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.10.2019

Після доопрацювання / Revised: 31.10.2019

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2019

Відомості про авторів:

Троян В. І., д-р мед. наук, професор,

зав. каф. оториноларингології, Запорізький державний

медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2918-4547

Синайко І. О., канд. мед. наук, доцент каф. оториноларингології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3714-0088

Лобова О. В., канд. мед. наук, асистент каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4252-8690

Костровський О. М., канд. мед. наук, доцент

каф. оториноларингології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2127-0769

Сведения об авторах:

Троян В. И., д-р мед. наук, профессор,

зав. каф. оториноларингологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Синайко И. А., канд. мед. наук, доцент

каф. оториноларингологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Лобова Е. В., канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Костровский А. Н., канд. мед. наук, доцент

каф. оториноларингологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Trojan V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Sinaiko I. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Otorhinolaryngology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Lobova O. V., MD, PhD, Assistant of Department of Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kostrovskiy O. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Otorhinolaryngology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Рак в Україні, 2017-2018. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович та ін. *Бюлетень Національного канцер-реєстру України*. 2019. № 20. URL : http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/index.htm.
- [2] Ковтуненко О. В., Тимчук С. М., Шпортко Б. В. Аналіз хірургічного лікування регіонарних метастазів у хворих на рак гортані. *Журнал вушних, носових і горлових хвороб*. 2016. № 3с. С. 73-74.
- [3] Ковтуненко О. В., Тимчук С. М., Бакаєв А. А. Прогностичне значення показників експресії маркерів кісткової інвазії у хворих на плоскоклітинний рак верхньощелепної пазухи. *Журнал вушних, носових і горлових хвороб*. 2017. № 3. С. 10-21.
- [4] Березнюк Д. В., Ковтуненко О. В., Тимчук С. М. Прогностичне значення експресії матричних металопротеїназ 1 та 9 в пухлинах у хворих на плоскоклітинний рак ротової частини глотки. *Журнал вушних, носових і горлових хвороб*. 2016. № 1. С. 20-27.
- [5] Шишкін М. А., Туманський В. О. Особливості транскрипційної активності генів CDH1, CTNNB1 та експресії кодованих ними молекул Е-кадгерину, β-катеніну на I, II, III, IV стадіях розвитку колоректальної аденокарциноми. *Патологія*. 2018. Т. 15, № 2. С. 221-228. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.2.141432>.
- [6] Состояние интраоперационной микроциркуляции в щитовидном хряще у больных с раком гортани I-II стадий / В. И. Троян, А. Н. Костровский, И. А. Синайко, Е. В. Лобова. *Журнал вушних, носовых и горловых хвороб*. 2011. № 3с. С. 224.
- [7] Троян В. И., Синайко И. А., Костровский А. Н. Клинико-функциональная характеристика гемодинамики в перихондрии щитовидного хряща у больных раком гортани T1-2N0M0 в периоперационном периоде. *Журнал вушних, носовых и горловых хвороб*. 2013. № 1. С. 46-51.
- [8] Sentinel Node Biopsy in Head and Neck Squamous Cell Cancer: 5-Year Follow-Up of a European Multicenter Trial / L. W. T. Alkureishi, G. L. Ross, T. Shoaib et al. *Annals of Surgical Oncology*. 2010. Vol. 17, Iss. 9. 2459-2464. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1111-3>
- [9] Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis / B. H. Bochner, R. J. Cote, N. Weidner et al. *Journal of the National Cancer Institute*. 1995. Vol. 87, Iss. 21. P. 1603-1612. <https://doi.org/10.1093/jnci/87.21.1603>
- [10] Survival Outcomes in Patients with T2N0M0 (Stage II) Squamous Cell Carcinoma of the Larynx / D. L. Gainer, E. Marchiano, E. Bellellie et al. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2017. Vol. 157, Iss. 4. P. 625-630. <https://doi.org/10.1177/0194599817711374>
- [11] Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: a diagnostic meta-analysis / T. M. Govers, G. Hannink, M. A. W. Merx et al. *Oral Oncology*. 2013. Vol. 49, Iss. 8. P. 726-732. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.04.006>
- [12] Breast carcinoma: vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis / S. Kumar, A. Ghellal, C. Li et al. *Cancer Research*. 1999. Vol. 59, Iss. 4. P. 856-861.
- [13] Neovascularization in clinical stage a testicular germ-cell tumor – prediction of metastatic disease / D. Olivarez, T. Ulbright, W. Deriese et al. *Cancer Research*. 1994. Vol. 54, Iss. 10. P. 2800-2802.
- [14] Sentinel node concept in clinically n0 laryngeal and hypopharyngeal cancer / M. Tomifuji, A. Shiotani, H. Fujii et al. *Annals of Surgical Oncology*. 2008. Vol. 15, Iss. 9. P. 2568-2575. <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0008-x>

References

- [1] Fedorenko, Z. P., Mykhayilovych, Yu. Y., Hulak, L. O., Horokh, Ye. L., Ryzhov, A. Yu., Sumkina, O. V., & Kutsenko, L. B. (2019). Rak v Ukraini, 2017-2018. Zakhvoriuvannist, smertnist, pokaznyky dialnosti onkologichnoi sluzhby [Cancer in Ukraine, 2017-2018. Morbidity, mortality, indicators of oncology service activity]. *Biuletyn Natsionalnoho kantser-reiestru Ukrainy – Bulletin of the National Cancer Register of Ukraine*, 20, 100 [in Ukrainian]. Retrieved from http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/index.htm
- [2] Kovtunenکو, O. V., Tymchuk, S. M., & Shportko, B. V. (2016). Analiz khirurhichnoho likuvannia regionalnykh metastaziv u khvorykh na rak hortani [Analysis of surgical treatment of regional metastases in patients with laryngeal cancer]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 3s, 73-74. [in Ukrainian].
- [3] Kovtunenکو, O. V., Tymchuk, S. M., & Bakayev, A. A. (2017). Prohno- stychne znachennia pokaznykiv ekspresii markeriv kistkovoї invazii u

- khvorykh na ploskoklitynnyĭ rak verkhnoščhelepnoĭ pazukhy [Prognostic value of expression of bone invasion markers in patients with squamous cell carcinoma of the maxillary sinus]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 3, 10-21. [in Ukrainian].
- [4] Berezniuk, D. V., Kovtunenکو, O. V., & Tymchuk, S. M. (2016). Prohno-stychnе znachennia ekspresii matrychnykh metaloproteinaz 1 ta 9 v pukhlynah u khvorykh na ploskoklitynnyĭ rak rotovoi chastyny hlotky [Prognostic value of expression of matrix metalloproteinases 1 and 9 in tumors in patients with squamous cell carcinoma of the mouth]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 1, 20-27. [in Ukrainian].
- [5] Shyshkin, M. A., & Tumanskyi, V. O. (2018). Osoblyvosti transkryptsii-noi aktyvnosti heniv CDH1, CTNНB1 ta ekspresii kodovanykh nymy molekul E-kadherynu, β -kateninu na I, II, III, IV stadiakh rozvytku kolorektalnoi adenokartsynomy [Features of CDH1, CTNНB1 genes transcriptional activity and expression levels of E-cadherin, beta-catenin proteins coded by these genes on the I, II, III, IV stages of colorectal adenocarcinoma development]. *Pathologia*, 15(2), 221-228. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.2.141432>
- [6] Troyan, V. I. Kostrovskii, A. N., Sinaiko, I. A., & Lobova, E. V. (2011). Sostoyanie intraoperatsionnoi mikrogemotsirkulyatsii v shchitovidnom khryashche u bol'nykh rakom gortani I-II stadii [The state of intra-operative microcirculation in the thyroid cartilage in patients with stage I-II larynx cancer]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 3с, 224. [in Russian].
- [7] Troyan, V. I., Sinaiko, I. A., & Kostrovskiy, A. N. (2013). Kliniko-funktsional'naya kharakteristika gemodinamiki v perikhondrii shchitovidnogo khryashcha u bol'nykh rakom gortani T1-2N0M0 v perioperatsionnom periode [Clinical and functional characteristics of haemodynamic in perikhondrii of thyroid cartilage in patients with laryngeal cancer T1-2N0M0 during perioperative period]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 1, 46-51.
- [8] Alkureishi, L. W. T., Ross, G. L., Shoaib, T., Soutar, D. S., Robertson, A. G., Thompson, R., . . . Alberti, F. (2010). Sentinel Node Biopsy in Head and Neck Squamous Cell Cancer: 5-Year Follow-Up of a European Multicenter Trial. *Annals of Surgical Oncology*, 17(9), 2459-2464. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1111-3>
- [9] Bochner, B. H., Cote, R. J., Weidner, N., Groshen, S., Chen, S. C., Skinner, D. G., & Nichols, P. W. (1995). Angiogenesis in bladder-cancer – relationship between microvessel density and tumor prognosis. *Journal of the National Cancer Institute*, 87(21), 1603-1612. <https://doi.org/10.1093/jnci/87.21.1603>
- [10] Gainor, D. L., Marchiano, E., Bellile, E., Spector, M. E., Taylor, J. M. G., Wolf, G. T., . . . Shuman, A. G. (2017). Survival Outcomes in Patients with T2N0M0 (Stage II) Squamous Cell Carcinoma of the Larynx. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 157(4), 625-630. <https://doi.org/10.1177/0194599817711374>
- [11] Govers, T. M., Hannink, G., Merks, M. A. W., Takes, R. P., & Rovers, M. M. (2013). Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: A diagnostic meta-analysis. *Oral Oncology*, 49(8), 726-732. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.04.006>
- [12] Kumar, S., Ghellal, A., Li, C., Byrne, G., Haboubi, N., Wang, J. M., & Bundred, N. (1999). Breast carcinoma: Vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis. *Cancer Research*, 59(4), 856-861.
- [13] Olivarez, D., Ulbright, T., Deriese, W., Foster, R., Reister, T., Einhorn, L., & Sledge, G. (1994). Neovascularization in clinical stage a testicular germ-cell tumor – prediction of metastatic disease. *Cancer Research*, 54(10), 2800-2802.
- [14] Tomifuji, M., Shiotani, A., Fujii, H., Araki, K., Saito, K., Inagaki, K., . . . Ogawa, K. (2008). Sentinel node concept in clinically N0 laryngeal and hypopharyngeal cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 15(9), 2568-2575. <https://doi.org/10.1245/s10434-008-0008-x>

Study of the association of distribution pattern of genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (RS1107946) with indicators of external breathing in children with bronchial asthma

T. Ye. Shumna^{*A,E}, S. M. Nedelska^F, O. S. Fedosieieva^{B,C,D}

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

Purpose. The study of the distribution patterns of allelic genes and genotypes of the C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) in children with bronchial asthma, taking into account the indicators of external respiration function.

Materials and methods. Molecular-genetic study to determine the C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) was conducted in 125 children from 6 to 18 years, 100 of them with bronchial asthma who were hospitalized in the Allergic Department of the Municipal Non-Profit Enterprise "City Children Hospital No 5 of Zaporizhzhia City Council" and 25 healthy children (control group). There were no differences in age and sex in the comparison groups ($P > 0.05$). Genotype determination was performed by polymerase chain reaction method according to the instruction (Applied Biosystems, USA) using the samples of total DNA received from whole venous blood using SNP-Screen reagents (manufactured by "Syntol") on amplifier CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems ("Bio-Rad laboratories, Inc.", USA). The ventilation function of the lungs was studied by conducting a spirometric study on a computer spirometer "PULMOREM" TU U 33.1-02066769-005-2002 (Kharkiv, Ukraine). To compare the frequencies of alleles and genotypes in different groups, the non-parametric statistical method "2 × 2 Table", the Chi-square ($df = 1$) was used. Medians and interquartile intervals were also calculated, the two independent groups were compared by the Mann-Whitney criterion, the χ^2 criterion. Non-parametric statistics methods for the licensed software package Statistica for Windows 6.1.RU, serial number AXXR712D833214SAN5, were used to process the obtained study data.

Results. Molecular-genetic study of distribution patterns of allelic genes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in patients with bronchial asthma and in practically healthy children, showed that the allele C was registered with a frequency of 69.5 % and 84.0 %, allele A – 30.5 % and 16.0 %; dominant genotype C/C – 58 % and 76 %; heterozygous genotype C/A – 23 % and 16 %; homozygous genotype A/A – 19 % and 8 %, respectively. Children with bronchial asthma with genotype A/A had significantly lower FVC values up to 2.32 (1.55; 3.29), VC_{max} up to 1.69 (1.40; 2.98), FEV_1 up to 1.82 (1.43; 2.98), with genotype C/C – MEF_{75} up to 2.34 (1.87; 3.14) when compared with patients with heterozygous genotype A/C, and very low rates of FVC were recorded in 68.75 % of children with bronchial asthma with the A/A genotype against 30.77 % of patients with the A/C genotype and 36.17 % with the C/C genotype ($P < 0.05$).

Conclusion. Homozygous genotype A/A of C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946), was associated with more pronounced disorders of ventilatory function of lungs with obstructive breathing type due to impaired collagen formation in the bronchi, which may have prognostic significance both for early diagnosis and prediction of clinical course severity of this disease as well as for prevention and treatment of bronchial obstruction in patients.

Key words: polymorphism genetic, collagen, bronchial asthma, external respiratory function, children.

Pathologia 2019; 16 (3), 401–407

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.189016

***E-mail:** tshumnaya72@gmail.com

Дослідження асоціації розподілу генотипів поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) із показниками функції зовнішнього дихання в дітей із бронхіальною астмою

Т. Є. Шумна, С. М. Недельська, О. С. Федосєєва

Мета роботи – дослідження закономірності розподілу алельних генів і генотипів поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) у дітей із бронхіальною астмою, враховуючи показники функції зовнішнього дихання.

Матеріали та методи. Молекулярно-генетичне дослідження для визначення поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) здійснили у 125 дітей віком від 6 до 18 років, із них 100 – дітей із бронхіальною астмою, які перебували на стаціонарному лікуванні в алергологічному відділенні КНП «Міська дитяча лікарня № 5» ЗМП, і 25 здорових дітей (контрольна група). Відмінностей за віком та статтю у групах порівняння не було ($p > 0,05$). Генотип визначали методом полімеразної ланцюгової реакції згідно з інструкцією (Applied Biosystems, USA), використовуючи зразки тотальної ДНК, що отримана з цільної венозної крові з застосуванням реагентів «SNP-Скрин» (виробник «Syntol») на ампліфікаторі CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad laboratories, Inc.», USA). Вентиляційну функцію легень вивчали шляхом спірометричного дослідження на комп'ютерному спірографі «PULMOREM» ТУ У 33.1-02066769-005-2002 (м. Харків, Україна). Використовували непараметричний статистичний метод «2 × 2 Table», the Chi-square ($df = 1$), вираховували медіани та інтерквартильні інтервали, дві незалежні групи порівнювали за критерієм Манна–Уїтні, критерієм χ^2 . Опрацювали дані за допомогою ліцензійного пакета програм Statistica for Windows 6.1.RU, серійний номер AXXR712D833214SAN5.

Ключові слова: генетичний поліморфізм, колаген, бронхіальна астма, функція зовнішнього дихання, діти.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 401–407

Результати. Молекулярно-генетичне дослідження закономірностей розподілу алельних генів поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) у дітей із бронхіальною астмою та у практично здорових показало, що алель С реєстрували з частотою 69,5 % та 84,0 %, алель А – 30,5 % та 16,0 %; домінуючий генотип С/С – 58 % та 76 %; гетерозиготний генотип С/А – 23 % та 16 %; гомозиготний генотип А/А – 19 % та 8 % відповідно. У дітей із бронхіальною астмою з генотипом А/А були вірогідно нижчими показники ФЖЕЛ до 2,32 (1,55; 3,29), ЖЕЛ до 1,69 (1,40; 2,98), ОФВ₁ до 1,82 (1,43; 2,98), із генотипом С/С – МОС₇₅ до 2,34 (1,87; 3,14) порівняно з пацієнтами з гетерозиготним генотипом А/С, а дуже низькі показники ФЖЕЛ зареєстрували у 68,75 % дітей із бронхіальною астмою з генотипом А/А проти 30,77 % пацієнтів із генотипом А/С і 36,17 % з генотипом С/С ($p < 0,05$).

Висновки. Гомозиготний генотип А/А поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) асоціювався з вираженими порушеннями вентиляційної функції легень за обструктивним типом дихання внаслідок порушення колагеноутворення у бронхах, що може мати прогностичне значення для ранньої діагностики та прогнозування тяжкості клінічного перебігу цього захворювання та профілактики й лікування бронхіальної обструкції в пацієнтів.

Ключевые слова:

генетический полиморфизм, коллаген, бронхиальная астма, функция внешнего дыхания, дети.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 401–407

Исследование ассоциации распределения аллельных генотипов полиморфизма С/А гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) с показателями функции внешнего дыхания у детей с бронхиальной астмой

Т. Е. Шумная, С. Н. Недельская, Е. С. Федосеева

Цель работы – исследование закономерности и распределения аллельных генотипов полиморфизма С/А гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) у детей с бронхиальной астмой, учитывая показатели функции внешнего дыхания.

Материалы и методы. Молекулярно-генетическое исследование для определения полиморфизма С/А гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) проведено у 125 детей в возрасте от 6 до 18 лет, из них 100 детей с бронхиальной астмой, которые находились на стационарном лечении в аллергологическом отделении КНП «Городская детская больница № 5» ЗГС и 25 здоровых детей (контрольная группа). Дети по возрасту и полу в группах наблюдения не отличались ($p > 0,05$). Определение генотипа проводили методом полимеразной цепной реакции согласно инструкции (Applied Biosystems, USA) с использованием образцов тотальной ДНК, полученной с цельной венозной крови с использованием реагентов «SNP-Скрин» (производитель «Syntol») на амплификаторе CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad laboratories, Inc.», USA). Вентиляционную функцию легких изучали путем проведения спирографического исследования на компьютерном спирографе «PULMOREM» ТУ У 33.1-02066769-005-2002 (г. Харьков, Украина). Использовали непараметрический статистический метод «2 × 2 Table», the Chi-square ($df = 1$), высчитывали медианы и интерквартильные интервалы, две независимые группы сравнивали с использованием критерия Манна-Уитни, критерия χ^2 . Обработку полученных данных проводили при помощи лицензионного пакета программ Statistica for Windows 6.1.RU, серийный номер AXXR712D833214SAN5.

Результаты. Молекулярно-генетическое исследование закономерностей распределения аллельных генотипов полиморфизма С/А гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) у детей с бронхиальной астмой и у практически здоровых показало, что аллель С регистрировали с частотой 69,5 % и 84,0 %, аллель А – 30,5 % и 16,0 %; доминирующий генотип С/С – 58 % та 76 %; гетерозиготный генотип С/А – 23 % та 16 %; гомозиготный генотип А/А – 19 % та 8 % соответственно. У детей с бронхиальной астмой с генотипом А/А отмечены достоверно сниженные показатели ФЖЕЛ до 2,32 (1,55; 3,29), ЖЕЛ до 1,69 (1,40; 2,98), ОФВ₁ до 1,82 (1,43; 2,98), с генотипом С/С – МОС₇₅ до 2,34 (1,87; 3,14) при сравнении с пациентами с гетерозиготным генотипом А/С, а очень низкие показатели ФЖЕЛ зарегистрированы у 68,75 % детей с бронхиальной астмой с генотипом А/А против 30,77 % пациентов с генотипом А/С и 36,17 % с генотипом С/С ($p < 0,05$).

Выводы. Гомозиготный генотип А/А полиморфизма С/А гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) ассоциировался с более выраженными нарушениями вентиляционной функции легких по обструктивному типу дыхания вследствие нарушения колагенообразования в бронхах, что может иметь прогностическое значение для ранней диагностики и прогнозирования тяжести клинического течения этого заболевания, профилактики и лечения бронхиальной обструкции у пациентов.

Bronchial asthma (BA) remains the most topical issue of modern pediatrics and is a serious chronic disease, affecting millions of children of all ages [1]. Epidemiological, genetic and clinical anamnestic studies have indicated the role of certain environmental factors and genetic composition in the formation of bronchial asthma in children [2,3].

In this regard, medical practitioners and scientists have become interested in understanding the factors that lead to the formation of bronchial asthma, and especially its genetic aspects. The manifestation of this multifactorial disease occurs as a result of the interaction of genetic factors and certain environmental conditions. Allergens, viruses, bacteria, passive smoking, xenobiotics and genetic mechanisms contribute to the onset of bronchial asthma in children and affect the clinical course of the disease. Im-

mune and neurogenic features of pathogenesis, bronchial hyperreactivity in chronic inflammation and other factors contribute to the formation of active forms of oxygen. This leads to the development of hypoxia, oxidative stress, secondary pathological changes in the respiratory tract and lung tissue. At the present stage, the pathogenetic basis for the development of bronchial asthma is a change in the differentiation of activity of T-helpers of type 2, and a genetic determinate imbalance in the functioning of enzymes of oxidative and antioxidant effects. In general, an understanding of the various genetic mechanisms of the development of bronchial asthma makes it possible to re-understand the pathogenesis of this disease [4].

In Ukraine, the studies of genetic factors in the development of asthma have not been fully conducted, reliable

data on the prevalence of individual genes involved in the formation of the pathological process in persons at high risk of this disease remain unexplored, there are no data on the dependence of the manifestation period, the severity of the disease from the genotype of the patient, no schemes have been developed to determine the degree of hereditary predisposition to the development of asthma. Each difference in the phenotype of a child with bronchial asthma has individual traits and is caused by gene polymorphism, and polymorphic genes are those that are presented in a population by many alleles, which are different forms of the same gene, and they cause diversity and complexity intra-specific traits. It is known that the influence of genetic factors on the development of asthma is in the range of 35–70 % and hereditary burden of allergic diseases determines the more severe course of asthma [3,5,6].

An important area of modern genetic study is the identification of variants of genes which allow predicting the individual course of the disease and the response to therapy [6,7].

It is expected that in the near future a personalized BA prognosis will consist of personal environmental risk factors and a set of genes that will cause the development and course of disease [8–10].

This is especially important in children, because the younger the child, the more difficult it is to obtain the necessary information after conducting skin allergy tests or determining indicators of the function of external respiration. The chronic inflammatory process in the airways in children with bronchial asthma leads to irreversible structural changes in the bronchial wall in the form of thickening of all layers of the bronchial wall, proliferation of collagen fibers in the submucosal layer, hyperplasia and an increase in the number of myofibroblasts that are responsible for the synthesis and accumulation of collagen type I, III, IV in the submucosa layer of bronchus. This leads to a narrowing of the bronchi. In this case, structural disorders of the bronchi can form very early, when there are no clinical symptoms of the disease. Also, there are still no highly informative methods for identifying signs of chronic inflammation in the bronchi and reliable markers for predicting this disease. Today, genetic studies allow both diagnosing and predicting the development of bronchial asthma in a particular child very early in order to timely prevent structural changes in the bronchi that affect the function of external respiration [11].

