

Патологія



Том 18, № 3(53), вересень – грудень 2021 р.

Редакційна колегія

Головний редактор – проф. В.О. Туманський
Заступник головного 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. Захаровські (Франкфурт, ФРН)
академік НАМН, чл.-кор. НАН України, проф. Д.Д. Зербіно (Львів)
чл.-кор. РАМН, проф. Л.В. Кактурський (Москва, РФ)
проф. С.М. Кисельов (Запоріжжя)
проф. А.В. Клименко (Запоріжжя)
проф. М.Ю. Колесник (Запоріжжя)
проф. Д. Контогеоргос (Афіни, Греція)
проф. Г.О. Леженко (Запоріжжя)
доц. О.М. Міщенко (Запоріжжя)
проф. Н.С. Михайловська (Запоріжжя)
проф. М.К. Недзьведь (Мінськ, Республіка Білорусь)
проф. С.В. Павлов (Запоріжжя)
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. І.С. Шпонька (Дніпро)

Editorial Board

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

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)
S.M. Kyselov (Zaporizhzhia, Ukraine)
A.V. Klymenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.Yu. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)
G.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
O.M. Mishchenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.K. Nedzved (Minsk, Belarus)
S.V. Pavlov (Zaporizhzhia, Ukraine)
S.V. Petrov (Kazan, RF)
Yu.O. Pospishil (Lviv, Ukraine)
D.H. Rekalov (Zaporizhzhia, Ukraine)
O.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)
O.H. Reznikov (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romaniuk (Sumy, 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 доктора філософії, доктора та кандидата наук. Галузь знань – охорона здоров'я (22); спеціальності: медицина – 222, педіатрія – 228, стоматологія – 221, технології медичної діагностики та лікування – 224 (наказ МОН 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 01.12.2021 р.
Підписано до друку
15.12.2021 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
e-mail: xpresszp@gmail.com
Свідоцтво про державну реєстрацію
АОО №198468 від 01.07.1999 р.
Формат 60x84/8.
☑ Папір крейдяний, безкислотний,
Умов. друк. арк. 6. Тираж 200 прим.
Зам. № 12/21.

Pathologia

Volume 18 No. 3 September – December 2021

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

Захарцева Л. М., Читаєва Г. Є.

Прогностична цінність морфологічних особливостей та проліферативних маркерів (мітотичного індексу, Ki-67, PHH3) у нейроендокринних пухлинах бронхолегеневої локалізації

Коновалова М. О., Михайловська Н. С.

Вплив супутнього анемічного синдрому на клінічний перебіг ішемічної хвороби серця

Рябокоть О. В., Туманська Л. М., Черкаський В. В., Рябокоть Ю. Ю.

Клініко-патоморфологічний аналіз летальних випадків внаслідок COVID-19 у 2020 році

Шпонька І. С., Попович В. І., Усова О. М., Бондаренко О. О., Гаман Ю. В., Щурук Г. З.

Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-COV-2

Колесник Я. В., Брюханова Т. О., Слєпченко М. Ю., Наконечна О. А., Сорокіна О. Г.

Структурно-функціональний стан лімфоцитів крові хворих на інфекційний мононуклеоз із різним його перебігом

Шулятнікова Т. В., Туманський В. О.

Імуногістохімічний аналіз експресії GFAP при експериментальній сепсис-асоційованій енцефалопатії

Коваль С. М., Снігурська І. О., Юшко К. О., Мисниченко О. В., Гальчинська В. Ю.

Особливості складу мікробіоти кишечника у хворих на артеріальну гіпертензію з абдомінальним ожирінням

Ніколаєв М. В.

Білярний рефлюкс після лапароскопічного модифікованого антирефлюксного моноанастомозного шунтування шлунка

Денисенко А. І., Черній В. І.

Періопераційний метаболізм у хворих на вторинний гіперпаратиреоз і способи його корекції

Живецька-Денисова А. А., Воробйова І. І., Скрипченко Н. Я., Толкач С. М., Раздайбєдін С. М., Бондаренко Ю. М.

Плацентарні маркери невиношування вагітності

Данілевська Н. В.

Розлади здоров'я, пов'язані з пандемією COVID-19 і карантинном, у військовослужбовців України

Original research

254 Zakhartseva L. M., Chytaieva H. Ye.

Predictive value of morphological features and proliferative markers (mitotic index, Ki-67, PHH3) in bronchopulmonary neuroendocrine tumors

263 Konovalova M. O., Mykhailovska N. S.

The impact of concomitant anemic syndrome on the clinical course of coronary artery disease

269 Riabokon O. V., Tumanska L. M., Cherkaskyi V. V., Riabokon Yu. Yu.

Clinical and pathomorphological analysis of deaths from COVID-19 in 2020

278 Shponka I. S., Popovych V. I., Usova O. M., Bondarenko O. O., Haman Yu. V., Shchuruk H. Z.

Morphological features of changes in peripheral olfactory structures in SARS-COV-2 coronavirus infection

286 Kolesnyk Ya. V., Briukhanova T. O., Slipechenko M. Yu., Nakonechna O. A., Sorokina O. H.

Structural and functional state of blood lymphocytes in patients with infectious mononucleosis with different course