At the present stage of scientific medicine development, to understand the genesis of the development of bronchial asthma and to assess the individual differences of the phenotype, it is necessary to conduct molecular genetic studies in order to determine the polymorphism of collagen and metabolism genes (COL1A1), which will allow to predict the risk of pathology and to prevent the risk of pathology. Collagen is the main insoluble fibrillar protein that underlies the connective tissue of the body. More than 90 % of all collagen accounts for type I collagen, which is a major protein element of the skin, blood vessels, tendons, cartilage and bones. It is this which provides them with the highest strength and elasticity under mechanical loading [11].

The most important achievement of recent years in the study of collagen was the detection of its heterogeneity. According to the latest data, up to 27 types of collagen are

distinguished, and each tissue of the body has its own relationship of types [11,12].

The immunological variances of collagen of different types have made it possible in recent years to study the localization of different types of collagen in connective tissue structures by using typo-specific antibodies.

Many scientific studies have been dedicated to the study of genes responsible for the formation of atopy, such as IL-4, -6, -13, but collagen plays a special role in the functioning of the bronchopulmonary system.

The special role of collagen in the functioning of the human bronchopulmonary system is also due to the fact that the alveoli are formed precisely by collagen fibers. Defects in the structure of elastin and collagen, caused by endogenous hereditary mechanisms of increasing activity of degradation enzymes, may contribute to the development of configuration abnormalities of the bronchi. The stigmas of dysembryogenesis by the bronchopulmonary system are manifested in the form of tracheobronchial dyskinesia, tracheobronchomalacia and tracheobronchomegaly, pulmonary hypertension, polycystic pulmonary disease, detection of apical bulging (during radiographic examination), spontaneous pneumothorax. The weakness of connective tissue structures contributes to the development of tracheobronchial dyskinesia – a significant change in the lumen of the trachea and large bronchi during breathing due to expiratory burst of their atonic membrane part [11].

Therefore, the study of gene mutations responsible for the exchange of collagen, which forms connective tissue and contribute to the development of connective tissue dysplasia syndrome, one of the phenotypic manifestations of which is the development of pathology of the bronchopulmonary system in children, is extremely important.

Purpose

The study of the distribution patterns of allelic genes and genotypes of the C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) in children with bronchial asthma, taking into account the indicators of external respiration function.

Materials and methods

Molecular-genetic study to determine the C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) was conducted in 125 children from 6 to 18 years, 100 of them with bronchial asthma who were hospitalized in the Allergic Department of the Municipal Non-Profit Enterprise City Children Hospital No. 5 of Zaporizhzhia City Council and 25 healthy children (control group). There were no differences in age and sex in the comparison groups ($P > 0.05$).

Genotype determination was performed by polymerase chain reaction method according to the instruction (Applied Biosystems, USA) using the samples of total DNA received from whole venous blood using SNP-Screen reagents (manufactured by "Syntol") on amplifier CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems ("Bio-Rad laboratories, Inc.", USA). The study was carried out in the Department of Molecular and Genetic Studies of the Research Medical-Laboratory Center at the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Zaporizhzhia State Medical University.

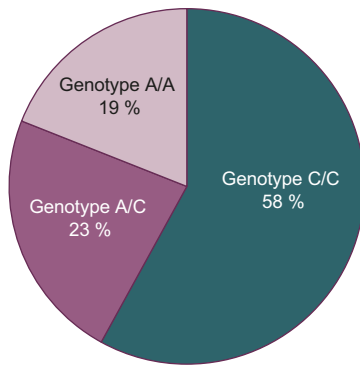


Fig. 1. Occurrence frequency of genotypes of C/A polymorphism of the collagen gene COL1A1_1 (rs1107946) in children with bronchial asthma.

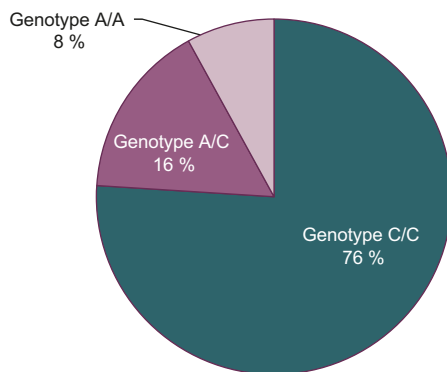


Fig. 2. Occurrence frequency of genotypes of C/A polymorphism of the collagen gene COL1A1_1 (rs1107946) in practically healthy children.

The ventilation function of the lungs was studied by conducting a spirometric study on a computer spiograph "PULMOREM" TU U 33.1-02066769-005-2002 (Kharkiv, Ukraine). The forced expiratory maneuver has been performed three times, with the following indicators: vital capacity maximal (VC_{max}), forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV_1), $FEV_1\%F = FEV_1/FVC$ ratio %, maximum expiratory flow at 25 %, 50 % and 75 % FVLC (MEF_{25} , MEF_{50} and MEF_{75})

To compare the frequencies of alleles and genotypes in different groups, the non-parametric statistical method "2 × 2 Table", the Chi-square ($df = 1$) was used. Medians and interquartile intervals were also calculated, the two independent groups were compared by the Mann-Whitney criterion, the χ^2 criterion. Non-parametric statistics methods for the licensed software package Statistica for Windows 6.1.RU, serial number AXXR712D833214SAN5, were used to process the obtained study data.

Results

Molecular and genetic study of C/A polymorphism of collagen gene COL1A1_1 (rs1107946) in children with bronchial asthma has detected that the incidence of allelic gene A was 30.5 %, allele C – 69.5 %, and in healthy children 16 % and 84 %, respectively.

Studies have found that in children with bronchial asthma, the homozygous genotype C/C was most frequently registered and was equal to 58 %. The heterozygous genotype C/A and the homozygous genotype A/A were sig-

nificantly less frequently reported; the incidence of bridging among children with bronchial asthma was only 23 % and 19 %, respectively (Fig. 1).

In the comparison control group, that is, in healthy children, homozygous C/C genotype (76 %) was also significantly more frequently registered compared with the incidence of homozygous A/A genotype (8 %) and heterozygous C/A genotype (16 %) respectively (Fig. 2).

Depending on the presence or absence of pathology such as bronchial asthma, a comparative analysis of the genotype distribution of C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) was also performed. Although in healthy children only a tendency for the prevalence of homozygous genotype C/C and a tendency for a decrease in the incidence of homozygous genotype A/A and heterozygous genotype C/A than in patients with bronchial asthma was observed, but there was no significant difference between these parameters.

Therefore, we further analyzed the association of genotype distribution of the C/A polymorphism of the collagen COL1A1_1 gene (rs1107946) with indicators of external respiratory function in children with bronchial asthma. In the study of ventilatory function of the lungs, obstructive breathing with a decrease in external respiration, at the time of examination, was recorded in 76 children with bronchial asthma. All 25 practically healthy children and 24 children with controlled bronchial asthma during sustained remission had all indicators of external respiration within the age range.

Indicators of external respiratory function in children with bronchial asthma, depending on their genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) are presented in Table 1.

Concurrently children with bronchial asthma and homozygous A/A genotype, when compared with patients with heterozygous A/C genotype, had significantly lower rates of forced vital lung capacity (2.32 (1.55; 3.29) versus 3.20 (2.51; 3.77)). $P < 0.05$; vital lung capacity (1.69 (1.40; 2.98) vs. 2.37 (1.97; 2.88)), $P < 0.05$; forced expiratory volume in the first second (1.82 (1.43; 2.98) vs. 2.40 (1.89; 3.08)), $P < 0.05$. At the same time, in children with bronchial asthma and homozygous C/C genotype, the maximum exhalation volume rate at 75 % of FLVC was significantly lower than in children with A/C genotype (2.34 (1.87; 3.14) vs. 2.46 (1.95; 3.24)), $P < 0.05$.

The distribution of genotypes of the C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in children with bronchial asthma and with impaired ventilatory function of the lung, characterized by very low rates of external respiration during spirometry, are presented in Table 2.

Concurrently 68.75 % of children with bronchial asthma with A/A genotype were significantly more likely to have very low rates of forced vital lung capacity, compared to 30.77 % of patients with A/C genotype and 36.17 % with C/C genotype.

According to our hypothesis, these data can be explained by the fact that in children with bronchial asthma with the A/A genotype of C/A polymorphism of the collagen gene COL1A1_1 (rs1107946) the violation of collagen formation in the bronchi is observed, which causes more pronounced disorders of lung ventilatory function with obstruction respiration type while patients with genotypes C/A and C/C have bronchial obstruction due to the well-known heterogeneous chronic inflammation of the respiratory tract.

Table 1. Indicators of external respiratory function, depending on their genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in children with bronchial asthma (Me (Q25; Q75))

Indicators	FVC	VC _{max}	FEV ₁	FEV ₁ %F	MEF ₂₅	MEF ₅₀	MEF ₇₅
Genotype A/A (n = 16)	2.32 (1.55; 3.29)	1.69 (1.40; 2.98)	1.82 (1.43; 2.98)	0.82 (0.72; 0.90)	4.46 (3.59; 5.12)	3.41 (2.27; 3.93)	1.87 (1.20; 2.29)
Genotype A/C (n = 13)	3.20 (2.51; 3.77)	2.37 (1.97; 2.88)	2.40 (1.89; 3.08)	0.83 (0.82; 0.90)	5.23 (4.78; 5.57)	3.79 (2.64; 4.43)	2.46 (1.95; 3.24)
P (A/A-A/C)	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Genotype C/C (n = 47)	3.16 (2.64; 3.75)	3.10 (2.64; 3.75)	2.67 (2.07; 3.32)	0.81 (0.73; 0.92)	5.27 (3.98; 6.66)	4.06 (2.95; 5.38)	2.34 (1.87; 3.14)
P (A/A-C/C)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
P (A/C-C/C)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

Table 2. Genotype distribution of collagen gene C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in children with bronchial asthma with very low ventilatory function (abs/%)

Indicators	FVC	VC _{max}	FEV ₁	FEV ₁ %F	MEF ₂₅	MEF ₅₀
Genotype A/A (n = 6)	11/68.75	9/56.25	3/18.75	5/31.25	0/0	4/25.00
Genotype A/C (n = 13)	4/30.77	6/46.15	3/23.08	2/15.38	2/15.38	1/7.69
P (A/A-A/C)	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Genotype C/C (n = 47)	17/36.17	25/53.19	9/19.15	15/31.91	5/10.64	10/21.28
P (A/A-C/C)	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
P (A/C-C/C)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

Discussion

Other scientific works that we analyzed in the course of our study are dedicated as well to the identification of genotypic and associated with it phenotypic features of bronchial asthma.

Thus, three subgroups of patients participated in the study of the association of the rs510432 polymorphism of the ATG5 gene with indicators of forced expiratory volume in the first second (FEV₁). The first subgroup included 18 patients (18.37 %) with the major (homozygous) genotype, the second – 51 children (52.04 %) with the heterozygous genotype, the third – 29 persons (29.59 %) with minor (homozygous) genotype. At the same time, no statistically significant differences between the average values of FEV₁ in patients with major and heterozygous genotype, heterozygous and minor genotype were found ($P < 0.05$). However, average FEV₁ values in patients with a minor genotype were significantly lower than with the major genotype ($P < 0.05$). Thus, the rs510432 polymorphism of ATG5 gene is also considered to be a predictor of decreased respiratory function in children, allowing individually prescription of prophylactic measures and / or treatment to prevent the development or exacerbation of bronchial asthma [13–15].

Fedortsev O. Y. also studied the function of external respiration in children with bronchial asthma; but according to his conclusions, the changes in spirometric parameters in patients are informative only during the attacks allowing distinguishing the types of disorders of the function of external respiration – mixed with obstruction predominance and purely obstructive. During exacerbation of bronchial asthma, priority indicators are violated that are dependent on the exhalation phase (mid-expiratory flow (MEF₂₅₋₇₅), maximum expiratory flow at 25 %, 50 % and 75 % FVLC (MEF₂₅, MEF₅₀ and MEF₇₅)). But in our study the most diagnostically informative indicators turned out to be FVC, VC_{max}, FEV₁ [16].

In studying clinical and spirographic features of phenotypic features of bronchial asthma of physical tension in school-age children, divided into two groups of comparisons, O. G. Grigola established the following data. Thus, in chil-

dren with the asthma phenotype of physical exertion, unlike the peers in the comparison group, there was more severe clinical course of the disease, accompanied by the risk of loss of control with odds ratio of 3.45 and relative risk of 1.47. Patients with asthma phenotype of physical exertion were distinguished by higher rates of non-specific hypersensitivity of the bronchi to direct and indirect bronchoprovocation stimuli and more pronounced skin hypersensitivity of immediate type to standard household allergens, which is due to a greater degree of burden of family allergic anamnesis [17].

Banadyha N. V. has put forward an assumption that the polymorphism of the rs1042713 Arg16Gly of the ADRB2 gene in children with bronchial asthma is represented by the predominance of the Arg16Gly variant in all phenotypes, as well as in the case of early debut disease. Late manifestation of the disease is associated with the homozygous variant Gly16GlyADRB2 [18]. It has also been shown that among patients with bronchial asthma with a difficult hereditary history of atopy, the Arg16Gly genotype of ADRB2 gene prevails. At that time, in families with no cases of allergic pathology, the Gly16Gly genotype registered with a frequency of 53.33 %, occupies a leading place [19].

According to the results of genotyping, Ivanova L. A. states that the genotype T1delM1 + is registered in eosinophilic bronchial asthma in 15.5 % of cases, that is more often than in the neutrophilic type of airway inflammation (11.6 %). The T1 + M1del genotype was more frequently reported in children with a non-eosinophilic disease phenotype of disease (32.6 %) than in their peers with eosinophilic bronchial asthma (28.9 %). Severe form of disease was detected in 4 of 5 carriers of the T1delM1del genotype (80 %) in patients with eosinophilic asthma and in 2 of 5 carriers (40 %) with neutrophilic type of respiratory passages inflammation. At the same time, carriers of the T1 + M1 + genotype were diagnosed with severe form of disease in 12 of 21 (57.1 %) patients with eosinophilic asthma and in 8 of 19 (42.1 %) with non-eosinophilic type of respiratory passages inflammation. Thus, in patients with an eosinophilic phenotype of bronchial asthma who have the T1delM1del genotype, the disease more often passed

in the severe forms. In general, it should be noted that in patients with eosinophilic asthma, which are carriers of defective alleles of GSTT1 and M1 genes in the homozygous state, there was a tendency to increased bronchial lability due to a more pronounced bronchospasm, and the index of hyper-reactivity of the bronchi was significantly higher than in children with functionally complete alleles of these genes. Therefore, genetically caused lack of activity of individual enzymes of the biotransformation system of xenobiotics, in particular GSTT1 and M1, may be a cause of higher lability of the bronchi [20].

In recent years, children with chronic somatic pathology have been increasingly diagnosed with signs of undifferentiated connective tissue dysplasia [21]. It is known that the development of both bronchial asthma and undifferentiated connective tissue dysplasia is caused by the interaction of genetic and external factors, which, in turn, leads to changes in the functional activity of the hereditary apparatus of somatic cells [22,23].

Changes from the side of the bronchopulmonary system occupy a significant place among patients with undifferentiated connective tissue dysplasia, complicating the course of the underlying disease [24].

There are morphological changes of the respiratory tract of inflammatory nature. These is thickening of the sub-mucosal layer, infiltration of the respiratory passages walls by eosinophils and lymphocytes with damage to the epithelium, smooth muscle hypertrophy, redistribution of interstitial collagen as a mechanism of respiratory passages remodeling. These changes occur with the participation of the same cytokines as in classical bronchial asthma – histamine, prostaglandins, leukotrienes [25].

Scientific articles have also highlighted studies aimed at studying the collagen gene COL1A1_1, phenotypic and clinical manifestations of other diseases in children [26–29].

Peigen Xie, Bin Liu, Liang Ming Zhang suggested that type I collagen is the most common protein and is a component of the bone matrix. The collagen COL1A1_1 gene is considered to be a strong candidate gene, which may be important for the regulation and function of connective tissue, therefore, potential associations between polymorphism within collagen 1 alpha 1 (COL-1A1) in the examined patients lead to abnormalities in bone matrix structure and connective tissues [30].

Victor A. Mc Kusick's article discusses that COL3A1 gene mutations are life-threatening for a person, and leads to enlargement, rupture of the arterioles, and risk of damage to internal organs such as the lungs [31].

Malachkova N. V. studied the value of the rs1107946 polymorphism of the COL1A1 gene in children and states that the average population frequency of the A SNP rs1107946 variant allele in the world is 0.26–0.27, and the average genotype distribution indicators according to various data are: C/C – 55.5–66.0 %, A/C – 27.0–37.5 %, A/A – 5–7 %. However, there is considerable geographical variability in the frequency of allelic variants of the SNP rs1107946 of the COL1A1 gene in different populations of the world. It should be noted that the population of Europe is characterized by a very low incidence of homozygous AA SNP rs1107946 carriers – in average 0.8 %, which coincides with the data obtained in our studies and explains the absence of homozygous with variant alleles in

the sample of persons who participated in genotyping by this polymorphism. A more detailed analysis of the above studies conducted in Ukraine allows the assumption that the most probable cause of such significant differences in the frequency of allelic variants of the SNP rs1107946 of the COL1A1 gene may be the differences in the size of the sampling at genotyping. Thus, the studies which showed the high frequency of the SNPrs1107946 variant allele, the number of persons in the control groups was 20 and 30, respectively. Thus, the results of genotyping SNPrs1107946 of the COL1A1 gene among children obtained in our study do not differ from the European average population data and coincide with the data of prevalence of allelic variants in Ukraine obtained in large samplings [32].

Conclusions

1. Molecular-genetic study of distribution patterns of allelic genes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in patients with bronchial asthma and in practically healthy children showed, that the allele C was registered with a frequency of 69.5 % and 84.0 %, allele A – 30.5 % and 16.0 %; dominant genotype C/C – 58 % and 76 %; heterozygous genotype C/A – 23 % and 16 %; homozygous genotype A/A – 19 % and 8 %, respectively.

2. Children with bronchial asthma with genotype A/A had significantly lower FVC values up to 2.32 (1.55; 3.29), VC_{max} up to 1.69 (1.40; 2.98), FEV₁ up to 1.82 (1.43; 2.98), with genotype C/C – MEF₇₅ up to 2.34 (1.87; 3.14) when compared with patients with heterozygous genotype A/C, and very low rates of FVC were recorded in 68.75 % of children with bronchial asthma with the A/A genotype against 30.77 % of patients with the A/C genotype and 36.17 % with the C/C genotype (P < 0.05).

3. Homozygous genotype A/A of C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946), was associated with more pronounced disorders of ventilatory function of lungs with obstructive breathing type due to impaired collagen formation in the bronchi, which may have prognostic significance both for early diagnosis and prediction of clinical course severity of this disease as well as for prevention and treatment of bronchial obstruction in patients.

Prospects for further studies. In the future, we are planning to study the occurrence frequency of the presented genotypes depending on the clinical and laboratory data in children with bronchial asthma.

Funding

The performed study is a fragment of the scientific and research work of Zaporizhzhia State Medical University on the topic: "Optimization of differential diagnostics and treatment of allergic and other diseases in children of different ages" (state registration number 0118U004254).

Acknowledgments

The authors are grateful to the Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Head of the Department of Molecular and Genetic Studies of the Research Medical-Laboratory Center of the State Medical University, MD, PhD, DSc, Prof. O. M. Kamyshnyi for the implementation of this work.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.09.2019
 Після доопрацювання / Revised: 10.10.2019
 Прийнято до друку / Accepted: 25.10.2019

Information about authors:

Shumna T. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Nedelska S. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Fedosieieva O. S., MD, Postgraduate Student of the Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Шумна Т. Є., д-р мед. наук, професор каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Недельська С. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Федосєєва О. С., аспірант каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Шумная Т. Е., д-р мед. наук, профессор каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Недельская С. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Федосеева Е. С., аспирант каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- Abaturov, O. Ye., & Rusakova, O. O. (2015). Prohnozuvannia individualnoho ryzyku rozvytku bronkhialnoi obstruktsii pry hostrykh bronkhitakh u ditei rannoho viku [Prediction of the individual risk of bronchial obstruction in acute bronchitis in infants]. *Zdorov'e rebenka*, 1, 55-60. [in Ukrainian].
- Alifanova, S. V. (2013). Faktory ryzyku rozvytku bronkhialnoi astmy u ditei [Risk factors of bronchial asthma in children]. *Current issues of pharmaceutical and medical science and practice*, 3, 4-7. [in Ukrainian].
- Besh, L. V. (2012). Bronkhialna astma u ditei [Bronchial asthma in children]. *Zdorov'e rebenka*, 8, 8-20. [in Ukrainian].
- Chumachenko, N. G. (2016). Rol ekolohichnykh ta henetychnykh chynnykiv u formuvanni bronkhialnoi astmy u ditei (ohliad literatury) [The role of ecological and genetic factors in the onset of asthma in children (literature review)]. *Perinatologiya i pediatriya*, 3, 127-133. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/PP.2016.67.127>
- Savenko, U. O. (2015). *Henetychni, immuni i klinichni kryterii prohnozuvannia ta optymizatsiia profilaktyky alerhichnykh zakhvoriuvan u ditei* (Avtoreferat dis... k. med. nauk). [Genetic, immune and clinical criteria for projection and optimization of allergic diseases prevention in children] (Dissertation for the degree of candidate of medical sciences). Bogomolets National Medical University, Kyiv. [in Ukrainian].
- Alimova, Yu. B., Zhelenina, L. A., Galustyan, A. N., Korostovtsev, D. S., & Ivashchenko, T. E. (2012). Geneticheskaya geterogennost' i fenotipy bronkhial'noi astmy u ditei [Genetic heterogeneity and phenotypes of bronchial asthma in children]. *Voprosy prakticheskoi pediatrii*, 7(6), 14-18. [in Russian].
- Postma, D. S., & Koppelman, G. H. (2009). Genetics of asthma: where are we and where do we go? *The Proceedings of the American Thoracic Society*, 6(3), 283-287. <https://doi.org/10.1513/pats.200806-047RM>.
- Geppe, N. A. (2012). Aktualnost' problem bronkhial'noy astmy u detey [The relevance of the problem of bronchial asthma in children]. *Pediatriya*, 91(3), 76-82. [in Russian].
- Global Initiative for Asthma. (2019). *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. Retrieved from <http://www.ginasthma.org>
- Papadopoulos, N. G., Arakawa, H., Carlsen, K. H., Custovic, A., Gern, J., Lemanske, R., ... Zeiger, R. S. (2012). International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy*, 67(8), 976-997. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2012.02865.x>
- Hnateiko, O. Z., & Sadova, O. M. (2009). Deiak aspekty problemy diahnozyky bronkhialnoi astmy u ditei [Some aspects of the problem of early diagnosis of bronchial asthma in children]. *Zdorov'e rebenka*, 5, 118-122. [in Ukrainian].
- Solyeyko, O. V., Osipenko, I. P., & Solyeyko, L. P. (2014). «Biochimichne oblychchia» syndromu nediferentsiovanoi dysplazii spoluchnoi tkany [«Biochemical Markers» of Undifferentiated Dysplasia of Connective Tissue]. *Liky Ukrainy*, 1, 6-14. [in Ukrainian].
- Lytvynets, L. Ya., Synoverska, O. B., Gnateyko, O. Z., & Vyshtak, N. V. (2012). Molekuliarno-henetychni osnovy i stratehiia analizu bronkhialnoi astmy v ditei [Molecular and genetic basics and strategy of bronchial asthma analysis in children]. *Zdorov'e rebenka*, 7, 85-89. [in Ukrainian].
- Holloway, J. W., Yang, I. A., & Holgate, S. T. (2010). Genetics of allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S81-S94. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.071>
- Wang, F., He, X. Y., Baines, K. J., Gunawardhana, L. P., Simpson, J. L., Li, F., & Gibson, P. G. (2011). Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma. *European Respiratory Journal*, 38(3), 567-574. <https://doi.org/10.1183/09031936.00170110>
- Fedortsiv, O. Ye., Vasyliieva, N. A., & Voloshyn, S. B. (2014). Funktsiia zovnisnogo dykhannia u ditei z bronkhialnoi astmou [Respiratory function in children with asthma]. *Aktualni pytannia pediatrii, akusherstva ta hinekolohii*, 1, 21-24. [in Ukrainian].
- Grigola, O. G. (2013). Klinichno-spirohrafichni osoblyvosti fenotypu bronkhialnoi astmy fizychnoi napruhy u ditei shkilnoho viku [Clinical and spirometrical features of phenotype of exertional bronchial asthma in school age children]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny*, 13(3), 115-119. [in Ukrainian].
- Banadyha, N. V., & Voloshyn, S. B. (2016). Rol fenotypovykh ta henotypovykh znakov u perebihu bronkhialnoi astmy u ditei [Role of phenotypic and genotypic signs of bronchial asthma in children]. *Sovremennaya pediatriya*, 4, 62-66. [in Ukrainian].
- Ponomarova, M. S., Furman, Ye. G., Khuzina, Ye. A., Yarulina, A. M., & Zhdanovich, E. A. (2015). Semeinyi polimorfizm gena ADRB2 pri bronkhial'noi astme v detskom vozraste [Family polymorphism of ADRB2 gene in childhood bronchial asthma]. *Permskii meditsinski zhurnal*, 32(5), 30-36. [in Russian].
- Ivanova, L. A. (2015). Polimorfizm heniv hlutacion-S-transferazy T1, M1 ta nespetsyficna hiperspriyatlyvist bronkhiv pry eozynofilnii bronkhialnii astmi u ditei [Gene polymorphism of glutation-S-transferase T1, M1 and non-specific hyperresponsiveness of bronchuses under eosinophilic bronchial asthma in children]. *Astma ta alerhiia*, 2, 42-46. [in Ukrainian].
- Klemenov, A. V. (2003). Vnekardial'nye proyavleniya nediferentsirovannoi displazii soedinitel'noi tkani [Extracardiac manifestations of undifferentiated connective tissue dysplasia]. *Klinicheskaya meditsina*, 81(10), 1-6. [in Russian].
- Balabolkin, I. I. (2015). Vozmozhnosti terapevticheskogo kontrolya allergicheskikh boleznei u detei na sovremennom etape [Possibilities of therapeutic control of allergic diseases in children at the modern stage]. *Pediatriya*, 97(4), 146-150. [in Russian].
- Balabolkin, I. I., & Tyumentseva, Ye. S. (2010). Genetika atopicheskikh boleznei u detei [Genetics of atopic diseases in children]. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk*, 4, 15-22. [in Russian].
- Baklunov, V. V. (2006). Sistemnaya displaziya soedinitel'noi tkani – odin iz vazhnykh faktorov formirovaniya retsdiviruyushchego bronkhita u detei [Systemic dysplasia of the connective tissue – one of the most important factors in the formation of recurrent bronchitis in children]. *Sovremennaya pediatriya*, 4, 193-196. [in Russian].
- Robinson, D. S. (2010). The role of the T cell in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(6), 1081-1091. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.06.025>
- Gibeon, D., & Chung, K. F. (2012). The investigation of severe asthma to define phenotypes. *Clinical and Experimental Allergy*, 42(5), 678-692. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2012.03959.x>
- Slager, R. E., Hawkins, G. A., Li, X. N., Postma, D. S., Meyers, D. A., & Bleeker, E. R. (2012). Genetics of Asthma Susceptibility and Severity. *Clinics in Chest Medicine*, 33(3), 431-+. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2012.05.005>
- Portelli, M., & Sayers, I. (2012). Genetic basis for personalized medicine in asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 6(2), 223-236. <https://doi.org/10.1586/ers.12.9>
- Bhakta, N. R., & Woodruff, P. G. (2011). Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again. *Immunological Reviews*, 242, 220-232. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01032.x>
- Xie, P. G., Liu, B., Zhang, L. M., Chen, R. Q., Yang, B., Dong, J. W., & Rong, L. M. (2015). Association of COL1A1 polymorphisms with osteoporosis: a meta-analysis of clinical studies. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(9), 14764-14781.
- McKusick, V. A., & Amberger, J. S. (1994). The morbid anatomy of the human genome – chromosomal location of mutations causing disease. *Journal of Medical Genetics*, 31(4), 265-279. <https://doi.org/10.1136/jmg.31.4.265>
- Malachkova, N. V., Yatsenko, D. A., Lyudkevich, G. P., & Shkarupa, V. N. (2019). Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine [Investigation of the value of rs1107946 polymorphism of COL1A1 gene in the development of myopia in children of the Podilia region of Ukraine]. *Arkhiv oftalmolohii Ukrainy*, 7(1), 35-39. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2309-8147.7.1.2019.163004>

Supramolecular complex sacubitril/valsartan – the first representative of a new class of drugs for the treatment of chronic heart failure

T. V. Ashcheulova^{A-F}, K. M. Kompaniiets^{*A-F}, N. M. Herasymchuk^{A-F}

Kharkiv National 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:

chronic heart failure, sacubitril/valsartan, left ventricular ejection fraction, natriuretic peptide, neutral endopeptidase.

Pathologia

2019; 16 (3), 408–416

DOI:

10.14739/2310-1237.2019.3.188964

*E-mail:

05021104saga@gmail.com

Ключові слова:

хронічна серцева недостатність, сакубітрил/валсартан, фракція викиду лівого шлуночка, натрійуретичний пептид, нейтральна ендопептидаза.

Патологія. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 408–416

Ключевые слова:

хроническая сердечная недостаточность, сакубитрил/валсартан, фракция выброса левого желудочка, натрийуретический пептид, нейтральная эндопептидаза.

Патология. – 2019. –

Т. 16, № 3(47). – С. 408–416

The average prevalence of chronic heart failure in the adult population, according to the statistics of different countries, ranges from 1.5 % to 5.5 % and therefore the study of this problem and of finding new approaches to the treatment of chronic heart failure is also still relevant at present.

Objective is to show an innovative strategy in the treatment of chronic heart failure, to show the benefits of using the combined drug sacubitril/valsartan (LCZ696) in comparison with the group of the mentioned above drugs for treating patients with chronic heart failure and a reduced left ventricular ejection fraction, according to the results of a large randomized clinical research, based on its biochemical properties.

Conclusions. The main positive effects of sacubitril and valsartan in patients with chronic heart failure are associated with an increase in the amount of the natriuretic peptide and the simultaneous suppression by valsartan of the negative effects of angiotensin II. The indication for the use of the sakubitril / valsartan complex is chronic heart failure (II – IV FC according to the NYHA classification) in patients with systolic dysfunction in order to reduce the risk of cardiovascular mortality and hospitalization for heart failure.

Надмолекулярний комплекс сакубітрил/валсартан – перший представник нового класу препаратів для лікування хронічної серцевої недостатності

Т. В. Ащеулова, К. М. Компанієць, Н. М. Герасимчук

Середній показник поширеності хронічної серцевої недостатності серед дорослого населення, за даними різних країн, становить від 1,5 % до 5,5 %, тому актуальним є вивчення цієї проблеми та пошук нових підходів терапії хронічної серцевої недостатності.

Мета роботи – показати інноваційну стратегію в лікуванні хронічної серцевої недостатності, переваги застосування комбінованого препарату сакубітрил/валсартан (LCZ696) порівняно з групою препаратів для лікування пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю, зниженою фракцією викиду лівого шлуночка, за результатами великих рандомізованих клінічних досліджень, ґрунтуючись на його біохімічних властивостях.

Висновки. Основні позитивні ефекти сакубітрилу та валсартану в пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю пов'язані зі збільшенням кількості натрійуретичного пептиду та одночасним пригніченням валсартаном негативних ефектів ангіотензину II. Показанням для застосування комплексу сакубітрил/валсартан є хронічна серцева недостатність (II–IV ФК за класифікацією NYHA) в пацієнтів із систолічною дисфункцією для зниження ризику серцево-судинної смертності та госпіталізації з приводу серцевої недостатності.

Надмолекулярный комплекс сакубитрил/валсартан – первый представитель нового класса препаратов для лечения хронической сердечной недостаточности

Т. В. Ащеулова, К. Н. Компанец, Н. Н. Герасимчук

Средний показатель распространенности хронической сердечной недостаточности среди взрослого населения, по данным разных стран, составляет от 1,5 % до 5,5 %, поэтому актуальным остается изучение этой проблемы и поиск новых подходов терапии хронической сердечной недостаточности.

Цель работы – показать инновационную стратегию в лечении хронической сердечной недостаточности, показать преимущества применения комбинированного препарата сакубитрил / валсартан (LCZ696) в сравнении с группой препаратов для лечения пациентов с сердечной недостаточностью и сниженной фракцией выброса левого желудочка, по результатам крупных рандомизированных клинических исследований, основываясь на его биохимических свойствах.

Выводы. Основные положительные эффекты сакубитрила и валсартана у пациентов с хронической сердечной недостаточностью связаны с увеличением количества натрийуретического пептида и одновременным подавлением валсартаном негативных эффектов ангиотензина II. Показанием для применения комплекса сакубитрил/валсартан является хроническая сердечная недостаточность (II–IV ФК по классификации NYHA) у пациентов с систолической дисфункцией с целью снижения риска сердечно-сосудистой смертности и госпитализации по поводу сердечной недостаточности.

Chronic heart failure (CHF) is a pathological condition where the heart, due to impaired pumping function, cannot provide organs and tissues with the necessary amount of blood in accordance with the metabolic needs of the tissues.

From a clinical point of view, CHF is a syndrome, the typical features of which are a decrease in exercise tolerance, fluid retention, progressive nature and a limited life expectancy.

The average prevalence of CHF in the adult population, according to the statistics of different countries, ranges from 1.5 % to 5.5 % (these fluctuations may, in particular, be associated with the lack of unified international epidemiological criteria for CHF). With age, CHF is progressively increasing, accounting for 10 % or more of those over 70 years old.

The incidence (the number of cases of newly diagnosed CHF during the year in the population) ranges from 150 to 500 cases per 100 thousand people (0.15–0.50 %), moreover among people over 45 years old, this figure doubles every 10 years. Thus, given the high prevalence of CHF in the examined patients, the study of this problem continues to be relevant at present. Despite the results achieved, the problem of finding new approaches to the treatment of CHF is also still relevant (Heart Disease and Stroke Statistics, 2016).

At least half of patients with CHF have a reduced left ventricular ejection fraction (LVEF).

The rest of the patients are patients with preserved LVEF EF. Among the latter, in comparison with patients with reduced LVEF, a greater proportion is women, people with arterial hypertension (AH), obesity and atrial fibrillation (AF).

Ischemic heart disease (CHD), which, according to epidemiological and multicenter clinical studies, is diagnosed in 60–75 % of these patients, is considered to be the most frequent etiological cause of heart failure (HF) in Europe and the USA. There are good reasons to believe that systemic hypertension takes the second place among the etiological factors of heart failure, however, the frequent combination of coronary artery disease and hypertension makes it difficult to assess the true role of the latter in the onset of CHF. According to statistical and epidemiological data, CHD and AH (separately or in combination) cause the occurrence of 75–80 % of all cases of HF [1]. The relevance of inadequately treated hypertension, as the etiological factor of CHF for Ukraine, may be indicated by data from the first national CHF statistics test conducted in 2011 (2.800 patients). Given the results obtained, 86 % of outpatients with this syndrome have a diagnosis of hypertension, which in almost 2/3 of cases is not controlled [2]. Old myocardial infarction (MI) is the most powerful independent risk factor for developing CHF in both the general population and among patients with hypertension. A significant risk factor for the development of CHF is also type 2 diabetes mellitus (DM). Other causes of CHF include dilated cardiomyopathy (DCM) and valvular heart disease, other causes of heart failure in developed countries account for no more than 5 % of cases [2,3].

The prognosis of patients with clinical manifestations of CHF is very serious; more than half of these patients

die within the next 5 years. The higher the degree of CHF clinical severity, the worse is its clinical prognosis. Thus, the mortality rate during one year in patients with I–II FC NYHA is 6–10 %, increasing to 25–50 % in patients with severe (IV FC NYHA) CHF. Patients with symptomatic CHF and preserved LVEF (>40 %) are characterized by better survival (approximately double, according to 5-year follow-up) compared to patients with CHF and reduced LVEF.

In large placebo-controlled clinical studies it has been proved that prolonged blockade of the renin-angiotensin, sympathoadrenal systems (SAS) and aldosterone via their pharmacological antagonists – ACE inhibitors (ACEI) or angiotensin receptor blockers (ARBs), beta-blockers (BB), antagonists mineralocorticoid receptors (AMR) can slow the progression of LV remodeling and systemic changes in CHF, resulting in a reduction or elimination of its clinical symptoms and an increase in life expectancy of patients.

The introduction of modern standards of CHF pharmacotherapy along with the improvement of the medical care system for such patients enables to decrease the number of their hospitalizations for circulatory decompensation by 30–50 %, as well as to improve their survival rate, although to a lesser extent.

Aim

The objective of this work is to show an innovative strategy in the treatment of CHF, to show the benefits of using the combined drug sacubitril / valsartan (LCZ696) in comparison with the group of the mentioned above drugs for treating patients with CHF and a reduced LVEF, according to the results of a large randomized clinical research, based on its biochemical properties.

Heart failure – a complication of a variety of diseases and comorbid pathologies. To date, there are three groups of drugs that have a positive effect on the prognosis of patient survival. These are angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACE inhibitors) (adding them to diuretic and digoxin enabled us to increase this figure by 17% and reduce the number of hospitalizations by 30 %. The next breakthrough was the introduction of β -adrenergic blockers (BAB) with an improved forecast by 35 % and then the use of mineralocorticoid receptor antagonists (MRA) or aldosterone by another 30 % [4]. Thus, the use of three groups of drugs improved the two-year prognosis of patient survival by 50 % and reduced hospitalization risk by 64 %.

Treatment of CHF as a syndrome cannot be fully effective, because HF is a complication that occurs against the background of a number of diseases, comorbid pathologies. There are a number of associated conditions that can cause HF, others cause exacerbation, decompensation. But there are also comorbid, concomitant conditions that make it difficult to treat patients. These are most often depression, Alzheimer's disease, dementia. Also, there are diseases, the symptoms of which are often perceived as CHF. They need to be identified, eliminated and only then to talk about the presence of HF in a patient. The most frequent causes of CHF are CHD and AH. According to the UNIVERS study, which included 2.800 patients from 35 cities of Ukraine, ischemic heart disease (with /

Table 1. Selected Potential Causes of Elevated Natriuretic Peptide Levels

Cardiac
HF, including RV syndromes
Acute coronary syndromes
Heart muscle disease, including LVH
Valvular heart disease
Pericardial disease
Atrial fibrillation
Myocarditis
Cardiac surgery
Cardioversion
Toxic-metabolic myocardial insults, including cancer chemotherapy
Noncardiac
Advancing age
Anemia
Renal failure
Pulmonary: obstructive sleep apnea, severe pneumonia
Pulmonary hypertension
Critical illness
Bacterial sepsis
Severe burns

*Modified from Table 8 of the 2013 HF guideline. 9 HF, indicates heart failure; LVH, left ventricular hypertrophy; and RV, right ventricular.

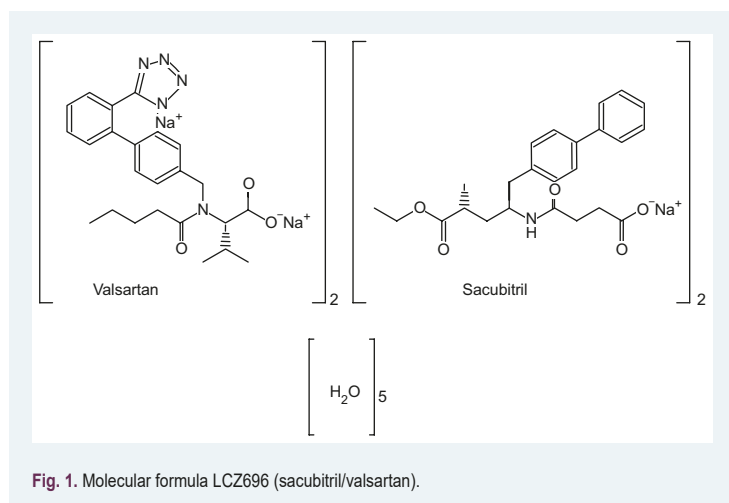


Fig. 1. Molecular formula LCZ696 (sacubitril/valsartan).

without AH) leads to CHF in 60 % of cases [5]. However, even after the diagnosis of coronary HF, stenting was performed only in 7.3 % of patients, and coronary artery bypass grafting (CABG) was performed only in 5.4 %. Moreover, in many individuals with HF, acute coronary syndrome or subclinical ischemia are concomitant, and coronary angiography during hospitalization is performed in less than 10 % of patients [6]. In the modern pharmacological arsenal of the Ukrainian physicians the actively used three groups of drugs that modulate the disease / prognosis – ACE inhibitors (Captopril, Enalapril, Fosinopril, Lisinopril, Perindopril, Quinapril, Ramipril, Trandopril) and angiotensin II receptor blockers ARBs (Candesartan, Losartan, Valsartan), β -blockers (Bisoprolol, Carvedilol), AMR Aldosterone antagonists (Spironolacton, Eplerenone) are currently added by two more – I1 channel inhibitor (Ivabradine) and the ARNI combination drug (sacubitril / valsartan).

Currently, in this therapy the focus is shifted to the degradation system of natriuretic peptides (NUP). A

number of reasons for an increase in the NUP level are established, and in the first place – chronic heart failure (Table 1).

The system of natriuretic peptides: a bioregulatory mechanism that prevents damage to the cardiovascular system. The enzyme that promotes the degradation of NUP is neutral endopeptidase (NEP) [3]. NEP is widely represented in endothelial and smooth muscle cells, cardiomyocytes, epithelial cells of the renal tubules, as well as in fibroblasts, they are persistently detected in the lung tissue, brain, heart and intestines. NEP is involved in the inactivation of not only NUP, but also such endogenous vasoactive peptides as bradykinin and adrenomedullin, as well as endothelin-1 and angiotensin II (AT II). It has been established that selective inhibitors of NEP prevent the degradation of NUP in vitro and in vivo, as well as increase their biological activity. In addition, NEP inhibitors are able to increase the enzymatic conversion of big endothelin into the active form – endothelin-1 [7].

Neprilizin is a neutral endopeptidase that destroys some endogenous vasoactive peptides, including NUP, bradykinin and adrenomedullin vasodilators [8]. Inhibition of neprilizin increases the level of the above substances, which counteracts vasoconstriction, sodium retention and remodeling. The combined inhibition of the renin-angiotensin system and neprilysin is superior in effectiveness to each of the therapeutic strategies separately according to the results of experimental studies. However, this treatment is associated with the development of severe angioedema.

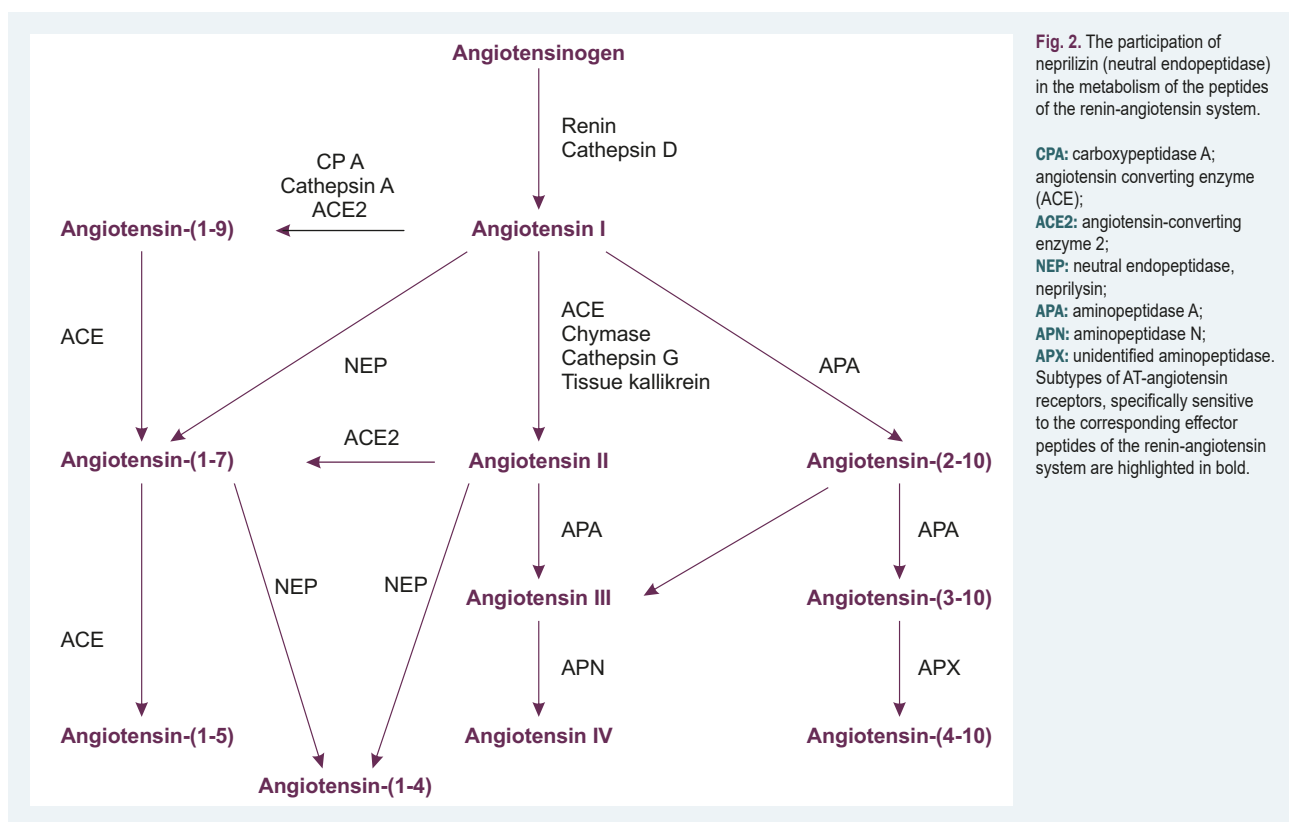
The use of a new drug, LCZ696 (angiotensin receptor neprilysin inhibitor), containing the neprilysin inhibitor sacubitril (AHU377) and the angiotensin II receptor blocker valsartan, according to the results of research, is accompanied by a minimal risk of developing angioedema. The drug – LCZ696 by sight is a white powder, the molecular formula of which is presented below (Fig. 1).