295 Shulyatnikova T. V., Tumanskyi V. O.

Immunohistochemical analysis of GFAP expression in the experimental sepsis-associated encephalopathy

303 Koval S. M., Snihurska I. O., Yushko K. O., Mysnychenko O. V., Halchynska V. Yu.

The features of the composition of the gut microbiota in patients with hypertension and abdominal obesity

311 Nikolaiev M. V.

Biliary reflux after laparoscopic modified antireflux monoanastomotic gastric bypass surgery

321 Denysenko A. I., Cherniy V. I.

Perioperative metabolism in patients with secondary hyperparathyroidism and methods of its correction

328 Zhyvetska-Denysova A. A., Vorobiova I. I., Skrypchenko N. Ya., Tolkach S. M., Razdaibiedin S. M., Bondarenko Yu. M.

Placental markers of miscarriage

340 Danilevska N. V.

COVID-19 pandemic and quarantine-related health disorders in combatants of Ukraine

Оригінальні дослідження

Яковцова І. І., Чеверда В. М., Долгая О. В., Якименко А. С., Івахно І. В.

Пухлинне брунькування як критерій прогнозу колоректального раку

Демченко А. В., Бірюк В. В.

Вплив нейропротективної терапії на стан когнітивних функцій та оксидативний стрес на ранніх стадіях хвороби Паркінсона

Клінічний випадок

Захарова В. П., Сіромаха С. О., Джолісн Роос-Геселінк В., Кравченко В. І., Давидова Ю. В., Лазоришинець В. В.

Аневризма грудної аорти під час вагітності: морфологічний аналіз 6 випадків

Шоп І. В., Голубкіна Є. О., Тихонова Т. М., Дерієнко Т. А., Аль-Травнех О. В.

Труднощі діагностики фібриляції передсердь і повної атріовентрикулярної блокади в пацієнтів старечого віку

Original research

346 Yakovtsova I. I., Cheverda V. M., Dolhaia O. V., Yakymenko A. S., Ivakhno I. V.

Tumor budding as a prognostic criterion of colorectal cancer

352 Demchenko A. V., Biriuk V. V.

Impact of neuroprotective therapy on cognition and oxidative stress in the early stages of Parkinson's disease

Case report

356 Zakharova V. P., Siromakha S. O., Jolien Roos-Hesselink W., Kravchenko V. I., Davydova Yu. V., Lazoryshynets V. V.

Thoracic aortic aneurysm in pregnancy: morphological analysis of 6 cases

365 Shop I. V., Holubkina Ye. O., Tykhonova T. M., Deriyenko T. A., Al-Trawneh O. V.

Diagnosis difficulties in elderly patients with atrial fibrillation and complete atrioventricular block

Міжнародна індексація журналу / Indexing

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

Ulrich's Periodicals Directory (США)

WorldCat (США): http://www.worldcat.org/title/pathologia/oclc/260006269&referer=brief_results

The National Library of Medicine (США): https://catalog.nlm.nih.gov/discovery/fulldisplay?docid=alma9914709443406676&context=L&vid=01NLM_INST:01NLM_INST&lang=en&search_scope=MyInstitution&adaptor=Local%20Search%20Engine&tab=LibraryCatalog&query=any.contains.Pathologia&offset=0

The National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101470944>

WORLDWIDE ELIBRARY(США): <http://www.sciary.com/journal-scientific-pathology-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=dresde&newsearch=1>

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



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

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 (Велика Британія): <https://doaj.org/toc/2310-1237>

Predictive value of morphological features and proliferative markers (mitotic index, Ki-67, PNH3) in bronchopulmonary neuroendocrine tumors

L. M. Zakhartseva ^{1,2,A,C,E}, H. Ye. Chytaieva ^{*2,A,B,C,D,F}

¹Kyiv City Clinical Oncological Center, Ukraine, ²Bogomolets National Medical University, Kyiv, 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:

lung neuroendocrine tumors, morphology, immunohistochemistry, mitotic index, necrosis, Ki-67, PNH3, metastases, survival rates.

Pathologia
2021; 18 (3), 254-262

*E-mail:
h.chytaieva@gmail.com

The aim of this study was to evaluate relations of mitotic index (MI), necrosis, IHC proliferative markers Ki-67 and PNH3, and their predictive value for lung neuroendocrine tumors (NETs) aggressiveness.

Materials and methods. The study used surgical and biopsy material from 64 patients with lung NETs before chemotherapy prescribing. Morphological study and IHC was performed. MI, necrosis, Ki-67 and PNH3 expression and metastatic disease and survival were estimated using nonparametric statistics.

Results. Statistically significant association of necrosis severity and survival rates was found ($P = 0.021$). This was true for comparing patients with no necrosis in tumor tissue and extensive foci of necrosis ($P = 0.023$). MI appeared to be associated with metastases in lymph nodes ($P = 0.003$) and with distant metastatic lesions ($P = 0.029$). Significant, direct association of Ki-67 and MI ($P < 0.001$), MI and PNH3 expression ($P < 0.001$) was found. However, there was no significant link between Ki-67 and PNH3 rates ($P = 0.240$). Ki-67 didn't show any significant association with necrosis and metastases. Also, Ki-67 rates didn't affect the patient survival. Data on PNH3 expression and their estimation appeared to be rather contradictory. PNH3 expression rates were lower than expected and did not exceed neither Ki-67 rates, nor MI.