Drug LCZ696 (C₂₄H₂₉N₅O₃.C₂₄H₂₉N₅O₅.5 / 2H₂O. 3Na) (sacubitril / valsartan) is a member of a new class of agents called angiotensin receptor neprilysin inhibitor (ARNI), which combine the neprilysin inhibitor and the angiotensin receptor blocker (ARB).

In the course of some studies that included patients with arterial hypertension (AH) or with LVH/PEF the use of LCZ696 provided a more pronounced effect on hemodynamics, as well as on the activity of neurohumoral systems compared to isolated administration of ARB.

Pharmacological effects arising under the influence of sacubitril are associated with the suppression of the activity of neprilysin (neutral endopeptidase (NEP)), which is involved in the metabolism of natriuretic peptide (NUP) and other vasoactive peptides, including bradykinin, adrenomedullin vasodilators, and angiotensin (Ang) II and endothelin-1 vasoconstrictors [9].

A key role in the action of sacubitril on the cardiovascular system and kidneys is played by the activation of the NUP system, primarily the atrial natriuretic peptide (ANP) and the brain natriuretic peptide (BNP), which are synthesized predominantly by atrial cardiomyocytes and, to a lesser extent, the ventricles and are secreted into the blood in response to increasing tension in the heart wall. Both peptides realize their effects in target cells



through the excitation of guanylate cyclase A-type receptors (GCR-A), which cause an increase in the activity of transmembrane guanylate cyclase (GC), an increase in the intracellular concentration of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and activation of protein kinase G [10]. The formation of the biological effects of sacubitril and other inhibitors of NEP also involves the C-type natriuretic peptide (CNUP), which is produced not only by vascular endothelium cells, but also by cardiomyocytes, cells of the renal tubules and other organs and tissues. ANP is secreted by cardiomyocytes as an active hormone, and BNP as a prohormone (B-type natriuretic peptide (BNP), a key cardiac hormone in cardiorenal homeostasis, is produced as a 108 amino acid prohormone, proBNP-1-108) [11]. CNUP specifically interacts with B-type guanylate cyclase receptors (GCR-B), the excitation of which is ultimately also associated with the activation of the GC / cGMP / protein kinase of the G-signaling pathway [12]. GCR-A and GCR-B mediate all the main effects of NUP in target cells. These are, first of all, the weakening of fibrotic and hypertrophic myocardial damage [13], vasodilation, inhibition of proliferation of smooth muscle cells, antithrombotic and anti-atherosclerotic action in the vessels [13–15], reduction of renin secretion, inhibition of sodium reabsorption in the kidneys and weakening of the sclerosis of the glomeruli, renin and pericanalicular interstitium [16,17]. Increased NO production by endothelial cells, vasodilation, and the antiproliferative effect of all three NUPs also involve C-type receptors that are not associated with GC, but mediate their effects through Gi proteins that inhibit adenylate cyclase activity in target cells, followed by activation of phospholipase C [18,19]. Thus, the cardioprotective properties of NUP

in HF are extremely important. It has been shown that arterial hypertension (AH) is characterized by the deficit of NUP, leading to natriuresis disorder; in chronic heart failure (CHF), an imbalance of NUP system hormones is also observed [20,21]. Therefore, the synthesis of NEP inhibitors is a significant step in the pharmacotherapy of cardiovascular diseases, in particular HF.

Double blockade of neprilysin and AT1 receptors: a new approach to hypertension therapy. Early clinical studies of NEP inhibitors showed that these drugs increase the levels of cGMP and PNP in the blood of patients with essential hypertension and cause a moderate antihypertensive effect, which is most pronounced in the early stages of drug therapy [22]. However, it immediately became apparent that monotherapy with such drugs, despite the activation of NUP, has an adverse effect on the hormonal status of patients, which significantly limits their practical use. First of all, it concerns the activation of circulating and tissue renin-angiotensin-aldosterone systems (RAAS) with increasing blood concentrations of Ang II [22], whose content is largely determined by the activity of NEP, which converts Ang I and Ang II to Ang (1–7), which is a functional antagonist of Ang II (Fig. 2 [23]).

The most well-known drug from the vasopeptidase inhibitors group, omapatrilat, which is not only neprilysin inhibitor, but also an ACE-key enzyme involved in the conversion of Ang I to Ang II, turned out to be more favorable in this respect. However, it turned out that this drug, weakening the effect of the RAAS, causes excessive activation of the effector links of the kallikrein-kinin system due to the simultaneous inhibition of the activity of NEP and ACE (kininase II), which metabolize bradykinin to inactive peptides (Fig. 3).

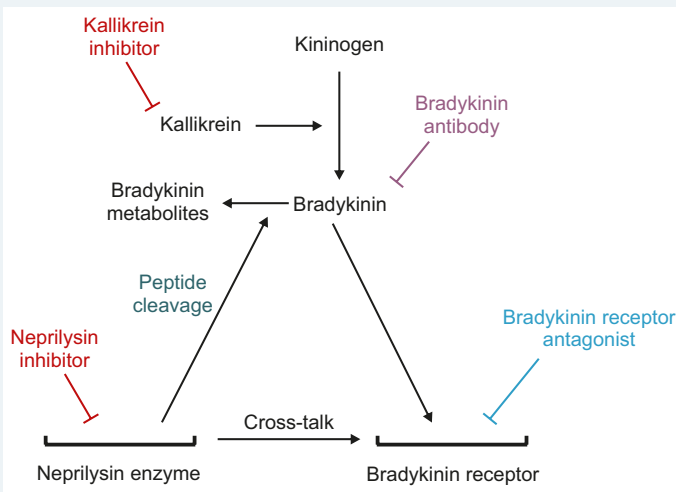


Fig. 3. Participation of neprilizin (neutral endopeptidase) in the metabolism of peptides of the kallikreinkin system.

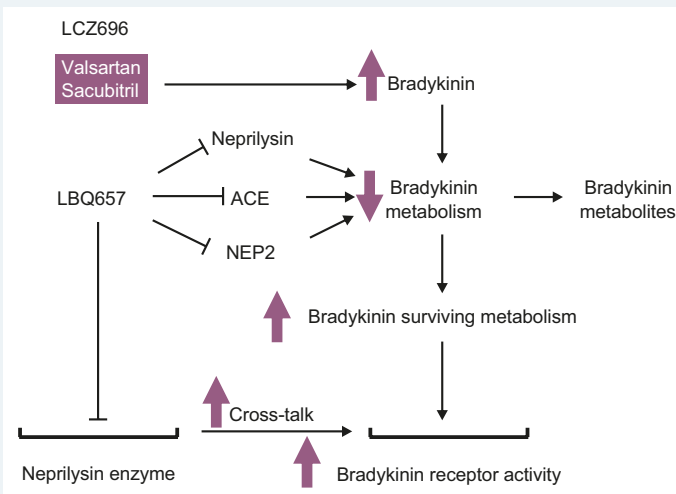


Fig. 4. Potential mechanisms LCZ696 (sacubitril/valsartan). Angiotensin converting enzyme (ACE); metalloendopeptidase-like 1 (NEP2).

As a result, the risk of angioedema and other complications associated with excessive accumulation of bradykinin significantly increases. According to the OCTAVE study (Omapatrilat and enalapril in patients with hypertension: the Omapatrilat Cardiovascular Treatment vs. Enalapril (OCTAVE) trial), which included 25.302 patients with untreated or uncontrolled hypertension, omapatrilat is superior to ACEI enalapril in the effectiveness of antihypertensive therapy, but is critically inferior to this drug in the incidence of angioedema (2.17 % vs. 0.68 %) [24]. The dual inhibitor of neprilisin and the AT1 receptors LCZ696 (sacubitril/valsartan) was created primarily to reduce the risk of angioedema in patients. For this purpose, the drug includes an inhibitor of neprilysin, sacubitril, whose active metabolite, sacubitrilate (LBQ657), does not suppress, in contrast to omapatrilat, aminopeptidase P activity, which participates together with NEP and ACE in the metabolism of bradykinin, and therefore causes a significantly smaller increase in the content of this peptide in tissues [25,26]. LBQ657 can also increase bradykinin

levels by inhibiting the degradation of bradykinin under the action of neprilizin and, possibly, angiotensin-converting enzyme (ACE) and the homolog of the membrane homolog of neprilizin, like metalloendopeptidase 1 (NEP2). In addition, LBQ657 can enhance the actions mediated by the bradykinin receptor by cross-reacting between the LBQ657 inhibitor complex and the bradykinin receptor.

Another component of LCZ696 ARB valsartan effectively weakens the excess effect of RAAS on target cells associated with the suppression of NEP activity, but, unlike omapatrilat, is not an ACEI and therefore does not inhibit the metabolism processes of bradykinin (Fig. 4).

Due to these properties, LCZ696 is not inferior to omapatrilat in its ability to suppress the activity of RAAS, but it has a weaker effect on the metabolism of bradykinin, which reduces the risk of developing angioedema [25,26]. According to PARADIGM-HF study on the comparison of clinical efficacy and safety of using LCZ696 and ACEI of enalapril in 8442 patients with systolic CHF, the detection rate of angioedema for the studied drugs is 0.2 % and 0.1 %, respectively [27].

Efficacy of sacubitril / valsartan in patients with both arterial hypertension and heart failure using the example of large randomized studies. As part of the 2nd phase of clinical trials, a number of clinical studies were performed, which enabled us to obtain initial data on its clinical efficacy and safety of use in hypertensive patients, including persons with impaired renal function.

The combination of sacubitril / valsartan has demonstrated efficacy in patients with both AH and HF. In a large study in patients with AH (n = 1328), the drug in doses of 200–400 mg showed an advantage in the hypotensive effect over valsartan in doses of 160–320 mg as an additional decrease in blood pressure by 5/3 and 6/3 mm Hg [28]. The hypotensive effect of the sacubitril / valsartan combination was accompanied by a more pronounced decrease in pulse BP: by 2.25 and 3.32 mm Hg respectively, in doses of 200 and 400 mg, which is currently regarded as a positive prognostic factor in influencing the rigidity of the vascular wall and cardiovascular outcomes. Tolerability in patients with AH was good, no cases of angioedema were noted.

In the PARAMOUNT study, sacubitril / valsartan was compared with the valsartan group in 685 patients with CHF II – IV functional classes (FC) (NYHA) and preserved EF (45 % or more) [29]. Sacubitril / valsartan was titrated to 200 mg 2 times a day, and valsartan to 160 mg 2 times a day. A new drug provided a significant reduction in the level of prohormone BNP- NT-proBNP (primary endpoint) after 12 weeks. (605 pg/ml versus 835 mg/ml with valsartan, P = 0.005), but not after 36 weeks of therapy (P = 0.20), reduced the volume of the left atrium, FC CHF, was well tolerated by patients.

Another study compared the antihypertensive effect of LCZ696 at doses of 100, 200, 400 mg/day with placebo in 389 patients of Asian origin with grade 1–2 of essential hypertension, which are characterized by increased sensitivity to salt and often reduced RAAS activity. As a result, it was found that LCZ696 in this patient population has a pronounced antihypertensive effect. The difference between the initial systolic blood pressure (SBP) value and its value after 8 weeks of monotherapy in the active

treatment groups compared with the placebo group was for doses of 100 mg/day, 200 mg/day and 400 mg/day, respectively, -11.86, -12.57 and -15.38 mm Hg ($P < 0.0001$). Similar data for diastolic blood pressure (DBP) are, respectively, -7.84, -7.99 and -8.76 mm Hg ($P < 0.0001$). All studied doses of LCZ696 also caused an increasing decrease in the 24-hour ambulatory SBP and DBP. No significant side effects, including angioedema, were noted [30].

Five years ago, at the congress of the European Society of Cardiology, the results of the PARADIGM-HF study (Prospective Comparison of ARNI (Angiotensin Receptor-Nephrilysin Inhibitor Receptor) with ACEI (Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibitor) to Determine Impact on Global Mortality and Morbidity in Heart Failure Trial) were published [27], which have become significant in the treatment of CHF. PARADIGM-HF was an international, multicenter, double-blind, placebo-controlled study with parallel groups (phase III), which studied the efficacy and safety of the sacubitril / valsartan combination in comparison with the popular ACEI enalapril. The study was intended to test the hypothesis that the use of a sacubitril / valsartan combination compared with the use of the ACEI enalapril will more effectively influence the incidence of complications and mortality of patients with CHF.

It should be noted that PARADIGM-HF is the first modern study in the field of HF, which proposed the replacement of one of the main elements of the treatment of such patients, that is, an ACEI. 8436 patients aged 18 years old or older with HF corresponding to II, III or IV FC (NYHA) were included in the PARADIGM-HF study against the background of reduced LVEF (40 % or less) (most patients had grade II–III HF). In addition, to be included in the study, the level of BNP should have been at least 150 pg/ml (or the N-terminal precursor of BNP not less than 600 pg/ml); in the case of hospitalization for worsening of HF within the previous 12 months BNP should have been at least 100 pg/ml (or N-terminal precursor of BNP not less than 400 pg/ml). The study could include patients who took at least during 4 weeks stable dose of beta-blocker and ACEI (or ARB), which was supposed to be equivalent to not less than 10 mg of enalapril. Using the double-blind method of randomization, patients were assigned in a 1 : 1 ratio to the enalapril group (10 mg 2 times a day) or the sacubitril / valsartan combination (200 mg 2 times a day). The primary end point was a combination of death from cardiovascular causes or hospitalization for HF, but the study was designed so that its power was also sufficient to detect differences between the rates of mortality from cardiovascular causes. During the study, data on the development of arterial hypotension, deterioration of renal function, hyperkalemia, cough or angioedema were carefully monitored. The follow-up median was 27 months.

The PARADIGM-HF study was stopped much earlier than the planned date due to the fact that statistically reliable figures were obtained regarding the effect of the investigational drug on the primary endpoints: a decrease in cardiovascular mortality and a combined indicator of "cardiovascular mortality + hospitalization for decompensated HF". At the time of stopping the study, the primary endpoint was recorded in 914 patients (21.8 %) in the sacubitril /

valsartan group and in 1117 patients (26.5 %) in the enalapril group odds ratio (OR) for the LCZ696 group was 0.80; 95 %, confidence interval (CI), 0.73 to 0.87; $P < 0.001$). A total of 711 patients (17.0 %) who received sacubitril / valsartan and 835 patients (19.8 %) from the enalapril group died (OR for all-cause death was 0.84; 95 % CI, 0.76 to 0.93; $P < 0.001$); of these, 558 (13.3 %) and 693 (16.5 %), respectively, persons died of cardiovascular causes (OR 0.80; 95 % CI, 0.71 to 0.89; $P < 0.001$).

Compared with enalapril, the sacubitril / valsartan combination also reduced by 21 % the risk of hospitalization for HF ($P < 0.001$) and reduced the severity of symptoms and physical limitations due to HF ($P = 0.001$).

As for safety, there were more patients with hypotension and non-serious cases of angioedema in the sacubitril / valsartan combination group, but impaired renal function, hyperkalemia and cough were less common than in the group of enalapril. The results were interpreted by researchers as a breakthrough in the field of studying HF. Compared with other tests in connection with HF, patients in PARADIGM-HF received the most optimal therapy for heart failure, with the highest frequency of prescribing beta-blockers (more than 90%) and antagonists of mineralocorticoid receptors (AMP) (60 %). As it can be seen from the results of the study, the drug has undeniable clinical efficacy in patients with HF [27].

According to recent data, the NUP system is involved in metabolic regulation: lipid oxidation, adipocyte formation and differentiation, adiponectin activation, insulin secretion, and carbohydrate tolerance, which can provide protection against the development of the metabolic syndrome [31].

During the first year of observation, HbA1c levels decreased by 0.16 % in the enalapril group and by 0.26 % in the sacubitril / valsartan group (intergroup reduction of 0.13 %, 95 % CI 0.05 – 0.22, $P = 0.0023$). The HbA1c level in the sacubitril / valsartan group was significantly lower than in the enalapril group during the 3-year observation period (intergroup reduction was 0.14 %, 95 % CI 0.06 – 0.23, $P = 0.0055$). The first use of insulin was 29 % less frequent in patients treated with sacubitril/valsartan (114 (7 %) patients) compared with patients treated with enalapril (153 (10 %) (OR 0.71; 95 % CI 0.56 – 0.90; $P = 0.0052$). Similarly in the sacubitril / valsartan group fewer patients started taking oral hypoglycemic drugs (OR 0.77; CI 0.58 – 1.02; $P = 0.073$). Therefore, in the PARADIGM-HF study, patients with DM and HF with reduced EF who received sacubitril/valsartan had a more pronounced long-term decrease in HbA1c compared to patients treated with enalapril. These data suggest that the combination of sacubitril / valsartan may enhance glycemic control in patients with diabetes mellitus (DM) and HF with reduced EF [32].

When ingested, the sacubitril / valsartan complex breaks up into sacubitril, which is then metabolized to form the metabolite LBQ657, and valsartan; the concentrations of these substances in the blood plasma reach a maximum after 0.5 h, 3.0 h and 1.5 h, respectively [33]. The use of the drug does not depend on meal times. The complex of sacubitril and valsartan largely binds with plasma proteins (94–97 %). LBQ657 to a small extent penetrates the blood-brain barrier (BBB) (0.28 %). LBQ657 is not

further metabolized significantly. Valsartan is metabolized to a small extent. After ingestion, 52–68 % of sacubitril (mainly in the form of LBQ657) and about 13 % of valsartan and its metabolites are excreted by the kidneys, 37–48 % of sacubitril (mainly in the form of LBQ657) and 86 % of valsartan and its metabolites are excreted through the intestines. Considering the pharmacokinetic data in patients over 65 years old, dose adjustment is not required. Patients with impaired renal function of mild and moderate degree do not need to adjust the dose. In case of severe disorder of renal function, sacubitril/valsartan is used with caution. In patients with impaired liver function, mild or moderate, including patients with obstruction of the biliary tract, the dose should not be adjusted. For severe disorders of liver function, the drug is not recommended.

Based on the results of the PARADIGM-HF study in 2015, the sacubitril / valsartan combination was approved by the US Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency for the Treatment of Patients Suffering from HFrEF II–IV FC by NYHA, and included in the recommendations of the 2016 European Society of Cardiology as a means of treating patients with CHF [34–36].

These TRANSITION studies were presented at a congress of the European Society of Cardiology in Munich, Germany. These data showed that the drug sacubitril / valsartan has a high safety profile with an early administration to the widest range of patients with heart failure with a reduced LVEF, who were stabilized after an episode of acute decompensated heart failure. Among the patients participating in the study, there were patients who had not previously taken sacubitril / valsartan or other basic CHF therapy, as well as patients with experience in treating with these drugs.

TRANSITION (NCT02661217) is a randomized, multicenter, open, non-cross-sectional phase IV study to evaluate the safety and tolerability of sacubitril/valsartan in 1006 patients with HFrEF in 156 clinics around the world who were stabilized after an acute decompensated heart failure episode with the onset of sacubitril /valsartan therapy in the hospital or immediately after discharge from the hospital. Patients were divided into groups according to the treatment they received before hospitalization: those who received angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) or angiotensin receptor antagonists (ARA), as well as those who did not have experience of treatment with ACEI /ARA. After screening and randomization into sacubitril/valsartan treatment groups, the study implied a 10-week therapeutic period and a follow-up phase of 16 weeks. The primary and secondary endpoints were selected: the number of patients who reached the target dose of sacubitril / valsartan 200 mg 2 times a day at week 10 (regardless of the possible temporary discontinuation of therapy or dose reduction in the past), and the number of patients taking the drug in the dosage 100 mg or 200 mg for at least 2 weeks to the expiration of 10 weeks after randomization, respectively. The study protocol took into account the needs of practicing cardiologists and enabled the researchers to choose the appropriate initial dose of sacubitril / valsartan and adjust it according to clinical circumstances,

taking into account the differences between clinics and medical institutions in different countries [37].

During the TRANSITION study, the safety and tolerability of sacubitril / valsartan was evaluated among patients with HFrEF after an episode of acute decompensated heart failure, followed by stabilization. The patients were randomly divided into two groups – the first received sacubitril / valsartan already in the hospital (before discharge), the second – in a short time after discharge from the hospital. At the time of the expiry of 10 weeks, more than 86 % of patients continuously took sacubitril/valsartan for 2 weeks or longer, and about half of the patients reached the primary endpoint – reaching a therapeutic dose of sacubitril/valsartan 200 mg 2 times a day, which was observed in both groups. The number of patients who reached the primary and secondary endpoints was similar in both groups. The incidence of side effects and discontinuation of taking sacubitril/valsartan due to side effects was also similar between groups among hospitalized and outpatient patients.

However, a number of questions now remain, the answers to which need to be obtained when conducting new clinical trials. The questions are related to the lack of data on the use of the drug in patients initially not receiving therapy with ACEI or ARA II; there is no data on the use of the drug with patients with decompensated HF; with patients with HF and acute myocardial infarction; with patients with LVHFpEF.

We hope that these issues will be resolved in already conducted HFNLIFE (Entresto TM In Advanced Heart Failure), PARADISE-MI (Prospective ARNI vs ACE Inhibitor Trial for Determine Superiority in Mitigation), PARAGON-HF clinical studies and, possibly, will open new capabilities of sacubitril / valsartan complex in HF pharmacotherapy [37].

Conclusions

1. The conducted clinical studies, and in particular PARADIGM-HF, TRANSITION demonstrated the superiority of the new combination compared with enalapril. It was found that the combination of sacubitril / valsartan more effectively than enalapril reduces the risk of total cardiovascular death and hospitalization in patients with CHF and reduced LVEF, which meets fairly strict inclusion and exclusion criteria. The main positive effects of sacubitril and valsartan in patients with CHF are associated with an increase in the amount of the natriuretic peptide and the simultaneous suppression by valsartan of the negative effects of angiotensin II. The result of this action is vasodilatation, an increase in natriuresis and diuresis, a decrease in the secretion of renin and aldosterone, the suppression of sympathetic activity, and the slowing of myocardial remodeling.

2. The indication for the use of the sakubitril / valsartan complex is CHF (II–IV FC according to the NYHA classification) in patients with systolic dysfunction in order to reduce the risk of cardiovascular mortality and hospitalization for HF.

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

Надійшла до редакції / Received: 31.05.2019

Після доопрацювання / Revised: 06.08.2019

Прийнято до друку / Accepted: 13.08.2019

Information about authors:

Ashcheulova T. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics to Internal Medicine, Basis of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-8860-652x

Kompaniets K. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propedeutics of Internal Medicine 1, Basis of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-7653-9596

Herasimchuk N. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Propedeutics to Internal Medicine 1, Basis of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3172-6491

Відомості про авторів:

Ащеулова Т. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Компанієць К. М., д-р мед. наук, професор, каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Герасимчук Н. М., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Ащеулова Т. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Компаниец К. Н., д-р мед. наук, профессор, каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Герасимчук Н. Н., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

References

- Yancy, C. W., Jessup, M., Bozkurt, B., Butler, J., Casey, D. E., Colvin, M. M., . . . Westlake, C. (2016). 2016 ACC/AHA/HFSA focused update on new pharmacological therapy for heart failure: An update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: A report of the American College of Cardiology/American heart association Task Force on Clinical practice guidelines and the heart failure society of America. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(13), 1476-1488. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.05.011>
- Molchanov, D. (2016). VI nauchno-prakticheskaya konferentsiya Ukrainykoj Assotsiatsii spetsialistov po serdечноj nedostatochnosti: obzor materialov [VI scientific-practical conference of the Ukrainian Association of Specialists in Heart Failure: a review of materials]. *Sertseva nedostatnist*, 2, 60-71. [in Russian].
- Reynolds, K., Butler, M. G., Kimes, T. M., Rosales, A. G., Chan, W., & Nichols, G. A. (2015). Relation of Acute Heart Failure Hospital Length of Stay to Subsequent Readmission and All-Cause Mortality. *American Journal of Cardiology*, 116(3), 400-405. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2015.04.052>
- Gordin, J. S., & Fonarow, G. C. (2016). New medications for heart failure. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 26(6), 485-492. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.02.008>
- Voronkov, L. H. (2012). Patsient iz HSN v Ukraini : analiz danykh populatsij patsientiv, obstezhenykh u ramkakh pershoj natsionalnoho rizyovoho doslidzhennia UNIVERS [A patient with CHF in Ukraine: an analysis of the data of the population of patients surveyed in the framework of the first national study UNIVERS]. *Sertseva nedostatnist*, 2, 6-13. [in Ukrainian].
- Ambrosy, A. P., Fonarow, G. C., Butler, J., Chioncel, O., Greene, S. J., Vaduganathan, M., . . . Gheorghiade, M. (2014). The Global Health and Economic Burden of Hospitalizations for Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 63(12), 1123-1133. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.11.053>
- Kentsch, M., & Otter, W. (1999). Novel neurohormonal modulators in cardiovascular disorders. The therapeutic potential of endopeptidase inhibitors. *Drugs in R&D*. <https://doi.org/10.2165/00126839-199901040-00011>
- Dalzell, J. R., Seed, A., Berry, C., Whelan, C. J., Petrie, M. C., Padmanabhan, N., . . . McMurray J. V. (2014). Effects of Neutral Endopeptidase (Nepriylsin) Inhibition on the Response to Other Vasoactive Peptides in Small Human Resistance Arteries: Studies with Thiorphan and Omapatrilat. *Cardiovascular Therapeutics*, 32(1), 13-18. <https://doi.org/10.1111/1755-5922.12053>
- Wong P. C. Y., Guo J. & Zhang A. (2017). The renal and cardiovascular effects of natriuretic peptides. *Advances in Physiology Education*, 41(2), 179-185. <https://doi.org/10.1152/advan.00177.2016>
- Kerkela, R., Ulvila, J., & Magga, J. (2015). Natriuretic Peptides in the Regulation of Cardiovascular Physiology and Metabolic Events. *Journal of the American Heart Association*, 4(10). <https://doi.org/10.1161/jaha.115.002423>
- Tonne, J. M., Campbell, J. M., Cataliotti, A., Ohmine, S., Thatata, T., Sakuma, T., . . . Ikeda, Y. (2011). Secretion of Glycosylated Pro-B-Type Natriuretic Peptide from Normal Cardiomyocytes. *Clinical Chemistry*, 57(6), 864-873. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.157438>
- Kuhn, M. (2016). Molecular physiology of membrane guanylyl cyclase receptors. *Physiological Reviews*, 96(2), 751-804. <https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2015>
- Santhekadur, P. K., Kumar, D. P., Seneshaw, M., Mirshahi, F., & Sanyal, A. J. (2017). The multifaceted role of natriuretic peptides in metabolic syndrome. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 826-835. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.136>
- Moyes, A. J., Khambata, R. S., Villar, I., Bubba, K. J., Baliga, R. S., Lumsden, N. G., . . . Hobbs, A. J. (2014). Endothelial C-type natriuretic peptide maintains vascular homeostasis. *Journal of Clinical Investigation*, 124(9), 4039-4051. <https://doi.org/10.1172/jci74281>
- Ichiki, T., & Burnett, J. C. (2017). Atrial Natriuretic Peptide – Old But New Therapeutic in Cardiovascular Diseases. *Circulation Journal*, 81(7), 913-919. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-17-0499>
- Theilig, F., & Wu, Q. Y. (2015). ANP-induced signaling cascade and its implications in renal pathophysiology. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 308(10), F1047-F1055. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00164.2014>
- Yoshihara, F., Tokudome, T., Kishimoto, I., Otani, K., Kuwabara, A., Horio, T., . . . Kangawa, K. (2015). Aggravated renal tubular damage and interstitial fibrosis in mice lacking guanylyl cyclase-A (GC-A), a receptor for atrial and B-type natriuretic peptides. *Clinical and Experimental Nephrology*, 19(2), 197-207. <https://doi.org/10.1007/s10157-014-0982-1>
- Buttgereit, J., Shanks, J., Li, D., Hao, G., Athwal, A., Langenickel, T. H., . . . Herring, N. (2016). C-type natriuretic peptide and natriuretic peptide receptor B signalling inhibits cardiac sympathetic neurotransmission and autonomic function. *Cardiovascular Research*, 112(3), 637-644. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvw184>
- Volpe, M., Rubattu, S., & Burnett, J. (2014). Natriuretic peptides in cardiovascular diseases: current use and perspectives. *European Heart Journal*, 35(7), 419-+. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh466>
- Holditch, S. J., Schreiber, C. A., Nini, R., Tonne, J. M., Peng, K. W., Geurts, A., . . . Ikeda, Y. (2015). B-Type Natriuretic Peptide Deletion Leads to Progressive Hypertension, Associated Organ Damage, and Reduced Survival Novel Model for Human Hypertension. *Hypertension*, 66(1), 199-210. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.115.05610>
- Jaffe, A. S., Apple, F. S., Mebazaa, A., & Vodovar, N. (2015). Unraveling N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide: Another Piece to a Very Complex Puzzle in Heart Failure Patients. *Clinical Chemistry*, 61(8), 1016-1018. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.243626>
- Richards, A. M., Wittter, G. A., Crozier, I. G., Espiner, E. A., Yandle, T. G., Ikram, H., & Frampton, C. (1993). Chronic inhibition of endopeptidase 24.11 in essential-hypertension – evidence for enhanced atrial-natriuretic-peptide and angiotensin-II. *Journal of Hypertension*, 11(4), 407-416. <https://doi.org/10.1097/00004872-199304000-00011>
- Kuzmin, O. B., Zhezha, V. V., Belyanin, V. V., Landar, L. N. (2016). Glomerulyarnaya gipertenziya: molekulyarnye mekhanizmy povrezhdeniya podotsitov i mezangial'nykh kletok : (obzor) [Glomerular hypertension: molecular mechanisms of podocyte and mesangial cells damage]. *Nefrologiya*, 20(4), 39-45. [in Russian].
- Kostis, O. B., Packer, M., Black, H. R., Schmieder, R., Henry, D., & Levy, E. (2004). Omapatrilat and enalapril in patients with hypertension: The omapatrilat cardiovascular treatment vs. enalapril (OCTAVE) trial. *American Journal of Hypertension*, 17(2), 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2003.09.014>
- Gu, J., Noe, A., Chandra, P., Al-Fayoumi, S., Ligueros-Saylan, M., Sarangapani, R., . . . Dole, W. P. (2010). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of LCZ696, a Novel Dual-Acting Angiotensin Receptor

- tor-Nepriylisin Inhibitor (ARNi). *Journal of Clinical Pharmacology*, 50(4), 401-414. <https://doi.org/10.1177/0091270009343932>
- [26] Kusaka, H., Sueta, D., Koibuchi, N., Hasegawa, Y., Nakagawa, T., Lin, B. W., . . . Kim-Mitsuyama, S. (2015). LCZ696, Angiotensin II Receptor-Nepriylisin Inhibitor, Ameliorates High-Salt-Induced Hypertension and Cardiovascular Injury More Than Valsartan Alone. *American Journal of Hypertension*, 28(12), 1409-1417. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpv015>
- [27] McMurray, J. J. V., Packer, M., Desai, A. S., Gong, J. J., Lefkowitz, M. P., Rizkala, A. R., . . . Comm, P. -H. I. (2014). Angiotensin-Nepriylisin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure. *New England Journal of Medicine*, 371(11), 993-1004. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409077>
- [28] Ruilope, L. M., Dukat, A., Bohm, M., Lacourciere, Y., Gong, J. J., & Lefkowitz, M. P. (2010). Blood-pressure reduction with LCZ696, a novel dual-acting inhibitor of the angiotensin II receptor and nepriylisin: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active comparator study. *Lancet*, 375(9722), 1255-1266. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61966-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61966-8)
- [29] Solomon, S. D., Zile, M., Pieske, B., Voors, A. A., Shah, A., Kraigher-Krainer, E., . . . Prospective Comparison, A. A.R.B.M. (2012). The angiotensin receptor nepriylisin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 380(9851), 1387-1395. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61227-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61227-6)
- [30] Kario, K., Sun, N. L., Chiang, F. T., Supasyndh, O., Baek, S. H., Inubushi-Molessa, A., . . . Zhang, J. (2014). Efficacy and Safety of LCZ696, a First-in-Class Angiotensin Receptor Nepriylisin Inhibitor, in Asian Patients With Hypertension. *Hypertension*, 63(4), 698-705. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.113.02002>
- [31] Volpe, M., Rubattu, S., & Battistoni, A. (2019). ARNi: A Novel Approach to Counteract Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9). <https://doi.org/10.3390/ijms20092092>
- [32] Seferovic, J. P., Claggett, B., Seidelmann, S. B., Seely, E. W., Packer, M., Zile, M. R., . . . Solomon, S. D. (2017). Effect of sacubitril/valsartan versus enalapril on glycaemic control in patients with heart failure and diabetes: a post-hoc analysis from the PARADIGM-HF trial. *Lancet Diabetes & Endocrinology*, 5(5), 333-340. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(17\)30087-6](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(17)30087-6)
- [33] Menendez, J. T. (2016). The Mechanism of Action of LCZ696. *Cardiac Failure Review*, 2(1), 40-46. <https://doi.org/10.15420/cfr.2016:1:1>
- [34] Ponikowski, P., Voors, A. A., Anker, S. D., Bueno, H., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., . . . Guazzi, M. (2016). 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Journal of Heart Failure*, 18(8), 891-975. <https://doi.org/10.1002/ehfj.592>
- [35] New medicine to treat heart failure recommended for approval. (2015, September). Retrieved from <https://www.ema.europa.eu/en/news/new-medicine-treat-heart-failure-recommended-approval>
- [36] Jhund, P. S., & McMurray, J. J. V. (2016). The nepriylisin pathway in heart failure: a review and guide on the use of sacubitril/valsartan. *Heart*, 102(17), 1342-1347. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306775>
- [37] Wachter, R., Senni, M., Belohlavek, J., Butylin, D., Noe, A., Pascual-Figal, D., & Investigators, T. S. (2018). Initiation of sacubitril/valsartan in hospitalized patients with heart failure with reduced ejection fraction after hemodynamic stabilization: primary results of the TRANSITION study. *European Heart Journal*, 39, 167-167. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy564.p886>

Особливості правової охорони медичних винаходів: сучасність і перспективи

В. І. Теремецький^{*1,A,D,F}, А. В. Матвійчук^{2,A,B,E}, О. М. Муzychuk^{3,C,D,E},
М. Г. Щербаковський^{3,A,B,C}, О. В. Одерій^{4,B,C,E}

¹Тернопільський національний економічний університет, Україна, ²Міжнародний економіко-гуманітарний університет імені академіка С. Дем'ячука, м. Рівне, Україна, ³Харківський національний університет внутрішніх справ, Україна, ⁴Донецький юридичний інститут МВС України, м. Кривий Ріг

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

Сучасна юридична доктрина інтелектуальної власності майже не досліджує умови правової охорони винаходів у медичній практиці.

Мета роботи – з'ясувати особливості правової охорони медичних винаходів, перспектив її вдосконалення.

Матеріали та методи. Дослідження особливостей правової охорони винаходів у медичній практиці базується на системному підході, зокрема критичному аналізі стану сучасного патентного законодавства України та перспектив його вдосконалення за допомогою імплементації європейського законодавства у сфері медичних винаходів. Завдяки порівняльно-правовому методу здійснили аналіз Спеціалізованої бази даних Укрпатенту «Винаходи (корисні моделі) в Україні» щодо виявлення патентів на медичні винаходи.

Результати. Винаходи в медичній практиці мають особливість, що проявляється в їхній промисловій придатності (сфера застосування – медицина) та можливості добросовісного застосування тільки після перевірки, зокрема медико-біологічних або клінічних досліджень (випробувань) за участю людини. Види винаходів у медичній практиці: способи лікування людини; пристрої для лікування та діагностики людини; лікарські засоби; штами мікроорганізмів, що застосовуються для діагностики захворювання або лікування людини; біотехнологічні винаходи.

Висновки. Особливість медичних винаходів полягає в тому, що вони мають власний видовий поділ, який зумовлений сферою застосування (спосіб лікування, діагностики тощо); повинні здійснюватися медико-біологічні або клінічні дослідження (випробування); відповідати етичним вимогам. Встановили, що потребують закріплення в Законі України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» етичні вимоги щодо біотехнологічних винаходів; співвідношення балансу інтересів, прав пацієнтів і патентовласників; підстави та умови надання примусової ліцензії щодо медичних винаходів; імплементація Директиви 98/44/ЄС Європейського парламенту та Ради від 06.07.1998 р. про правову охорону біотехнологічних винаходів.

Ключові слова:

винахід, біотехнологічні винаходи, спосіб лікування, патентоволоділець, лікування, етика, патент.

Патологія. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 417–423

DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188972

*E-mail: vladvokat333@ukr.net

Особенности правовой охраны медицинских изобретений: современность и перспективы

В. И. Теремецкий, А. В. Матвийчук, А. Н. Муzychuk, М. Г. Щербаковский, А. В. Одерий

Современная юридическая доктрина интеллектуальной собственности практически не исследует условия правовой охраны изобретений в медицинской практике.

Цель работы – установить особенности правовой охраны медицинских изобретений, перспектив ее совершенствования.

Материалы и методы. Исследование особенностей правовой охраны изобретений в медицинской практике базируется на системном подходе, в частности критическом анализе состояния современного патентного законодательства Украины и перспектив его совершенствования с помощью имплементации европейского законодательства в сфере медицинских изобретений. Благодаря сравнительно-правовому методу осуществлен анализ Специализированной базы данных Укрпатента «Изобретения (полезные модели) в Украине» по определению патентов на медицинские изобретения.

Результаты. Изобретения в медицинской практике имеют особенность, которая проявляется в их промышленной применимости (сфера применения – медицина) и возможности добросовестного применения только после проверки, в частности медико-биологических или клинических исследований (испытаний) с участием человека. Виды изобретений в медицинской практике: способы лечения человека; устройства для лечения и диагностики человека; штаммы микроорганизмов, применяемые для диагностики заболевания или лечения человека; биотехнологические изобретения и т. д.

Выводы. Особенность медицинских изобретений заключается в том, что они имеют собственное видовое деление, обусловленное сферой применения изобретения (способ лечения, диагностики и т. д.); должны проходить медико-биологические или клинические исследования (испытания); соответствовать этическим требованиям. Установлено, что требуют своего закрепления в Законе Украины «Об охране прав на изобретения и полезные модели» этические требо-

Ключевые слова:

изобретение, биотехнологические изобретения, способ лечения, патентовладелец, лечение, этика, патент.

Патология. – 2019. – Т. 16, № 3(47). – С. 417–423

вания по биотехнологическим изобретениям; соотношение баланса интересов, прав пациентов и патентообладателей; основания и условия предоставления принудительной лицензии на медицинские изобретения; имплементация Директивы 98/44/ЕС Европейского Парламента и Совета от 06.07.1998 г. о правовой охране биотехнологических изобретений.

Key words:

Invention, biotechnological inventions, method of treatment, patent holder, treatment, ethics.

Pathologia

2019; 16 (3), 417–423

Features of legal protection of medical inventions: present and future

V. I. Teremetskiy, A. V. Matviichuk, O. M. Muzychuk, M. H. Shcherbakovskiy, O. V. Oderii

The modern legal doctrine of intellectual property practically does not investigate the terms of legal protection of inventions in medical practice.

Aim. Therefore, the purpose of the article is to clarify the features of the legal protection of medical inventions, the prospects for its improvement.

Materials and methods. The study of the peculiarities of the legal protection of inventions in medical practice is based on a systematic approach, in particular, a critical analysis of the state of modern patent law in Ukraine and the prospects for its improvement through the implementation of European legislation in the field of medical inventions. Through comparative legal method the analysis of the Specialized Database of Ukrpatent "Inventions (Utility Models) in Ukraine" concerning the identification of patents for medical discoveries has been carried out.

Results. Inventions within medical practice have a specific feature that is manifested in their industrial suitability (sphere of application – medicine) and possibility of fair use only after examination, in particular, medical and biological or clinical trials (experiments) involving human being. Types of inventions in medical practice are: methods of human treatment, devices for the treatment and diagnosis of a person, medicines, strains of microorganisms used to diagnose a person's disease or for treatment, biotechnological inventions.

Conclusions. The peculiarity of medical inventions is as follows: they have their own distinctive division due to the scope of invention's application (the method of treatment, diagnosis, etc.); must undergo medical and biological or clinical trials (experiments); they must meet ethical requirements. It is established that it requires legislative consolidation at the level of the Law of Ukraine "On Protection of Rights to Inventions and Utility Models": Ethical Requirements Regarding Biotechnological Inventions; balance of interests, rights of patients and patent holders; the grounds and conditions for granting a compulsory license for medical inventions; the implementation of Directive 98/44/EC of the European Parliament and Council of 07/06/1998 on the legal protection of biotechnological inventions.

Нові технології, що застосовуються в медичній практиці, безпосередньо мають вплив на охорону здоров'я та життя людини, яке відповідно до ст. 3 Конституції України є найвищою соціальною цінністю в державі [1]. Патентоспроможні відкриття можуть бути зроблені під час звичайної медичної практики. Йдеться про розроблення нових біосумісних полімерів, удосконалення стоматологічних матеріалів, нових або модифікованих катетерів, нових лабораторних діагностичних тестів і вдосконалені медичні пристрої [2]. З оглядів фахової літератури, що опублікували Т. Дюке, W. P. Anderson, відомо про успіхи австралійських учених у сфері медичних досліджень у XXI столітті [3]. У іноземній науковій літературі також є публікації, в яких обговорюють різні типи медичних інновацій, що впроваджуються для забезпечення адекватного медичного обслуговування пацієнтів за умов обмежених економічних ресурсів. Аналіз наведених у цих публікаціях прикладів вказує на близькість цієї проблематики для України [4]. Втім сучасна юридична доктрина інтелектуальної власності майже не досліджує умови правової охорони винаходів у медичній практиці. Такий підхід не дає можливості виявити та характеризувати особливості медичних винаходів, умови надання їм правової охорони, зокрема враховуючи співвідношення інтересів патентовласника й пацієнтів, етики медичного винахідництва. Зауважимо, що автори статті розглядають тільки правову охорону медичних винаходів без розгляду корисної моделі, оскільки це різні об'єкти патентного права.

Про необхідність окремого дослідження інтелектуальної власності у сфері охорони здоров'я вказує

О. П. Орлюк, яка зазначає, що недосконалість національної патентної системи захисту прав на винаходи, об'єктом яких є лікарські засоби, створює суттєві перешкоди реформуванню сфери охорони здоров'я. Наприклад, на закупівлю життєво необхідного комбінованого ЛЗ лопінавір/ритонавір Україна витрачає понад 50 % усіх коштів, що виділяються на закупівлю антиретровірусних препаратів для лікування хворих на ВІЛ/СНІД. Названий препарат захищений в Україні двома вторинними патентами (на похідну речовину та метод лікування), що стало можливим через недоліки національної патентної системи та створило штучну монополію в Україні до 2026 р. [5].

Особливість використання винаходів у медичній практиці визначено Порядком надання Кабінетом Міністрів України дозволу на використання запатентованого винаходу (корисної моделі), що стосується лікарського засобу, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 4 грудня 2013 р. № 877 [6], наказом МОЗ від 28.09.2012 р. № 759,165/1 «Про утворення робочої групи з питань інтелектуальної власності та доступу до лікарських засобів» [7]. У цих нормативних актах встановлено тільки баланс інтересів пацієнта та патентоволодільця, а отже уряд не визначає стратегію правової охорони винаходів у медичній практиці. Для подолання цього законодавство України повинно оновитися. У зв'язку з цим у пояснювальній записці до проекту Закону України «Про внесення змін до деяких законодавчих актів України щодо вдосконалення правової охорони винаходів і корисних моделей» встановлено, що передбачається

імплементация в національне законодавство положень Директиви 98/44/ЄС Європейського парламенту та Ради від 06.07.1998 р. про правову охорону біотехнологічних винаходів (далі – Директива 98/44/ЄС), Регламенту (ЄС) № 469/2009 Європейського парламенту та Ради від 06.05.2009 про сертифікати додаткової охорони для медичних продуктів і Регламенту (ЄС) № 1901/2006 Європейського парламенту та Ради від 12.12.2006 про медичні продукти для педіатричного використання [8]. Тому тема правової охорони винаходів у медичній практиці – актуальна для наукових досліджень.