Conclusions. MI and necrosis are reliable markers for the assessment of lung NETs aggressiveness. MI is statistically associated with metastatic lesion, while extensive necrosis – with survival rates. Ki-67 expression was significantly associated with MI. No significant association of Ki-67 and PNH3 expression, tumor's morphological features, disease progression and prognosis was found. Contrary to our expectations, PNH3 showed no diagnostic and prognostic value in lung NETs.

Ключові слова:
нейроендокринні пухлини легень, морфологія, імуногістохімія, мітотичний індекс, некроз, Ki-67, PNH3, метастази, показники виживаності.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 254-262

Прогностична цінність морфологічних особливостей та проліферативних маркерів (мітотичного індексу, Ki-67, PNH3) у нейроендокринних пухлинах бронхолегеневої локалізації

Л. М. Захарцева, Г. Є. Читаєва

Мета роботи – оцінювання зв'язку мітотичного індексу (MI), некрозу, імуногістохімічних (ІГХ) маркерів проліферації Ki-67, PNH3 та їхньої цінності як предикторів агресивності нейроендокринних пухлин (НЕП) легень.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили, використавши операційний і біопсійний матеріал, що отримали від 64 пацієнтів із НЕП легень до призначення їм хіміотерапії. Виконали морфологічне та ІГХ дослідження. MI, вираженість некрозу, експресію Ki-67 і PNH3, метастатичні ураження та виживаність хворих оцінювали за допомогою методів непараметричної статистики.

Результати. Виявили статистично вірогідний зв'язок між вираженістю некрозу та виживаністю пацієнтів ($p = 0,021$). Це стосувалося порівняння груп хворих без вогнищ некрозу у тканині пухлини та з екстенсивними вогнищами некрозу ($p = 0,023$). MI достовірно пов'язаний із наявністю метастазів у лімфатичних вузлах ($p = 0,003$) і віддалених метастазів ($p = 0,029$). Визначили значущий прямий зв'язок між рівнем Ki-67 і MI ($p < 0,001$), MI та експресією PNH3 ($p < 0,001$). Але не виявили вірогідний зв'язок між рівнями Ki-67 і PNH3 ($p = 0,240$), як і між Ki-67, наявністю вогнищ некрозу та метастазів. Рівень Ki-67 також не впливав на виживаність пацієнтів. Експресія PNH3 та результати її оцінювання виявилися доволі неоднозначними. Рівень експресії PNH3 нижчий, ніж очікуваний, не перевищував такий для Ki-67 і MI.

Висновки. MI та некроз – надійні маркери оцінювання агресивності НЕП легень. MI статистично вірогідно пов'язаний із наявністю метастатичного ураження, а екстенсивний некроз – із показниками виживаності. Ki-67 вірогідно пов'язаний із MI. Не виявили вірогідний зв'язок між експресією Ki-67 і PNH3, а також рівнем Ki-67 і морфологічними особливостями пухлини, прогресією захворювання та прогнозом. Усупереч нашим припущенням, PNH3 при НЕП легень не є діагностичним або прогностичним чинником.

Прогностическая ценность морфологических особенностей и пролиферативных маркеров (митотического индекса, Ki-67, PNH3) в нейроэндокринных опухолях бронхолегочной локализации

Л. М. Захарцева, Г. Е. Читаева

Цель работы – оценка связи митотического индекса (МИ), некроза, иммуногистохимических (ИГХ) маркеров пролиферации Ki-67, PNH3 и их ценности как предикторов агрессивности нейроэндокринных опухолей (НЭО) лёгких.

Материалы и методы. Исследование провели с использованием операционного и биопсийного материала, полученного от 64 пациентов с НЭО лёгких до назначения им химиотерапии. Выполнили морфологическое и ИГХ исследование. МИ, выраженность некроза, экспрессию Ki-67 и РННЗ, метастатическое поражение, выживаемость пациентов оценивали с помощью методов непараметрической статистики.

Результаты. Установлена статистически достоверная связь между выраженностью некроза и выживаемостью больных ($p = 0,021$). Это касалось групп пациентов без очагов некроза в ткани опухоли и с наличием экстенсивных очагов некроза ($p = 0,023$). МИ достоверно связан с наличием метастазов в лимфатических узлах ($p = 0,003$) и отдалённых метастазов ($p = 0,029$). Выявлена значимая прямая связь между уровнем Ki-67 и МИ ($p < 0,001$), МИ и экспрессией РННЗ ($p < 0,001$). Однако не было достоверной связи между уровнями Ki-67 и РННЗ ($p = 0,240$), как и между Ki-67, наличием очагов некроза и метастазов. Уровень Ki-67 также не влиял на выживаемость пациентов. Экспрессия РННЗ и результаты ее оценки оказались довольно неоднозначными. Уровень экспрессии РННЗ был ниже, чем ожидаемый, не превышал таковой для Ki-67 и МИ.