Мета роботи

З'ясувати особливості правової охорони медичних винаходів, перспектив її вдосконалення.

Матеріалами дослідження особливостей правової охорони винаходів у медичній практиці є національне та європейське законодавство. Дослідження особливостей правової охорони винаходів у медичній практиці базується на системному підході, зокрема критичному аналізу стану сучасного патентного законодавства України та перспектив його вдосконалення за допомогою імплементції європейського законодавства у сфері медичних винаходів. Порівняльно-правовий метод дав можливість встановити відмінність патентно-правової охорони національного та європейського законодавств. Проаналізували й використали інформацію зі Спеціалізованої бази даних Укрпатенту «Винаходи (корисні моделі) в Україні» щодо виявлення патентів на медичні винаходи.

Правове регулювання охорони винаходів в Україні поділяється на нормативне (законодавство визначається за країною реєстрації компанії або місцем її діяльності як резидента на момент створення об'єкта) та індивідуальне (акти локального регулювання компанії, зокрема статут (як виняток), положення про винахідництво, положення про службові об'єкти інтелектуальної власності, завдання на створення об'єкта тощо).

Винахід – це результат інтелектуальної діяльності людини в будь-якій сфері технології, зокрема в медицині, що має новизну, винахідницький рівень і промислову придатність. Ідеї як винахід не захищаються. Проблематиці захисту ідей приділяють увагу у своїх працях американські дослідники. Науковці, які поділяють такий підхід, підкреслюють: світ рухається від економіки, що заснована на промисловості, на підставі інформації, а тому захист ідей стає все важливішим, оскільки ідеї, захоплені та передані як інформація, можуть бути переведені з одного місця в інше набагато легше і швидше, ніж фізичні об'єкти [9]. Щодо цього відзначимо, що ідея не може бути об'єктом винаходу, оскільки правова охорона винаходу виникає з моменту отримання патенту. Хоча ідеї і потребують окремого захисту, але не в межах патентного права.

Об'єктом винаходу може бути:

1) пристрій, тобто система розташованих у просторі елементів, котрі певним чином взаємодіють (наприклад, пристрій для лікування конкретного захворювання);

2) спосіб як сукупність прийомів виконання в певній послідовності або з дотриманням певних правил, що спрямовані на лікування конкретного захворювання (для способу властиві дія або сукупність дій, порядок виконання таких дій, умови виконання дій);

3) речовина, що є штучно створеним матеріальним утворенням, є сукупністю взаємозалежних елементів (наприклад, лікарські засоби, об'єкти генної інженерії тощо);

4) штам мікроорганізмів, культури клітин рослин і тварин; ідеться про сукупність клітин, які мають спільне походження і характеризуються однаковими, стійкими ознаками (наприклад, бактерії, віруси, мікроскопічні гриби, консорціями мікроорганізмів тощо);

5) застосування відомих раніше пристроїв, способів, речовин, штамів за новим призначенням; виникає, якщо відомий технічний засіб пропонується використовувати з іншою метою для вирішення завдання.

Найбільш поширеними винаходами в медицині є способи лікування, пристрої для лікування, способи медичної діагностики та прогнозування захворювань людини, штами мікроорганізмів вірусів, грибів тощо. Наприклад, якщо звернутися до Спеціалізованої бази даних «Винаходи (корисні моделі) в Україні» (заданий пошук: «лікування»), то найпоширенішим винаходом буде спосіб лікування. Одним із прикладів такого запатентованого винаходу є патент «Спосіб лікування туберкульозу легень» (патент № 1808), що належить Українському науково-дослідному інституті фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського [10]. Відповідно до наказу МОЗ від 28.09.2012 р. № 759,165/1 «Про утворення робочої групи з питань інтелектуальної власності та доступу до лікарських засобів» [7], поширеними винаходами в медичній практиці також є лікарські засоби. У Директиві 98/44/ЄС визначено характеристику біотехнологічних винаходів [11]. Отже, видами винаходів у медичній практиці є способи лікування людини, пристрої для лікування та діагностики людини; лікарські засоби; штами мікроорганізмів, що застосовуються для діагностики захворювання або лікування людини; біотехнологічні винаходи. Після патентування ці винаходи повинні пройти клінічні випробування для підтвердження досягнення користі для пацієнта [12]. Патентування винаходів і клінічні випробування – це незалежні процедури. Перша спрямована на отримання патенту, а друга – для підтвердження позитивного результату від застосування медичного винаходу. Можна простежити зв'язок між ними: без медико-біологічних або клінічних досліджень (випробувань) не можна встановити ефективність і безпечність окремих винаходів, а отже без них неможливе використання винаходу. Згідно зі ст. 29 Закону України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» власник патенту повинен сплачувати відповідні збори за підтримання чинності патенту і добросовісно користуватися виключним правом, що випливає з патенту [18]. Тобто добросовісне користування патентом на медичний винахід можливе тільки в разі, якщо від нього є позитивний результат для пацієнта, а довести це можна лише через медико-біологічні або клінічні дослідження

(випробування), що є одним з елементів гарантії безпеки нового винаходу.

Винаходи в медичній практиці відрізняються від інших винаходів сферою промислового застосування. Як відомо, винахід повинен бути новим, мати винахідницький рівень, промислово придатність. Відмінність між різними винаходами полягає в різних завданнях, що розв'язуються за допомогою винаходу, та промисловою придатністю. Остання визначається як застосування винаходу в будь-якій сфері господарства. Медичні винаходи мають спеціальну сферу застосування – це медична практика. Застосування в медичній практиці винаходу має прямий зв'язок із правами людини, зокрема правом пацієнта на життя, охорону здоров'я. Тому медичні винаходи мають особливість, яка полягає в тому, що вони мають власний видовий поділ, зумовлений сферою застосування винаходу (спосіб лікування, діагностики тощо); повинні відбуватися медико-біологічні або клінічні дослідження (випробування) в медичних закладах, медичних центрах і санаторно-курортних закладах України для застосування надалі в медичній практиці; повинні відповідати етичним вимогам.

Запропоновано винаходи в медичній практиці поділяти на дві групи: медичні та фармацевтичні.

Винаходи, як правило, захищені патентним правом, але не всі з них отримують патентну охорону. Є групи винаходів, котрі не можуть бути юридично захищеними [13]. Для медичних винаходів це є окремою проблемою. Наприклад, у більшості країн винаходи, що суперечать принципам гуманності та моралі, не патентуються, як і можуть не отримати патентно-правову охорону окремі біотехнологічні винаходи. Останнє положення закріплено в абз. 5-bis п. 4 ст. 45 Кодексу промислової власності Італії [14]. Проблемність питання патентування винаходів, які суперечать принципам гуманності та моралі, полягає в тому, що ці винаходи відповідають критеріям патентоздатності (новизна, винахідницький рівень, промислово придатність), але автор цього винаходу не отримує охорону своїх прав; відсутність патенту не забороняє використання такого винаходу; встановлення такого обмеження зачіпає принцип свободи творчості та наукової діяльності. Справедливе розв'язання цієї проблеми пропонує О. О. Салицька, яка вказує на доцільність розмежування понять «відкриття» та «винахід» [15].

Щодо біотехнологічних винаходів, то їхня характеристика надана в Директиві 98/44/ЄС, відповідно до ст. 3 якої нові винаходи повинні бути патентоспроможними навіть у тому випадку, якщо вони стосуються продукту, що складається з біологічного матеріалу або містить його, або процес, за допомогою якого виробляється біологічний матеріал, оброблені або використані. Біологічний матеріал, що виділяється з природного середовища або виробляється за допомогою технічного процесу, може бути предметом винаходу, навіть якщо він раніше мав місце у природі. У ч. 2 ст. 5 Директиви 98/44/ЄС вказано: елемент, що виділений з організму людини або іншим способом, отриманим за допомогою технічного процесу, включаючи послідовність або часткову послідовність гена, може являти собою патентоспроможний винахід,

навіть якщо структура цього елемента ідентична структурі природного елемента. Згідно зі ст. 6 Директиви 98/44/ЄС, не можуть бути визнані патентоспроможними процеси клонування людей; процеси модифікації генетичної ідентичності зародків людини; використання людських ембріонів у промислових або комерційних цілях; процеси модифікації генетичної ідентичності тварин, які, ймовірно, можуть спричинити їхнє страждання без будь-якої суттєвої медичної користі для людини чи тварини, а також тварин, отриманих у результаті таких процесів [7]. При цьому для одержання патенту на такий винахід необхідно надати біологічний матеріал для депонування (правила 3121, 33, 34 Європейської патентної конвенції) [11]. Аналізуючи норми Директиви 98/44/ЄС, слід підкреслити, що українське законодавство не містить особливостей щодо патентування біотехнологічних винаходів, що цілком не відповідає європейській практиці охорони. Незважаючи на це, вважаємо, що сучасні винахідники біотехнологічних винаходів повинні враховувати норми Директиви 98/44/ЄС, оскільки ця Директива є базовим актом в європейському законодавстві біотехнологій і спрямована на захист людської неповторності. Варто констатувати і те, що поки імплементація Директиви 98/44/ЄС не введена в дію. Відзначимо, що Директива 98/44/ЄС не тільки забезпечує ефективний і відповідний захист біотехнологічних винаходів, але й визначає етичні межі патентоспроможності винаходу в медичній практиці. Етичність винаходів у медичній практиці визначено й у ст. 53 Європейської патентної конвенції, зокрема п. с): європейські патенти не видаються на способи лікування людей або тварин за допомогою хірургії або терапії та методи діагностики, що застосовуються для людей або тварин [16].

Проблема етики винаходів у медичній практиці є окремим напрямом досліджень медичного права та медичної деонтології, зокрема це питання постає щодо репродуктивного клонування, репродуктивних технологій. Так, передача ембріональних стовбурових клітин є наслідком етичних проблем, зокрема щодо особистості, людської гідності та справедливості до людства, які виникають під час вирощування ембріона, тобто життя в його первісній формі. Це суперечлива національна й міжнародна проблема. Тому багато впливових організацій поставили обмеження на те, що може бути зроблено з ембріонами та щодо передачі ембріональних клітин [17]. Отже, винаходи в медичній практиці повинні відповідати етичним правилам, що визначаються окремо законодавством кожної країни.

Згідно з ч. 1 ст. 6 Закону України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» правова охорона надається винаходу, що не суперечить публічному порядку, принципам гуманності та моралі й відповідає умовам патентоздатності [18]. Наведені умови правової охорони цілком поширюються на медичні винаходи: винахід не повинен суперечити публічному порядку, принципам гуманності й моралі та має відповідати умовам патентоздатності.

Перша умова визначається як несуперечність винаходу суспільної моралі, що є системою етичних норм, правил поведінки, які склалися в суспільстві на основі традиційних духовних і культурних цінностей,

уявлень про добро, честь, гідність, громадський обов'язок, совість, справедливість (абз. 11 ч. 1 ст. 1 Закону України «Про захист суспільної моралі») [19]. Проаналізувавши наведені нормативні акти, можна зробити висновок: гуманність і мораль як умова охорони медичних винаходів у законодавстві України не знайшли свого належного закріплення. Наслідком такого підходу є невизначеність співвідношення балансу інтересів, прав пацієнтів і патентовласників, невстановлення обмежування щодо патентування біотехнологічних винаходів. Фактично результатом цього стало отримання з 2010 р. до 2015 р. дев'яти патентів на винаходи щодо способів лікування, запобігання ВІЛ/СНІД [22]. У зв'язку з цим у 2012 р. МОЗ створено робочу групу з питань інтелектуальної власності та доступу до лікарських засобів [7], а у 2013 р. Кабінетом Міністрів України розроблена процедура надання дозволу на використання запатентованого винаходу (корисної моделі), що стосується лікарського засобу, без згоди власника патенту та з виплатою йому компенсації. Ця процедура встановлена для забезпечення охорони здоров'я населення, зокрема протидії ВІЛ-інфекції/СНІДу та іншим соціально небезпечним хворобам. За цією процедурою Кабінет Міністрів України може надати визначеній ним особі дозвіл у разі документального підтвердження наявності таких обставин одночасно: власник патенту не може задовольнити потребу у відповідному лікарському засобі силами та потужностями, що зазвичай використовуються для виробництва такого лікарського засобу; власник патенту безпідставно відмовив заявникові у видачі ліцензії на використання винаходу (корисної моделі) [6]. Наведене тільки підкреслює, що правила етичності у формі умов правової охорони медичних винаходів в Україні не розроблені. Тому потребують закріплення у Законі України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» етичні вимоги щодо біотехнологічних винаходів; співвідношення балансу інтересів, прав пацієнтів і патентовласників; підстави та умови надання примусової ліцензії щодо медичних винаходів.

Умови патентоздатності винаходу: новизна, винахідницький рівень, промислова придатність. Новизна винаходу визначається як невідомість винаходу з рівня техніки. Інформацію про рівень техніки можуть містити будь-які інформаційні джерела, що стали загальнодоступними у світі до дати пріоритету. Винахідницький рівень дає можливість відрізнити винахід від іншого об'єкта патентного права. Промислова придатність – це можливість застосовувати винахід у медичній практиці. Ці умови патентоздатності винаходів визнаються в усьому світі та застосовуються до медичних винаходів.

Особливість правової охорони медичних винаходів полягає саме в системі вимог, що поєднує етичні правила та критерії патентоздатності винаходу. В українській правничій науці ця система залишається не розглянутою. Однак під час імплементації Директиви 98/44/ЄС в українське законодавство одразу постане питання щодо впровадження названої системи.

Розмежування медичних і фармацевтичних винаходів можна здійснювати за різними критеріями. Вважаємо, що під час виконання таких умов правової

охорони винаходів, як винахідницький рівень і промислова придатність можна здійснювати розмежування близьких між собою винаходів, зокрема медичних і фармацевтичних.

Відповідно до Правил розгляду заявки на винахід і заявки на корисну модель, що затверджені наказом Міністерства освіти і науки України від 15.03.2002 № 197, ці критерії правової охорони мають бути встановлені під час кваліфікаційної експертизи. Винахідницький рівень встановлюють із новизни, рівня техніки, його наявність дає змогу стверджувати про отримання нового технічного результату. При розробленні винаходу винахідник обов'язково розв'язує завдання, вирішення якого є винаходом. Ставлячи завдання, винахідник повинен визначити сферу наукової діяльності, технологічне існування такого завдання, зокрема чітко розмежувати такі науки, як фармація (15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія) та медицина (14.01.03 – хірургія тощо). У цьому проявляється розмежування наведених винаходів за критеріями винахідницького рівня.

Щодо промислової придатності, то згідно з п. 6.5.1 Правил розгляду заявки на винахід і заявки на корисну модель: «винахід є промислово придатним, якщо його може бути використано у промисловості або в іншій сфері діяльності». Для встановлення промислової придатності винаходу перевіряють наявність у матеріалах заявки посилання на призначення заявленого об'єкта винаходу (для нових хімічних сполук – його можливе застосування); наявність у первинних матеріалах заявки описаних засобів і методів, за допомогою яких можливе здійснення винаходу в тому вигляді, як він охарактеризований в будь-якому пункті формули» [20]. Згідно з абз. 2 ч. 2 ст. Закону України «Про лікарські засоби»: «лікарський засіб – будь-яка речовина або комбінація речовин (одного або декількох АФІ та допоміжних речовин), що має властивості та призначена для лікування або профілактики захворювань у людей, чи будь-яка речовина або комбінація речовин (одного або декількох АФІ та допоміжних речовин), яка може бути призначена для запобігання вагітності, відновлення, корекції чи зміни фізіологічних функцій у людини шляхом здійснення фармакологічної, імунологічної або метаболічної дії або для встановлення медичного діагнозу» [21]. Виходячи з цього, промислова придатність лікарського засобу – це лікування або профілактика захворювань у людей; запобігання вагітності, відновлення, корекції чи зміни фізіологічних функцій у людини шляхом здійснення фармакологічної, імунологічної або метаболічної дії або для встановлення медичного діагнозу. Щодо медичних винаходів, то як технічний результат для винаходу, що стосується способу діагностики (профілактики) стану людей, повинні наводитися відомості про виявлені фактори або інші вірогідні дані, що підтверджують його придатність для діагностики або профілактики зазначеного стану або захворювання (отримані, зокрема, в експерименті на адекватних моделях чи іншим шляхом) [22]. Отже, промислова придатність медичних і фармацевтичних винаходів встановлюється під час використання описаних засобів і методів, за допомогою яких можливе здійснення винаходу. Для фармацевтичних і медичних

винаходів засоби та методи здійснення є різними, хоча їхня спрямованість буде єдиною – лікування людини.

Висновки

1. Види винаходів у медичній практиці: способи лікування людини; пристрої для лікування та діагностики людини; лікарські засоби; штами мікроорганізмів, що застосовуються для діагностики захворювання або лікування людини; біотехнологічні винаходи.

2. Винаходи в медичній практиці поділяють на дві групи: медичні та фармацевтичні. Розмежування цих винаходів доцільне, оскільки вони є різними за змістом винахідницької діяльності, хоча і застосовуються в медицині, тобто вони розмежовуються за таким критерієм правової охорони, як промислова придатність. Завдяки цьому критерію з'являється можливість застосовувати винаходи в певній сфері діяльності людини.

3. Особливість медичних винаходів полягає в тому, що вони мають власний видовий поділ, що зумовлений сферою застосування винаходу (спосіб лікування, діагностики тощо), а також повинні відповідати етичним вимогам. Обґрунтовано необхідність закріплення в Законі України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» етичних вимог щодо біотехнологічних винаходів; співвідношення балансу інтересів, прав пацієнтів і патентовласників; підстав та умов надання примусової ліцензії щодо медичних винаходів; положень Директиви 98/44/ЄС.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямом наукових досліджень є виявлення та розв'язання проблем, що виникають через неналежає забезпечення правової охорони медичних винаходів, адже дії щодо цих винаходів, які пов'язані з винахідництвом, патентуванням і використанням, регулюються нормами інтелектуальної власності та нормами етики медичного працівника. Тому цей комплекс норм доцільно не тільки проаналізувати надалі в наукових публікаціях, але і сформулювати низку законодавчих пропозицій для їхнього закріплення в Законі України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі».

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 17.12.2018

Після доопрацювання / Revised: 06.08.2019

Прийнято до друку / Accepted: 12.09.2019

Відомості про авторів:

Теремешкий В. І., д-р юрид. наук, доцент, професор каф. цивільного права і процесу, Тернопільський національний економічний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2667-5167

Матвійчук А. В., д-р філософ. наук, доцент, професор каф. теорії держави і права та філософії, Міжнародний економіко-гуманітарний університет імені академіка С. Дем'янчука, м. Рівне, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-0008-8589

Музичук О. М., д-р юрид. наук, професор, декан факультету № 1, Харківський національний університет внутрішніх справ, Україна. ORCID ID: 0000-0001-8367-2504

Щербаківський М. Г., д-р юрид. наук, доцент, професор каф. кримінально-правових дисциплін факультету № 6, Харківський національний університет внутрішніх справ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-8413-9311

Одерій О. В., д-р юрид. наук, доцент, професор

каф. кримінально-правових дисциплін та судових експертиз факультету № 1, Донецький юридичний інститут МВС України, м. Кривий Ріг, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6999-4387

Сведения об авторах:

Теремешкий В. И., д-р юрид. наук, доцент, профессор каф. гражданского права и процесса, Тернопольский национальный экономический университет, Украина.

Матвийчук А. В., д-р философ. наук, доцент, профессор каф. теории государства и права и философии, Международный экономико-гуманитарный университет имени академика С. Демьянчука, г. Ривне, Украина.

Музычук А. Н., д-р юрид. наук, профессор, декан факультета № 1, Харьковский национальный университет внутренних дел, Украина.

Щербаківський М. Г., д-р юрид. наук, доцент, профессор каф. уголовно-правовых дисциплин факультета № 6, Харьковский национальный университет внутренних дел, Украина.

Одерий О. В., д-р юрид. наук, доцент, профессор каф. уголовно-правовых дисциплин и судебных экспертиз факультета № 1, Донецкий юридический институт МВД Украины, г. Кривой Рог, Украина.

Information about authors:

Teremetskyi V. I., DSc (Law), Associate Professor, Professor of the Department of Civil Law and Procedure, Ternopil National Economic University, Ukraine.

Matviichuk A. V., Doctor of Philosophy, Associate Professor, Professor of the Department of Theory of State and Law and Philosophy, International University of Economics and Humanities named after Academician Stepan Demianchuk, Rivne, Ukraine.

Muzychuk O. M., DSc, (Law), Professor, Dean of the Faculty No. 1, Kharkiv National University of Internal Affairs, Ukraine.

Shcherbakovskiy M. H., DSc (Law), Associate Professor, Professor of the Department of Criminal Law Subjects, Faculty No. 1, Kharkiv National University of Internal Affairs, Ukraine.

Oderii O. V., DSc (Law), Associate Professor, Professor of the Department of Criminal Law Subjects and Forensic Examinations, Faculty No. 6, Donetsk Law Institute of Ministry of Internal Affairs of Ukraine, Kryvyi Rih, Ukraine.

Список літератури

- [1] Конституція України. Закон України від 28.06.1996 № 254к/96-ВР. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/254k/96-вр>
- [2] Schwertner H. A. Patenting Medical Inventions. *Military Medicine*. 1994. Vol. 159, Iss. 12. P. 729-732. <https://doi.org/10.1093/milmed/159.12.729>
- [3] Dyke T., Anderson W. P. A history of health and medical research in Australia. *Medical Journal of Australia*. 2014. Vol. 201, Iss. S1. <https://doi.org/10.5694/mja14.00347>
- [4] Tran V.-T., Ravaud P. Frugal innovation in medicine for low resource settings. *BMC Medicine*. 2016. Vol. 14, Iss. 1. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0651-1>
- [5] Демецька О. Реформування сфери охорони здоров'я механізмами права інтелектуальної власності. *Фармацевт Практик*. 2017. № 7-8. С. 4-5.
- [6] Порядок надання Кабінетом Міністрів України дозволу на використання запатентованого винаходу (корисної моделі), що стосується лікарського засобу. Постанова Кабінету Міністрів України від 04.12.2013 № 877. URL: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/877-2013-%D0%BF>
- [7] Про утворення робочої групи з питань інтелектуальної власності та доступу до лікарських засобів. Наказ МОЗ від 28.09.2012 № 759, № 165/1. URL: <http://zakon.rada.gov.ua/rada/show/ru/v0759282-12>.
- [8] Пояснювальна записка до проекту Закону України "Про внесення змін до деяких законодавчих актів України щодо вдосконалення правової охорони винаходів та корисних моделей" від 01.02.2018 № 7538. URL: http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/GH5TE00A.html

- [9] Latimer M. T. Patenting inventions arising from biological research. *Genome Biology*. 2005. Vol. 6, Iss. 1. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-6-1-203>
- [10] Патент 1808 Україна. Спосіб лікування туберкульозу легень / В. М. Петренко, В. І. Коржов, А. І. Гайович та ін. № 4948783/SU ; заявл. 25.06.1991 ; опубл. 25.10.1994, бюл. № 3
- [11] On the Legal Protection of biotechnological inventions: Directive of the European Parliament and of the Council of 6 July, 1998, № 98/44/EC. URL: http://www.wipo.int/wipolex/ru/text.jsp?file_id=126957
- [12] Mehta H., Tidwell L., Liotta L. A. Inventions and Patents: A Practical Tutorial. *Methods in Molecular Biology Molecular Profiling*. 2017. P. 379-397. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6990-6_25
- [13] Miladinovic Z., Varga S., Radojkovic M. Patent law protection of inventions in medicine and pharmaceutical industry. *Vojnosanitetski Pregled*. 2013. Vol. 70, Iss. 6. P. 600-605. <https://doi.org/10.2298/vsp1306600m>
- [14] Italian Code of industrial property. Legislative Decree № 30 of 10 February 2005, as amended by Legislative Decree № 131 August 2010. URL: <http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/en/it/it204en.pdf>
- [15] Салицкая Е. А. Разграничение понятий «изобретение» и «открытие» в контексте правовой охраны достижений в области генной инженерии. *Наука. Инновации. Образование*. 2016. Вып. 2. С. 104-121.
- [16] The European Patent Convention / European Patent Office: офіц. веб-сайт. URL: <https://www.epo.org/law-practice/legal-texts/html/epc/2016/e/index.html>
- [17] The Future of Ethics in Medicine / M. Raza, H. A. Dharamshi, S. Z. Ahsan et al. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2016. Vol. 18, Iss. 6. <https://doi.org/10.5812/ircmj.26900>
- [18] Про охорону прав на винаходи і корисні моделі. Закон України від 15.12.1993 № 3687-XII. URL: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/3687-12/page>
- [19] Про захист суспільної моралі. Закон України від 20.11.2003 № 1296-IV. URL: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/1296-15>.
- [20] Правила розгляду заявки на винахід та заявки на корисну модель. Наказ МОН України від 15.03.2002 № 197. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0364-02>
- [21] Про лікарські засоби. Закон України від 04.04.1996 № 123/96-ВР. URL: <https://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/123/96-вр>
- [22] Павлов А. В. Патентование методов лечения при наличии условия патентоспособности «техническое решение». *Вестник Российского нового университета*. 2012. Вып. 3. С. 72-75.
- [10] Petrenko, V. M., Korzhov, V. I., Haiovych, A. I., Kunichkina, S. A., & Sokyрко, T. O. (1994). Ukrainian Patent No. 1808. *Sposib likuvannia tuberkulozu lehen* [Method for treatment of pulmonary tuberculosis]. Retrieved from <https://base.uipv.org/search/INV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=39553>
- [11] Directive 98/44/EC of the European Parliament and of the Council of 6 July 1998 on the legal protection of biotechnological inventions (OJ L 213, 30.7.1998, p. 13). Retrieved from http://www.wipo.int/wipolex/ru/text.jsp?file_id=126957
- [12] Mehta, H., Tidwell, L., & Liotta, L. A. (2017). Inventions and Patents: A Practical Tutorial. *Methods in Molecular Biology Molecular Profiling*, 379-397. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6990-6_25
- [13] Miladinovic, Z., Varga, S., & Radojkovic, M. (2013). Patent law protection of inventions in medicine and pharmaceutical industry. *Vojnosanitetski Pregled*, 70(6), 600-605. <https://doi.org/10.2298/vsp1306600m>
- [14] Italian Code of industrial property: Legislative Decree No. 30 (2005, February 10), as amended by Legislative Decree No. 131 (2010, August). Retrieved from <http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/en/it/it204en.pdf>
- [15] Salitskaya E. A. (2016). Razgranichenie ponyatii "izobretenie" i "otkrytie" v kontekste pravovoi okhrany dostizhenii v oblasti gennoi inzhenerii [Demarcation of the concepts 'invention' and 'discovery' in the context of legal protection of genetic engineering developments]. *Nauka. Innovatsii. Obrazovanie*, 2, 104-121. [in Russian].
- [16] The European Patent Convention (n.d.). Retrieved May 11, 2019 from European Patent Office website <https://www.epo.org/law-practice/legal-texts/html/epc/2016/e/index.html>
- [17] Raza, M., Dharamshi, H. A., Ahsan, S. Z., Naqvi, Z., Naqvi, T., Ali, A. A. M., & Abbas, J. M. (2016). The Future of Ethics in Medicine. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 18(6). <https://doi.org/10.5812/ircmj.26900>
- [18] *Pro okhoronu prav na vynakhody i korysni modeli*. *Zakon Ukrainy No. 3687-XII* [Verkhovna Rada of Ukraine. (1993, December 15)]. *On Protection of Rights to Inventions and Utility Models (No. 3687-XII)*. Retrieved from <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/3687-12/page> [in Ukrainian].
- [19] *Pro zakhyst suspilnoi morali*. *Zakon Ukrainy No 1296-IV* (20, November 2003). [Verkhovna Rada of Ukraine. (2003, November 20)]. *On Protection of Public Moral (No. 1296-IV)*. Retrieved from <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/1296-15> [in Ukrainian].
- [20] *Pravyla rozhliadu zaivky na vynakhid ta zaivky na korysnu model*. *Nakaz Ministerstva osvity i nauky Ukrainy No 197 (15 March, 2002)*. [Ministry of Education and Science. (2002, March 15)]. *Rules for Considering an Application for Invention and Usable Model Application (No. 197)*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0364-02> [in Ukrainian].
- [21] *Pro likarski zasoby*. *Zakon Ukrainy No. 123/96-BP* (4 April, 1996) [Verkhovna Rada of Ukraine. (1996, April 4)]. *On Medicinal Products (No. 123/96-BP)*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80?lang=en> [in Ukrainian].
- [22] Pavlov A. V. (2012). Patentovanie metodov lecheniya pri nalichii usloviya patentosposobnosti "tekhnicheskoe reshenie" [Treatment methods patenting in the presence of patentability "technical solutions" condition]. *Vestnik Rossiiskogo novogo universiteta*, 3, 72-75. [in Russian].

References

- [1] *Konstytutsiya Ukrainy [The Constitution of Ukraine]*. *Zakon Ukrainy No. 254/96-VR* (1996). Retrieved May 7, 2019 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/254%D0%BA/96-%D0%B2%D1%80?lang=en> [in Ukrainian].
- [2] Schwertner, H. A. (1994). Patenting Medical Inventions. *Military Medicine*, 159(12), 729-732. doi: 10.1093/milmed/159.12.729
- [3] Dyke, T., & Anderson, W. P. (2014). A history of health and medical research in Australia. *Medical Journal of Australia*, 201(S1). <https://doi.org/10.5694/mja14.00347>
- [4] Tran, V. -T., & Ravaud, P. (2016). Frugal innovation in medicine for low resource settings. *BMC Medicine*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0651-1>
- [5] Demetska, O. (2017). Reformuvannia sfery okhorony zdorovia mekhanizmu prava intelektualnoi vlasnosti [Healthcare reformation by intellectual property mechanisms]. *Farmatsevt Praxtyk*, 7-8. 4-5.
- [6] *Poriadok nadannia Kabinetom Ministriv Ukrainy dozvolu na vykorystannia zapatentovanoho vynakhodu (korysnoi modeli), shcho stosuietsia likarskoho zasobu*. *Postanova Kabinetu Ministriv Ukrainy vid 04.12.2013 no. 877* [Cabinet of Ministers of Ukraine. (2013, December 4)]. *On the procedure for granting authorization for the use of the registered invention (useful model), concerning the medicinal agent by the Cabinet of Ministers of Ukraine (No. 877)*. Retrieved from <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/877-2013-%D0%BF> [in Ukrainian].
- [7] *Pro utvorennia robochoi hrupy z pytan intelektualnoi vlasnosti ta dostupu do likarskykh zasobiv*. *Nakaz MOZ vid 28.09.2012 No. 165/1* [Ministry of Health of Ukraine. (2012, September 28)]. *On working group formation concerning intellectual property and access to medicine remedies (No. 759, No. 165/1)*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/ru/v0759282-12> [in Ukrainian].
- [8] *Poiashnuvalna zapyska do proektu Zakonu Ukrainy "Pro vnesennia zmin do deiakyykh zakonodavchykh aktiv Ukrainy shchodo vdoskonalennia pravovoi okhorony vynakhodiv ta korysnykh modelei" vid 01.02.2018 No. 7538* [Explanatory memorandum to the draft law of Ukraine "Concerning the Introduction of Amendments to Certain Legislative Acts of Ukraine on Improvement of Legal Protection of inventions and utility models (2018, February 1 No. 7538)]. Retrieved from http://search.ligazakon.ua/_doc2.nsf/link1/GH5TE00A.html [in Ukrainian].
- [9] Latimer, M. T. (2005). Patenting inventions arising from biological research. *Genome Biology*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/gb-2004-6-1-203>

Clinical course of extensively drug-resistant tuberculosis with HIV infection and tertiary syphilis: a case report

O. M. Raznatovska^{*1,A,C-F}, A. V. Fedorets^{2,A,B}, O. O. Furyk^{1,C,E,F}, H. I. Makurina^{1,E,F},
T. O. Hrekova^{1,D,F}, V. V. Romashchenko^{3,C}

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Tuberculosis Clinical Dispensary", Ukraine, ³Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Pathological Anatomy Bureau", 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:
tuberculosis,
HIV, syphilis.

Pathologia
2019; 16 (3), 424–430

DOI:
10.14739/2310-1237.
2019.3.189001

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

Purpose. To update the literature data with the clinical features of extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB), HIV and tertiary syphilis co-infection course based on an example from own clinical experience.

Materials and methods. A case report of XDR-TB with HIV and tertiary syphilis co-infection course was described based on our own clinical experience.

Results. The presented clinical case confirms the partial literature data as we did not find such a combined course of XDR-TB with HIV infection and tertiary syphilis in the literature available. So, XDR-TB developed in the patient due to late diagnosed and untreated HIV infection. Neurosyphilis praecox developed secondary to Lues latens ignorata. Early diagnosis of tertiary syphilis was problematic owing to considerable similarity of XDR-TB and HIV infection clinical manifestations. The CD4+ T-lymphocyte count was 16 cells (with a viral load of 3483783 RNA copies/ml) indicating a pronounced immune system inhibition in the patient, causing progressive multiple organ failure, HIV-associated diseases (nephropathy, encephalopathy, cardiomyopathy) and visceral tertiary syphilis (the kidney and brain). Despite multimodal therapy (antimycobacterial, antiretroviral, symptomatic and pathogenetic therapy, treatment of syphilis), the patient died after 4 months of inpatient treatment. The immediate causes of death were wasting syndrome, mycobacteriosis, HIV infection-associated diseases manifested as mycobacterial infection and multiple diseases.

Conclusions. Taking into account the considerable similarity of clinical and histological manifestations of tuberculosis and syphilis, as well as frequent HIV-associated tuberculosis (especially CRTB), it is recommended not to neglect the continuous use of a serological panel in patients with HIV and tuberculosis co-infection with the view to timely syphilis detecting. General practitioners are encouraged to work with patients towards the timely HIV testing. Also, it should be kept in mind that timely diagnosed diseases could be treated early, that will help save lives of our patients.

Ключові слова:
туберкульоз,
ВІЛ, сифіліс.

Патологія. – 2019. –
Т. 16, № 3(47). –
С. 424–430

Клінічний випадок поєданого перебігу туберкульозу з широкою лікарською стійкістю з ВІЛ-інфекцією та третинним сифілісом

О. М. Разнатовська, А. В. Федорець, О. О. Фурик, Г. І. Макуріна, Т. А. Грекова, В. В. Ромащенко

Мета роботи – доповнення відомостей фахової літератури клінічними особливостями поєданого перебігу туберкульозу з широкою лікарською стійкістю (ШЛС-ТБ) із ВІЛ-інфекцією та третинним сифілісом на прикладі власного спостереження з практики.

Матеріали та методи. Описано клінічний випадок власного спостереження поєданого перебігу ШЛС-ТБ із ВІЛ-інфекцією та третинним сифілісом.

Результати. Наведений клінічний випадок підтверджує часткові дані наукової літератури, оскільки протягом дослідження не знайшли такого поєданого перебігу ШЛС-ТБ із ВІЛ-інфекцією та третинним сифілісом у доступних фахових джерелах. Так, у пацієнтки на тлі пізно діагностованої та нелікованої ВІЛ-інфекції виник ШЛС-ТБ. Neurosyphilis praecox розвинувся на тлі Lues latens ignoratae. Рання діагностика третинного сифілісу була складною через схожість клінічних проявів ШЛС-ТБ і ВІЛ-інфекції. Кількість CD4-лімфоцитів становила 16 клітин (при вірусному навантаженні 3483783 РНК-копій/мл), що вказувало на виражене пригнічення імунної системи у хворої та, як наслідок, стало основою для прогресування поліорганної недостатності, ВІЛ-асоційованих захворювань (нефропатії, енцефалопатії, кардіоміопатії) та третинного вісцерального сифілісу (нирок і головного мозку). Незважаючи на проведення масивної комплексної терапії (антимікобактеріальна, антиретровірусна, симптоматична та патогенетична терапії, лікування сифілісу), пацієнтка померла через 4 місяці стаціонарного лікування. Безпосередніми причинами смерті стали синдром виснаження, мікобактеріоз, захворювання, зумовлене ВІЛ-інфекцією з проявами мікобактеріальної інфекції та множинних захворювань.

Висновки. Враховуючи суттєву схожість клінічних і гістологічних проявів туберкульозу та сифілісу, а також часте приєднання туберкульозу (особливо хіміорезистентного) до ВІЛ-інфекції, у хворих на ВІЛ-інфекцію та туберкульоз рекомендовано не нехтувати постійним застосуванням комплексу серологічних досліджень для своєчасного виявлення в організмі збудника сифілісу. Рекомендацією для сімейних лікарів є робота з пацієнтами в напрямі своєчасного тестування на ВІЛ-інфекцію. Потрібно пам'ятати: своєчасно діагностовані захворювання будуть своєчасно проліковані, що дає змогу врятувати життя пацієнтів.

Клинический случай сочетанного течения туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью с ВИЧ-инфекцией и третичным сифилисом

Е. Н. Разнатовская, А. В. Федоренко, Е. А. Фурик, Г. И. Макурина, Т. А. Грекова, В. В. Ромашенко

Цель работы – дополнение сведений научной литературы клиническими особенностями сочетанного течения туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) с ВИЧ-инфекцией и третичным сифилисом на примере собственного наблюдения из практики.

Материалы и методы. Описан клинический случай собственного наблюдения сочетанного течения ШЛУ-ТБ с ВИЧ-инфекцией и третичным сифилисом.

Результаты. Представленный клинический случай подтверждает частичные данные научной литературы, поскольку такого сочетанного течения ШЛУ-ТБ с ВИЧ-инфекцией и третичным сифилисом в доступных специализированных источниках не нашли. Так, у пациентки на фоне поздно диагностированной и нелеченной ВИЧ-инфекции развился ШЛУ-ТБ. Neurosyphilis праесох развился на фоне Lues latens ignoratae. Ранняя диагностика третичного сифилиса была сложной из-за значительного сходства клинических проявлений ШЛУ-ТБ и ВИЧ-инфекции. Количество CD4-лимфоцитов составило 16 клеток (при вирусной нагрузке 3483783 РНК-копий/мл), что указывало на выраженное угнетение иммунной системы у больной и, как следствие, стало основой для прогрессирования полиорганной недостаточности, ВИЧ-ассоциированных заболеваний (нефропатии, энцефалопатии, кардиомиопатии) и третичного висцерального сифилиса (почек и головного мозга). Несмотря на проведение массивной комплексной терапии (антимикобактериальная, антиретровирусная, симптоматическая и патогенетическая терапии, лечение сифилиса), пациентка умерла через 4 месяца стационарного лечения. Непосредственными причинами смерти стали синдром истощения, микобактериоз, заболевание, обусловленное ВИЧ-инфекцией с проявлениями микобактериальной инфекции и множественных заболеваний.

Выводы. Учитывая значительное сходство клинических и гистологических проявлений туберкулеза и сифилиса, а также частое присоединение к ВИЧ-инфекции туберкулеза (особенно химиорезистентного), у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом рекомендовано не пренебрегать постоянным применением комплекса серологических исследований для своевременного обнаружения возбудителя сифилиса в организме. Рекомендацией для семейных врачей является работа с пациентами в направлении своевременного тестирования на ВИЧ-инфекцию. Надо помнить: своевременно диагностированные заболевания будут своевременно пролечены, что позволит спасти жизни пациентов.

Ключевые слова:
туберкулез,
ВИЧ, сифилис.

Патология. – 2019. –
Т. 16, № 3(47). –
С. 424–430

Today, chemoresistant tuberculosis (CRTB) is a global health concern, since its incidence is detected all over the world, but the effectiveness of treatment remains low [1]. Human immunodeficiency virus (HIV) infection / acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is characterized by the development of opportunistic diseases that complicate both the disease course and its treatment. Tuberculosis is the most common among such diseases. Particularly unfavorable is CRTB and HIV/AIDS co-infection.

Syphilis is a disease which can be asymptomatic and last for many years [2]. According to the literature sources [3,4], syphilis epidemiology, in the current context, is marked by an increase in the incidence of early latent syphilis and its late forms, among which neurosyphilis is prevalent.

Borisenko V. V. et al. [5] found that latent syphilis in untreated or ineffectively treated patients can cause damage to the nervous system, which is not consistent with late neurosyphilis, leapfrogging its active forms. Patients' immune system state may also contribute to syphilis pathogenesis.

All three diseases (CRTB, HIV infection /AIDS and syphilis) are very severe having a mutually reinforcing nature. Awareness of these diseases comorbidity is essential for timely and early diagnosis and thus, for a treatment course determination.

The purpose

To update the literature data with the clinical features of extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB), HIV

and tertiary syphilis co-infection course based on an example from own clinical experience.

Materials and methods

A case report of XDR-TB with HIV and tertiary syphilis co-infection course was described based on our own clinical experience. A patient received inpatient treatment in the Department of Pulmonary Tuberculosis No 3 of the Clinical Site of Phthisiology and Pulmonology Department of ZSMU at the Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Tuberculosis Clinical Dispensary" (ZRTBCD).

Clinical case presentation

A 64-year-old woman K. was in a therapeutic department of a city hospital for 26 days. She was admitted complaining of generalized weakness, severe headache, non-productive cough, loss of appetite, weight loss (10 kg), exertional dyspnea, periodic fever over the past 2 months. She did not seek any medical assistance, only took paracetamol for fever. The patient denied a history of tuberculosis, sexually transmitted diseases, viral hepatitis and diabetes mellitus.

On admission, the patient was diagnosed with a severe general condition, temporal disorientation, but she was alert. Auscultation of the chest revealed bilateral harsh breathing, no rales. Clinical blood analysis (CBA) was as follows: hemoglobin (Hb) – 156 g/l; erythrocytes (Er) – $5,18 \times 10^{12}/l$, leukocytes (L) – $17,0 \times 10^9/l$, erythrocyte sedimentation rate (ESR) – 16 mm/h, bands (b) – 11 %, segmented neutrophils (s) – 78 %, eosinophils (e) – 0 %,

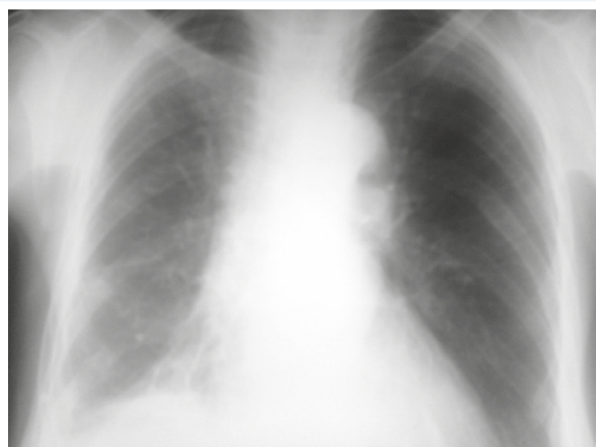


Fig. 1. Chest radiograph on admission showing circumscribed right hydrothorax.

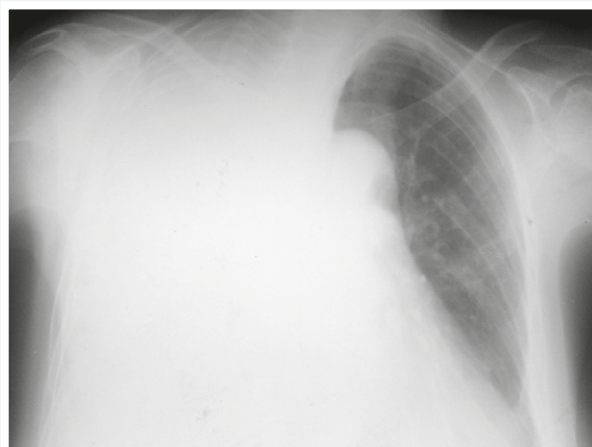


Fig. 2. Chest radiograph in 6 hours after admission showing total right hydrothorax.

lymphocytes (l) – 7 %, monocytes (m) – 4 %. She had negative MTB sputum smear. Chest radiograph showed a circumscribed right hydrothorax (Fig. 1).

However, symptoms of dyspnea seriously worsened in 6 hours and, as a result, a comparison radiograph was taken (Fig. 2). Total right hydrothorax was diagnosed.

A pleural puncture with a pleural effusion analysis showed 1100 ml of turbid yellowish fluid having a specific gravity of 1014, the Rivalta test yielded a positive result, protein level of 16.5 g/l, Er – 2/3 per field of vision (FOV), L – 20–30 per FOV, l – 87 %, single mesothelial cells. The pleural fluid samples were negative for Mycobacterium tuberculosis (MTB) and atypical cells (AC). The pleural fluid was taken on a liquid culture medium.