Выводы. МИ и некроз – надёжные маркеры оценки агрессивности ПЭО лёгких. МИ статистически достоверно связан с наличием метастатического поражения, а экстенсивный некроз – с показателями выживаемости. Ki-67 достоверно связан с МИ. Не установлена достоверная связь между экспрессией Ki-67 и РННЗ, а также уровнем Ki-67 и морфологическими особенностями опухоли, прогрессией заболевания и прогнозом. Вопреки нашим предположениям, РННЗ при НЭО лёгких не является диагностическим и прогностическим критерием.

Ключевые слова: нейроэндокринные опухоли лёгких, морфология, иммуногистохимия, митотический индекс, некроз, Ki-67, РННЗ, метастазы, показатели выживаемости.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 254-262

Neuroendocrine tumors (NETs) are regarded as rare cancers with a reported incidence of 5–7 per 100.000 population per year and estimated prevalence of 35 per 100.000 [1]. Bronchopulmonary NETs account for 12 % of all NETs and, according to recent studies, make about 20 % of all primary lung neoplasms [2–6]. The annual incidence of lung NETs has substantially increased (in average by 4.5 times) over the past 30 years, mainly due to improvements in detection methods and diagnostic protocols [7].

Lung NETs share neuroendocrine differentiation, but they have heterogeneous morphological, immunohistochemical (ICH) and molecular characteristics and considerably different clinical and biological behavior [8,9].

Bronchopulmonary NETs encompass four histologic subtypes: TC, AC, LCNEC, and SCLC, with large prevalence of high-grade tumors over carcinoids [4,5,10,11]. TC is considered a low-grade malignant tumor with longer life expectation and time to recurrence, although it also can metastasize. AC is deemed to be an intermediate malignant tumor with more aggressive clinical course, and somewhat unpredictable clinical behavior. LCNEC and SCLC are high-grade malignancies with dismal prognosis [8].

Current classification of bronchopulmonary NETs has its own lights and shadows [12]. The differential diagnosis for subtypes of lung NETs is based on two parameters only: the presence/absence of necrosis and the mitotic index per 2 mm². A diagnosis of TC is made when the tumor does not show necrosis and the mitotic count is <2 mitosis per 2 mm²; the AC shows up with necrosis and/or a number of mitosis between 2 and 10 per 2 mm², while high-grade poorly differentiated carcinomas (LCNEC and SCLC) have >10 mitosis per 2 mm² and usually present extensive necrotic areas. Focal necrosis in total doesn't make up 20 % of the sample, while extensive necrosis exceeds 50 % of the area [11].

Tumor necrosis is recognized to be a consequence of chronic cellular hypoxia. And both these factors (hypoxia and necrosis) correlate with poor prognosis in some tumors. The extensive necrosis reflects an aggressive tumor phenotype, however, its prognostic value in most cases remains unknown [13]. LCNEC and SCLC, commonly have histopathological features of tumor necrosis. And

according to recent studies, high proportion of tumor necrosis (≥ 10 %) has a negative prognostic value in high grade lung NETs [14].

Also, a wide constellation of cellular and architectural features is assessed, and ICH markers are applied. But mentioned morphological features and markers' expression are not monitored constantly, especially in small and crushed biopsy specimens [11, 15].

WHO's classification for NETs of the digestive system was updated in 2019, while for the bronchopulmonary NETs, due to many inconsistencies and disagreements among researchers, the classification 2015 is still in use. Imperfect diagnostics may lead to a late diagnosis and a disappointing prognosis. Moreover, the majority of lung NETs (over 95 %), are non-functional and consequently the presentation may be incidental or related to metastatic disease [1,2]. More than 20 % of lung NETs present as metastasis, typically to liver and/or bone. The median survival of stage IV bronchopulmonary tumors is about 17 months and less [3,16].

In this situation, it is very important to find reliable predictive factors for lung NETs behavior assessment. And many of them are seemed to be associated with tumor cell proliferation [17,18].

This indicator is very important tool for evaluating the biological characteristics of a malignancy. If the proliferative index is high, it means that the tumor is faster growing or rather aggressive. But despite exhausting amount of literature, the translation of proliferation assessment into daily routine has largely failed [19]. Cell proliferation kinetics depends on the type/subtype of the malignancy, the cell cycle duration, the proportion of proliferating cells, etc. [20]. Using different methods for proliferation assessment also contributes to this confusion. However, researchers do not abandon attempts to estimate the proliferative potential of malignant cells, and in some cases they manage to reveal the significant predictive value of the mitotic index (MI), and ICH proliferation markers (e.g. Ki-67, PHH3, etc.) [21–24].

MI is considered as one of the essential factors for determining the histological grade in different cancers [25,26]. But it also has certain limitations that are due to the heterogeneity of the tumor, used calculation method. Also, the apoptotic bodies or crushed cells may mimic

K-mitoses that falsify counting results [27,28]. Moreover, mitosis counting is rather subjective and time-consuming [29].

Ki-67 may be a potent tool for easy and quick evaluation of the proportion of proliferating cells in a tumor [16]. Ki-67 (proliferation index) is widely used in routine pathological investigation. It is considered "golden standard" in IHC and employed in assessing tumor aggressiveness [30–32]. Although, Ki-67 has been extensively investigated in different cancers, in fact it has not gained widespread clinical acceptance. There is an opinion that no diagnostic role is currently supported in lung NETs for Ki-67 labeling index because of the significant overlap between tumor categories [32,33].

The rate of cellular proliferation counted using MI on H&E slides or proliferative index Ki-67 in ICH is a reflection of tumor cell division. But these parameters measure different phases of the cell cycle, and there is lack of standardized methodology and interobserver variation. Despite all these drawbacks, multiple studies have shown a good correlation between Ki-67 and MI in many neoplasms [34,35]. Moreover, due to some studies, MI can be helpful in prognosis predicting, for instance, in bronchopulmonary NETs is associated with metastatic lesion [21,22,25].

Phosphohistone H3 (PHH3) is relatively new ICH marker which is applied for the objective detection of mitotic activity in different tumors. It allows to identify mitoses, easily-missed by ordinary mitotic count, and is considered more reliable and reproducible than Ki-67 [36–38]. It can help in accurate assessment of tumor cells' proliferation with a perfect agreement among observers, and also it is less time consuming than that on H&E [23,24,39].

IHC findings for the PHH3 have been shown to be reliable mitosis-specific marker in different cancers [40,41]. Some studies emphasize that PHH3 can be used for prediction of metastatic lesions [23] and survival [41].

It is believed that the tumor's histological grade could be assessed more accurately using PHH3, but it would result in increasing proportion of high-grade cancers [41].

But in different tumors, the diagnostic and prognostic value of the MI and proliferative markers Ki-67 and PHH3 varies significantly [38]. And data of PHH3 diagnostic and prognostic value in lung NETs are vastly limited [37].

The lack of strong diagnostic and prognostic criteria significantly complicate the assessment of lung NETs clinical behavior and prognosis. Thus, simple and accurate diagnostics and assessment of proliferation markers predictive value seems to be of essential importance. Also, some morphological features might assist the prediction of prognosis [6].

Aim

Taking into account the inconsistency of the literature data, in the current study we aimed to check if there is a significant correlation between tumor cells division, measured by MI and other proliferation markers (Ki-67 and PHH3), and their impact on the lung NETs aggressiveness. And additionally – whether necrosis used in staging lung NETs has a prognostic value.

Materials and methods

Retrospective and prospective study was conducted. 64 FFPE blocks with lung NETs (resections and biopsies) were chosen randomly from 113 unique patients, treated in Kyiv City Clinical Oncological Center in 2010–2020. Morphological diagnosis was established (including neuroendocrine morphology, grade, TNM, and stage); all cases were classified based on criteria used by 2015 WHO modified classification for lung NETs. Necrosis was detected on H&E slides. TC has no necrosis; in AC small foci of necrosis could be revealed; high-grade NETs usually performed lots of small necroses or extensive necrotic fields, often with hemorrhages. Mitotic count was performed on H&E stains, and MI was considered the average mark per 10 HPFs. Also, ICH was performed (ChrA, Syn, TTF-1, CK7, CK20, CD56, Ki-67 and PHH3) before chemotherapy was prescribed. In current study we mainly focused on necrosis and MI, Ki-67 and PHH3 expression.

All morphological and IHC data were assessed by two different independent pathologists without the knowledge of patient data. Medical records data were used to assess clinical findings and patient survival.

The study was agreed with the commission on bioethical examination of Bogomolets National Medical University (protocol No. 118, 18 Jan 2019).

To determine ICH markers' expression we used anti-Ki-67 monoclonal antibody, clone MIB-1 (Dako, USA), and rabbit polyclonal PHH3 (Diagnostic Biosystems, USA).

Only nuclear ICH staining for Ki-67 and PHH3 was considered. For each sample, 5 microscopic fields at $\times 200$ magnification were selected, and 100 tumor cells in each field were counted to assess the percentage of positive cells.

Samples with Ki-67 ≤ 3 % was considered grade 1 (TC); Ki-67 4–19 % corresponded grade 2 (AC); Ki-67 ≥ 20 % was estimated as grade 3 (LCNEC and SCLC).

PHH3 expression was estimated on the same FFPE blocks and compared with MI, Ki-67 level, necrosis extent and severity and metastases presence. Also, there was an attempt to evaluate patient survival depending on MI, Ki-67 and PHH3 rates.

Microsoft Excel was used for all calculations. Statistical analysis was performed using IBM SPSS software Statistics 28 (license No. Z125-3301-14).

MI, Ki-67 and PHH3 distribution was investigated using nonparametric tests (Kruskal–Wallis test, Mann–Whitney test, Spearman's rank correlation). 95 % CI was calculated using adjusted Wald method. Kaplan–Meier estimator and log-rank test were used for survival analysis, survival median, 25th and 75th percentiles and one-year survival rate were calculated.

Results

The patients age ranged from 29 to 76 years, the male (M) / female (F) ratio was 3.92 vs 1.00. There were 7 (10.94 %) patients (5 M/2 F) aged 18–44 years; 19 (29.69 %) (13 M/6 F) aged 45–59 years; and 37 (57.81 %) (32 M/5 F) patients aged 60–74 years; there was 1 man in a group ≥ 75 years old.