Exudative right-sided pleurisy, exudative phase was diagnosed.

The patient underwent complete examination when staying in the hospital:

- Electrocardiogram (ECG): sinus rhythm, adequate voltage, left electric axis deviation, left ventricular hypertrophy, incomplete left bundle-branch block.

- Gynecological findings: no acute gynecological pathology was detected at the time of examination.

- The patient flatly refused to test blood for HIV antibodies (AB).

- Ultrasound (US) of the urinary system revealed echo signs of the pyelocaliceal system diffuse thickening, right-sided nephroptosis.

- Abdominal US showed echo signs of fatty hepatosis, gallstone disease, chronic calculous cholecystitis and diffuse parenchymal changes of the pancreas.

- Fibrogastroduodenoscopy showed erosive-atrophic gastropathy.

- Ophthalmological findings: early-stage cataract.

On the 24th day of inpatient treatment, the patient underwent further US of the pleural cavity and fibrobronchoscopy (FBS):

- FBS showed diffuse bilateral catarrhal-erosive endobronchitis of 1–2 degrees. Bronchial washings were collected for molecular genetic (MG) testing for MTB detection.

- US of the pleural cavity showed right-sided exudative pleurisy with signs of loculation and pleural adhesions. Pleural puncture and pleural fluid analysis were performed.

The following day, the pleural fluid showed an increased total cell count with the predominance of segmented neutrophils at different stages of destruction and was positive for MBT (1+). Bronchial washings were also positive for MBT resistant to rifampicin (Rif+).

Liver function test were within normal limits during inpatient treatment.

Taking into account the latest data with the diagnosis of rifampicin resistant tuberculosis (RifTB), extrapulmonary tuberculosis (EPTB), right-sided exudative pleurisy, exudative phase, MBT(+), M(-), MG(+), Rif(+), category 4 (newly diagnosed tuberculosis (NDTB)), the patient was transferred to the ZRTBCD.

CBA at discharge from the hospital: Hb – 130 g/l; Er – $4.49 \times 10^{12}/l$, L – $6.1 \times 10^9/l$, ESR – 14 mm/h, b – 2 %, s – 77 %, e – 1 %, l – 13 %, m – 7 %.

The patient was admitted to the ZRTBCD in an extremely serious condition. A comparison radiograph was taken showing right-sided hydrothorax up to the level of the 2nd–3rd rib; diaphragm and sinuses were undifferentiated; low-density patchy infiltrates in the left upper lobe which were not previously detected.

A pleural puncture was performed with removal of 800 ml of pleural fluid and its analysis revealed a specific gravity of 1014, protein of 33 g/l, the Rivalta test was positive (exudate), Er – 2/3 per FOV; L – 1/2–1/3 of FOV, l – 97 %, AC and MBT were not detected.

ECG findings: sinus tachycardia (heart rate 104 bpm), adequate voltage, left electric axis deviation, left ventricular hypertrophy, incomplete left bundle-branch block, diffuse myocardial changes.

A sputum smear was positive for MTB (1+) and sputum was taken on a liquid culture medium. The patient had sputum smear negative for Pneumocysts on admission and throughout the entire inpatient treatment.

On the 2nd day of inpatient treatment in the ZRTBCD, the results of pleural fluid culture and drug sensitivity test (DST) performed after the first pleural puncture in

the therapeutic department, were obtained. It was found that the cultured MBT strain demonstrated resistance to all first-line anti-tuberculosis drugs – isoniazid (H), rifampicin (R), streptomycin (S), ethambutol (E), pyrazinamide (Z) and to 2 preparations of second-line anti-tuberculosis drugs – kanamycin (Km) and moxifloxacin (Mfx).

Based on the last chest radiograph and the DST findings, the diagnosis was set: XDR-TB of the upper lobe of the right lung (infiltrative), Destruction (-), MBT(+), M(+), MG(+), Rif(+), K(+), Resistance I (HRSEZ), Resistance II (KmMfx), EPTB, right-sided exudative pleurisy, exudative phase, category 4 (NDTB). Antimycobacterial (AMBT) therapy by category 4 was prescribed, taking into account the DST data according to the Unified Clinical Protocol "Tuberculosis" [6].

In the ZRTBCD, the patient consented to test blood for HIV and the result turned out to be positive. Her CD4+ T lymphocyte count was 16 cells (1.9 %) and serum viral load was 3483783 HIV RNA copies/ml.

Following consultation of an infectious disease specialist, the diagnosis was made: HIV infection (B 20.0), IV clinical stage, oropharyngeal candidiasis.

Biseptol, fluconazole and azithromycin prophylaxis and treatment of opportunistic infections were initially prescribed to the patient. And after 2 months of the AMBT therapy, an antiretroviral therapy (ART) was prescribed by the infectious disease specialist.

Serological Wassermann reaction performed when the patient was admitted to the ZRTBCD tested positive. For this reason, after consulting a dermatovenerologist, the patient was referred to further panel of serological studies (PSS) in order to determine whether or not syphilis (*T. pallidum*) was confirmed. All the tests turned out to be positive:

- Rapid plasma regain (RPR) reaction was weak positive.
- Passive hemagglutination reaction (PGRA) – positive.
- Blood test using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-TREP test system for antibodies to antigenic components of *T. pallidum* screening in human serum or plasma used primarily to confirm the diagnosis of syphilis) was positive. In this case, immunoglobulin responses to individual *T. pallidum* polypeptides indicated the following results: TpN15 – positive, TpN17 – positive, TpN41 – negative, TpN47 – negative. These tests were performed for three times (once every three weeks) and the results remained unchanged.

Based on the data obtained, the dermatovenerologist diagnosed Lues latens ignorata. An adequate treatment was prescribed.

Almost after a week of AMBT therapy, US examination of her thorax revealed 180 cm³ of loculated pleural effusion in the right pleural cavity.

The patient was further examined by a therapist, and the diagnosis was made: HIV-associated cardiomyopathy, hypertensive nephropathy. I degree heart failure (HF), functional class (FC) II. II–III degree pulmonary insufficiency (PI). Chronic non-alcoholic steatohepatitis, atrophic gastritis. Gallstone disease, chronic calculous cholecystitis, remission phase.

Based on the therapist's report, an adequate symptomatic treatment was prescribed to the patient.

After a month of AMBT therapy, the result of sputum culture (made upon admission to the hospital) and the DST data were obtained: Resistance I (HRSE), Resistance II (KmMfx). The resistance obtained was almost identical to the DST results of the pleural fluid, except for pyrazinamide.

From the second month of inpatient treatment, the patient demonstrated a continued increase in blood thymol turbidity test up to 16.39 units (un) (upper reference limit: 5 un), variations in the creatinine level from 142.5 μmol/L to 274.0 μmol/L (upper reference limit: 97 μmol/L) and the urea level from 10.1 mmol/L to 13.2 mmol/L (upper reference limit: 7.2 mmol/L) as well as increase in the serum urea nitrogen concentration up to 6.16 mmol/L (upper reference limit: 4.51 mmol/L). At that time, anemia and inflammatory process symptoms worsened which manifested as a decrease in Hb to 70g/l and Er to 2.62 × 10¹²/l, ESR acceleration to 40mm/h.

After 2 months of treatment in the ZRTBCD, the patient presented a severe general condition, temporal disorientation, long history of headache and complained of paresthesia in the limbs and speech impairment. Therefore, she was examined by a neurologist, who bearing in mind that the patient was diagnosed with syphilis, referred her for a spinal puncture and liquor examination.

The liquor result indicated protein of 0.0099 g/l, Pandy's reaction (+), negative Nonne-Apelt test, white blood cell count of 1 cell (l), glucose level of 2.11 mmol/l, chloride level of 106.8 mmol/l; AC, MBT and cryptococci were not detected.

Taking into account the results of liquor examination, the dermatovenerologist made the following diagnosis: Early Neurosyphilis praecox, Lues latens ignorata. An adequate treatment regimen was prescribed to the patient.

After 4 months of treatment, a comparison radiograph showed: increased pulmonary vascularity due to the interstitial component in both lung fields, thickened intercostal pleura on the right side, ill-defined diaphragm contour, buried sinus, commissure occupying oblique fissure. Mediastinal organs were shifted to the right (probably due to pleuropneumocirrhosis development).

Despite the multimodality therapy, the patient's general condition progressively deteriorated with an increase in signs of multiple organ failure, and biological death was pronounced after 4 months of inpatient treatment.

Post-mortem diagnosis: HIV infection, IV clinical stage, multiple organ failure. HIV-related diseases: cardiomyopathy, encephalopathy, nephropathy. XDR-TB of the upper lobe of the right lung (infiltrative), Destruction (-), MBT (+), M (+), MG (+), Rif (+), K (+), Resistance I (HRSEZ), Resistance II (KmMfx). EPTB, right-sided exudative pleurisy, resolution phase. Histology 0. Category 4 (NDTB). II-III degree Pl. I degree HF, FC II. Lues latens ignorata. Early Neurosyphilis praecox. Chronic non-alcoholic steatohepatitis. Atrophic gastritis. Gallstone disease. Chronic calculous cholecystitis, remission phase. Chronic anemia. Cachexia.

Pathological-anatomical diagnosis:

1. The main disease. HIV infection, IV clinical stage (according to clinical data). Mycobacterial infection with the upper lobe of the right lung lesion: focal areas of specific productive inflammation, represented by epithelial



Fig. 3. Tertiary syphilis-induced lesions of the meninges (gross specimen).

cells, macrophages, lymphocytes with the presence of Pirogov–Langhans giant cells and focal zones of caseous necrosis in the centers of individual sites of productive inflammation. HIV-associated multifocal leukoencephalopathy: multiple non-homogeneous foci of honeycomb pattern in the brain white matter, foci of white matter demyelination, perivascular infiltration with lymphocytes, macrophages and siderophages, multiple microglial nodules mainly in the subcortical parts of the brain.

HIV-associated nephropathy: segmental glomerulosclerosis, lymphohistiocytic infiltration of the stroma. Tertiary syphilis (syphilis visceralis) with kidney damage: rounded lesions in the right renal cortex (1.5 cm and 1.8 cm in diameter) demarcated from the rest of the tissue by a capsule consisting of collagen fibers, presenting a central area of colliquative necrosis surrounded by the newly formed granulation tissue infiltrated with lymphocytes, plasma cells, epithelial cells, fibroblasts and occasional Pirogov–Langhans giant cells with the presence of angiomatosis and signs of proliferative vasculitis.

HIV-associated cardiomyopathy. Neurosyphilis: opacification and thickening of pia mater, foci of colliquative necrosis surrounded by chronic inflammatory infiltration containing predominantly lymphocytes, plasma cells and occasional Pirogov–Langhans giant cells with the newly formed granulation tissue. The gross specimens present tertiary syphilis-induced lesions of the cerebellum and the meninges (Fig. 3).

2. Complications. Brain swelling (brain weight of 1350 g). Focal selective neuronal necrosis (complete and partial) in the cerebral hemispheric cortex. Endogenous intoxication: focal tubular kidney necrosis, focal centrolobular hepatic necrosis. Right-sided exudative pleurisy (900 ml of exudate in the right pleural cavity). Pulmonary heart disease (right ventricle wall thickness of 0.5 cm). Chronic renal failure. Chronic anemia. Venous congestion and parenchymatous degeneration of internal organs.

3. Concomitant diseases. Chronic pancreatitis in remission. Chronic calculous cholecystitis in remission. Chronic superficial erosive gastroduodenitis with I–II degree atrophy, exacerbation phase.

Cause of death:

1. Mode of death: HIV disease resulting in wasting syndrome (B 22.2), HIV disease resulting in mycobacterial infection (B 20.0), HIV disease resulting in multiple diseases (B 22.7).

2. Underlying significant conditions that contributed to death but not related to the disease or its complications which were the direct cause of death: HIV-associated nephropathy and encephalopathy.

Clinical and pathological-anatomical epicrisis:

– When comparing clinical and pathologic-anatomical findings, it was found that HIV-associated mycobacterial infection of the upper lobe of the right lung developed in the patient.

– HIV-associated nephropathy, encephalopathy, cardiomyopathy occurred.

– Tertiary syphilis with the kidney and brain lesions was diagnosed.

– The course of the disease was complicated by the development of right-sided exudative pleurisy of tuberculosis etiology (900 ml of exudates in the right pleural cavity), moderate pneumofibrosis with the subsequent development of chronic pulmonary heart disease (right ventricular wall thickness of 0.5 cm).

– Syphilitic kidney damage resulted in progressive renal failure. Neurosyphilis caused progressive development of cerebral oedema.

– Progressive multiple organ failure was the direct cause of death in the prevailing conditions with underlying severe endogenous intoxication, cardiorespiratory failure and worsening cerebral oedema.

Discussion

Rodikov M. V. [7] in his study indicates that late neurosyphilis develops most frequently with underlying latent and late forms of syphilis, the predominant share of which is *Lues latens ignorata* (58.4 %).

The literature describes a case of neurosyphilis with concomitant cryptococcal and tuberculous meningitis in a patient with AIDS [8]. The authors assert that the immunodeficiency state induced by HIV may facilitate the progression of neurosyphilis which itself can complicate HIV infection at any time after the initial infection. The researchers further indicate that timely diagnosis of meningeal tuberculosis is very challenging in a patient with AIDS as MBT are rarely detected in liquor.

Also, the literature suggests that the risk of developing neurosyphilis in HIV-infected patients increases if the CD4 T-lymphocytes count <350 cells/ μ l [9].

Krasnosel'skikh T. V. and Sokolovskij Ye. V. [10] also report that patients with HIV and syphilis co-infection have a higher risk of developing specific neurological disorders and neurorelapses.

Khammassi N. B. et al. [11] describe the case of secondary syphilis, which was complicated by generalized affection of lymph nodes. Researchers note the difficulties related to differential diagnosis between tuberculosis and syphilis in this case because of considerable similarity of clinical and histological manifestations of these diseases. So, granulomatous inflammation manifesting in granuloma composed of a central zone of caseous necrosis surrounded by Pirogov–Langhans giant cells is characteristic for both diseases. Tuberculosis frequently occurs with the concomitant involvement of intrathoracic as well as peripheral lymph nodes. Therefore, the authors focus on the importance of the disease etiological factors

(*Treponema pallidum* and MBT) timely diagnosis using serological tests in the case of syphilis, and MG methods in tuberculosis.

Krasnosel'skikh T. V. et al. [12], describing the case of tertiary syphilis complicated by multiple skin gummas, also emphasize the timeliness of the etiological factor diagnosis. Indeed, the morphological manifestation of gumma in our patient was granuloma with caseous necrosis surrounded by plasma cell infiltrate, which was similar to tuberculosis.

Loseva O. K. et al. [13], studying the case of latent late neurosyphilis in a patient with fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis found that the main reason for treatment failure of such patients was the lack of coordination in diagnosis and treatment when doctors of different specialties need to be involved. This factor resulted in both late diagnosis of neurosyphilis and lethal outcome of it in their case.

Mordovskaia L. I. et al. [14] studied tuberculosis and syphilis co-infections in 352 patients. Researchers found that this combined pathology was more common among socially maladjusted male urban population. It was found that this combination was complicated by MBT resistance to antimycobacterial agents in 69.2 % of cases, including 53.4 % of cases diagnosed with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and 12.6 % with XDR-TB.

The presented clinical case confirms the partial literature data as we did not find such a combined course of XDR-TB with HIV infection and tertiary syphilis in the literature available.

So, XDR-TB developed in the patient due to late diagnosed and untreated HIV infection. Neurosyphilis *praecox* developed secondary to *Lues latens ignorata*. Early diagnosis of tertiary syphilis was problematic owing to considerable similarity of XDR-TB and HIV infection clinical manifestations. The CD4+ T-lymphocyte count was 16 cells (with a viral load of 3483783 RNA copies/ml) indicating a pronounced immune system inhibition in the patient, causing progressive multiple organ failure, HIV-associated diseases (nephropathy, encephalopathy, cardiomyopathy) and visceral tertiary syphilis (the kidney and brain). Despite multimodality therapy (antimycobacterial, antiretroviral, symptomatic and pathogenetic therapy, treatment of syphilis), the patient died after 4 months of inpatient treatment. The immediate causes of death were wasting syndrome, mycobacteriosis, HIV infection-associated diseases manifested as mycobacterial infection and multiple diseases.

Conclusions

Taking into account the considerable similarity of clinical and histological manifestations of tuberculosis and syphilis, as well as frequent HIV-associated tuberculosis (especially CRTB), it is recommended not to neglect the continuous use of a serological panel in patients with HIV and tuberculosis co-infection with the view to timely syphilis detecting. General practitioners are encouraged to work with patients towards the timely HIV testing. Also, it should be kept in mind that timely diagnosed diseases could be treated early, that will help save lives of our patients.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.07.2019
Після доопрацювання / Revised: 17.09.2019
Прийнято до друку / Accepted: 15.10.2019

Information about authors:

Raznatovska O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-2252-9063

Fedorets A. V., Phthysiolgist of the Pulmonary Tuberculosis Department № 3, Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Tuberculosis Clinical Dispensary", Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-0994-5265

Furyk O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-5196-7698

Makurina H. I., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Aesthetic Medicine of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3293-2748

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

ORCID ID: 0000-0001-9946-3336

Romashchenko V. V., Pathologist, Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Pathological Anatomy Bureau", Ukraine.

Відомості про авторів:

Разнатовська О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фізіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Федорець А. В., лікар-фізіатр відділення легеневого туберкульозу № 3, КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер», Україна.

Фурик О. О., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Макурина Г. І., д-р мед. наук, зав. каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології і естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Грекова Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Ромашченко В. В., патологоанатом, КУ «Запорізьке обласне патологоанатомічне бюро», Україна.

Сведения об авторах:

Разнатовская Е. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. физиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федорец А. В., врач-физиатр отделения легочного туберкулеза № 3, КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер», Украина.

Фурик Е. А., канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Макурина Г. И., д-р мед. наук, зав. каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Грекова Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Ромашченко В. В., патологоанатом, КУ «Запорожское областное патологоанатомическое бюро», Украина.

References

- [1] Global tuberculosis report 2019. (2019, November 18). Retrieved from https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.

- [2] Genovese, G., Nazzaro, G., Coggi, A., Gianotti, R., Ramoni, S., & Cusini, M. (2018). Secondary syphilis masquerading as lupus vulgaris in an HIV-infected patient: A diagnosis suggested by histology. *International Journal of STD and AIDS*, 29(14), 1454–1456. <https://doi.org/10.1177/0956462418795590>
- [3] Potekaev, N. N., Frigo, N. V., Almazova, A. A., & Lebedeva, G. A. (2015). Ehpideimiologiya sifilisa v sovremennykh usloviyakh [Syphilis epidemiology under modern conditions]. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, 1, 22-34. [in Russian]. <https://doi.org/10.17116/klind-erma2015122-34>
- [4] Shubina, A. S. (2016). Ehpideimiologicheskie aspekty zabolevaemosti neirosifilisom [Epidemiological aspects of disease neurosyphilis]. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya*, 4-3, 427-429. [in Russian]. Retrieved from <http://www.expeducation.ru/ru/article/view?id=9816>
- [5] Borisenko, V. V., Noskova, A. V., & Grin' I. A. (2011). Klinicheskii sluchai manifestatsii neirosifilisa na fone toksicheskogo gepatita, vyzvannogo otravleniem dikorastushchimi yadovitymi gribami [Clinical case of manifestation of neurosyphilis on a background toxic hepatitis, caused poisoning growings wild poisonous mushrooms]. *Ukrainskyi zhurnal ekstremalnoi medytsyny imeni H. O. Mozhaieva*, 12 (3), 141–144. [in Russian].
- [6] Ukraina MOZ. (2014). Unifikovanyi klinichnyi protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy doroslym. Tuberkuloz: nakaz MOZ Ukrainy № 620 vid 31.12.2014 r. [Unified clinical protocols of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care for adults "Tuberculosis" from December 31, 2014 no 620]. [in Ukrainian]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0620282-14?lang=uk>
- [7] Rodikov M. V. (2009). *Pozdnyi neirosifilis (kliniko-epidemiologicheskaya kharakteristika, mekhanizmy razvitiya, optimizatsiya terapii)* [Late neurosyphilis (clinical and epidemiological characteristics, developmental mechanisms, optimization of therapy) (Doctoral dissertation). Irkutsk State Institute for Advanced Medical Studies, Irkutsk. [in Russian].
- [8] Zamora, J. A. G., Espinoza, L. A., & Nwanyaonu, R. N. (2017). Neurosyphilis with Concomitant Cryptococcal and Tuberculous Meningitis in a Patient with AIDS: Report of a Unique Case. *Case Reports in Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1155/2017/4103858>
- [9] Ho, E. L., & Spudich, S. S. (2015). Neurosyphilis and the impact of HIV infection. *Sexual Health*, 12(2), 148-154. <https://doi.org/10.1071/sh14195>
- [10] Krasnoselskikh, T. V., & Sokolovskiy, E. V. (2015). Neirosifilis na fone VICH-infektsii [Neurosyphilis in HIV-infected patients]. *Vestnik dermatologii i venerologii*, 2, 49-57. [in Russian]. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2015-0-2-49-57>
- [11] Khammassi, N., Gargoura, A., Abdelhedi, H., Kort, Y., Mabrouk, M., & Cherif, O. (2015). Generalized lymphadenopathy: An unusual presentation of syphilis. *British Journal of Medical Practitioners*, 8(3), a827.
- [12] Krasnoselskikh, T. V., Mikheev, G. N., Grigorian, A. E., Yastrebov V. V., & Sokolovskiy, E. V. (2015). Sluchai tretichnogo sifilisa, proyaivshegosya mnozhestvennymi gummami kozhi [A case of tertiary syphilis manifested with multiple skin gummas]. *Vestnik dermatologii i venerologii*, 2, 84-93. [in Russian]. <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2015-0-2-84-93>
- [13] Loseva, O. K., Zalevskaya, O. V., Zyuzya, Y. U. R. & Stribuk, P. V. (2018). Late neurosyphilis in a patient with pulmonary tuberculosis. *The russian journal of clinical dermatology and venereology*, 4, 35-44. [in Russian]. <https://doi.org/10.17116/klinderma20181704135>.
- [14] Mordovskaya, L. I., Pavlov, N. G., Alekseeva, S. D., Alekseeva, E. A., & Dzhemakulova, N. M. (2016). Lekarstvennaya ustoichivost' mikobakterii tuberkuleza u bol'nykh s sochetannoi infektsiei: tuberkulez i sifilis [Drug resistance of tuberculosis microbacteria among patients with combination of tuberculosis and syphilis]. *Vestnik severo-ostochnogo federal'nogo universiteta imeni M. K. Ammosova*, 3 (04), 49-51. [in Russian].