The sample was censored. The follow-up period varied significantly – from 11 days to 7.11 years, the average observation period was 8.9 months. The outcome could not be traced in 15 (23.00 %) cases. 17 (26.56 %) patients died, their life expectancy after diagnosis averaged 12.2 months. Due to medical records, at the end of observation period 32 (50 %) were alive; in this case the follow-up period also varied significantly and averaged 7.1 months.

At the time of diagnosis metastases in lymph nodes were found in 48 (75.00 %) patients, in 11 (22.92 %) of them lymphoma was the preliminary clinical diagnosis. 26 (40.63 %) patients had distant metastases. In 11 (17.19 %) cases local or distant metastatic lesions were not identified clearly. *Fig. 1* shows the distant metastatic lesions in details.

Surgery specimen were available in 23 (35.94 %) cases, other 41 (64.06 %) were biopsies and 21 (51.22 %) of them were rather small, with extensive crush artifact.

All the cases were showing features of neuroendocrine architecture: “nests”, “rosettes” and trabeculae and were positive for one or more neuroendocrine markers, other than NSE. Based upon diagnostic criteria, of the 64 selected cases 1 (1.56 %) was estimated as TC, 8 (12.5 %) were AC, 19 (29.69 %) were LCNEC, and 36 (56.25 %) SCLC.

Data on morphological features, MI, Ki-67 and PHH3 expression are given in *Table 1* and *Fig. 2A–D*. G2 and G3 tumors are mentioned since in the current study there was just one case of G1 tumor (T2N0M0, stage IB, lung NET of the lower lobe on the right). This tumor did not perform necrosis, MI was 0.4 (4 mitoses in 10 HPFs), Ki-67 was 2 % and PHH3 expression was estimated 2 %.

G2 NETs were diagnosed in 22 (34.38 %) cases, G3 – in 41 (64.06 %). In G2 tumors there were 7.86 mitoses per 10 HPFs (in average), in G3 – 22.12. The average Ki-67 was 12.09 % in AC NETs and 50.24 % – in high-grade tumors; PHH3 averaged 10.36 % and 12.34 %, respectively. Lymph node metastases at the moment of diagnosis were found in 68.18 % patients with G2 lung NETs and in 87.80 % – with G3 neoplasms; distant metastatic lesions were present in 31.82 % and 46.34 % cases. 31.82 % G2 NETs had no necrosis, 36.36 % performed small necrotic foci, 31.32 % – extensive necroses. Necrosis was not found in 19.51 % of G3 NETs; small foci were present in 29.27 % tumors, and 51.22 % of them extensive necrotic areas were revealed.

MI varied significantly and ranged from 1 to 81 in G2 tumors and from 1 to 114 in G3 NETs. At the same time, the averaged MI in AC appeared to be much lower than in high-grade neuroendocrine carcinomas (7.86 vs 22.12, respectively). However, in some cases it was rather difficult to distinguish K-mitoses and apoptotic bodies from each other, which caused confusion in MI assessment.

Ki-67 level ranged within 2–100 %. Ki-67 expression ≤ 3 % was observed just in 1 (2 %) tumor sample (T2N0M0); Ki-67 4–19 % – in 22 (34.38 %); Ki-67 ≥ 20 % – in 41 (64.06 %) cases. Necrosis was found in 75.00 % of tumor samples, and in 43.75 % it was extensive. According to Mann–Whitney test, the difference between that groups was significant, $P = 0.02$. So, Ki-67 may reflect the tumor’s grade, but it is not enough for distinguishing the subclasses of lung NETs in a significant manner.

Modified classification for lung NETs diagnostics includes necrosis characteristics and Ki-67 rates. As a rule, in G2 tumors several small foci of necrosis are found, but in G3 malignancies necrotic areas can be extended and accompanied by massive hemorrhages. However, in current study Ki-67 expression did not differ for groups with different necrosis severity (Kruskal–Wallis test, $P = 0.200$).

Data on PHH3 expression and its estimation appeared to be rather contradictory. PHH3 expression was lower than expected and did not exceed neither Ki-67 rates, no MI.

Statistically significant, direct association of Ki-67 and MI (Spearman rank correlation $\rho = 0.441$, $P < 0.001$) also MI and PHH3 expression ($\rho = 0.620$, $P < 0.001$) was found (*Fig. 3*). However, there was no statistically significant link between Ki-67 and PHH3 rates ($P = 0.217$).

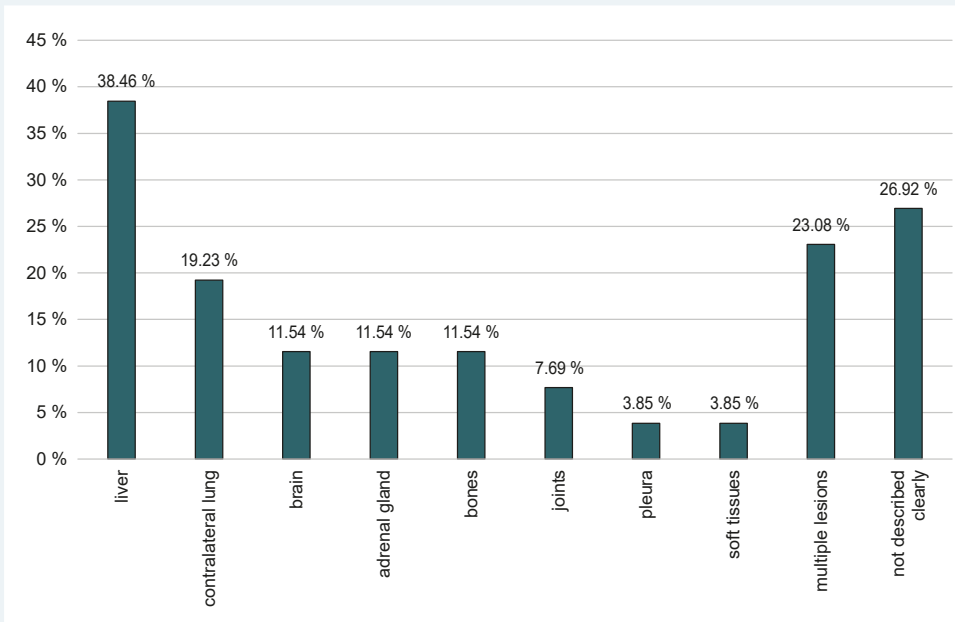
There was no significant association of MI and necrosis (Mann–Whitney test, $P = 0.504$) and its severity (Kruskal–Wallis test, $P = 0.226$). But MI appeared to be associated with metastases in lymph nodes (Mann–Whitney test, $P = 0.003$) and with distant metastatic lesions (Mann–Whitney test, $P = 0.029$) (*Fig. 4*). At 0–6 mitoses per 10 HPFs the probability of metastases in lymph nodes amounted 62 % (95 % CI: 42–78 %); at ≥ 7 mitoses per 10 HPFs – 97 % (95 % CI: 83–99 %); at ≥ 15 mitoses per 10 HPFs it reached 100 % (95 % CI: 87–100 %). The probability of distant metastatic lesion was 32 % at ≤ 10 mitoses per 10 HPFs (95 % CI: 54–83 %); at ≥ 10 mitoses per 10 HPFs – 59 % respectively (95 % CI: 41–75 %); and at ≥ 40 mitoses per 10 HPFs it reached 86 % (95 % CI: 47–99 %) (*Fig. 5*). However, MI did not affect the survival rates ($P = 0.062$).

Ki-67 didn’t show any significant association with necrosis (Kruskal–Wallis test, $P = 0.200$) and metastatic lesion (Mann–Whitney test, $P = 0.065$ for local and $P = 0.135$ – for distant metastases). Also, Ki-67 level didn’t affect the patient survival.

And despite literature data and our expectations PHH3 also didn’t show any significant association with studied morphological indicators. Neither with necrosis ($P = 0.750$), and its severity ($P = 0.896$), nor with regional and distant metastases ($P = 0.283$ and $P = 0.700$, respectively). In the current study PHH3 expression did not affect the survival rates also.

Statistically significant relationship of necrosis severity and survival rates was found (log-rank test, $P = 0.021$) (*Table 2*). We divided all cases into three groups depending on the necrosis severity: mark 0 – tumors without necrosis; 1 – with small foci of necrosis and 2 – with extensive necrotic foci. There were no significant differences in patient survival in groups 0 and 1 ($P = 0.365$) and in groups 1 and 2 ($P = 0.054$). But association of necrosis and survival was significant for groups 0 and 2 (for those with no necrosis in tumor tissue and extensive foci of necrosis) ($P = 0.023$).

Median survival for group 0 was not determined (since more than half of the patients were censored). In group 1 (mild necrosis) the median survival was significantly longer (85 months) than in group 2 (extensive necrosis) (9 months). As group 0 was censored, the 75th percentile was used to compare the survival time (i.e. the time that 75 % of patients will survive). For groups 0, 1, and 2, the 75th percentile was 14, 8, and 3 months, respectively



1 Fig. 1. Distant metastases at the moment of diagnosis of lung NETs (26 cases).

Fig. 2A. SCLC. Extended necrosis and hemorrhages in the tumor tissue. Stained H&E, ×200.

Fig. 2B. LCNEC. Karyorrhexis, K-mitoses and several scattering mitoses in the field of view. Stained H&E, ×400.

Fig. 2C. PHH3 staining in LCNEC, ×400.

Fig. 2D. Ki-67 staining in lung NET (G3), ×400.

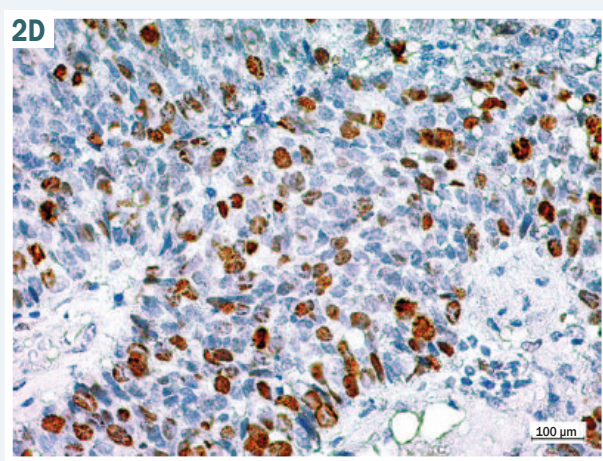
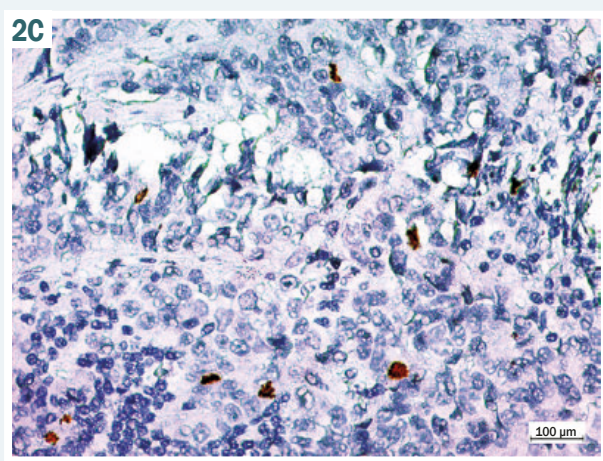
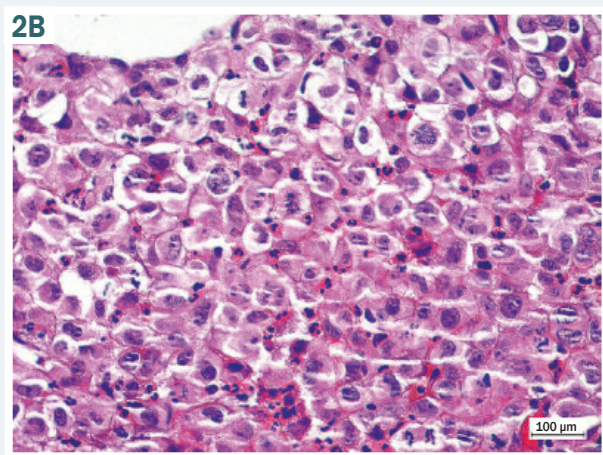
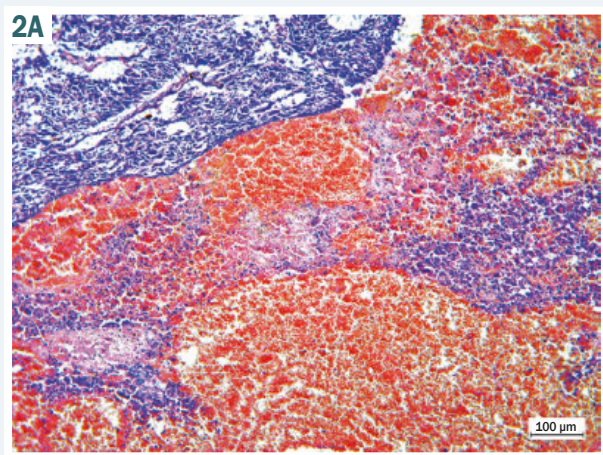


Table 1. Descriptive statistics for MI, Ki-67 and PHH3

Indicator	Median	25 th percentile	75 th percentile	Standard deviation	Range	Min	Max
Mitoses per 10 HPFs	10.5	3.25	27.75	23.4	114	0	114
Ki-67	30	15	53.75	26.4	98	2	100
PHH3	8.0	3.25	14.75	11.1	49	1	50

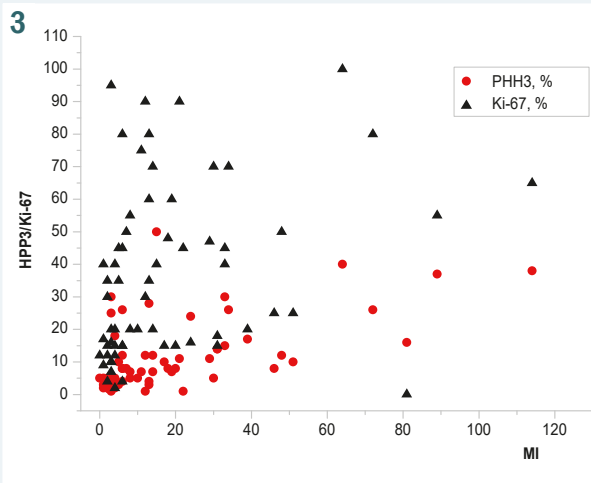
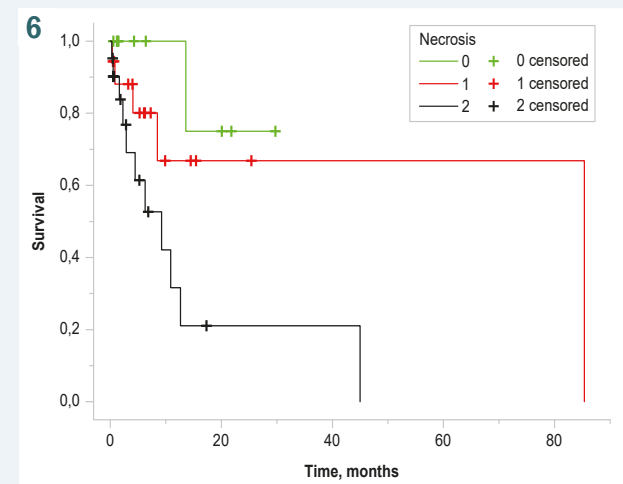
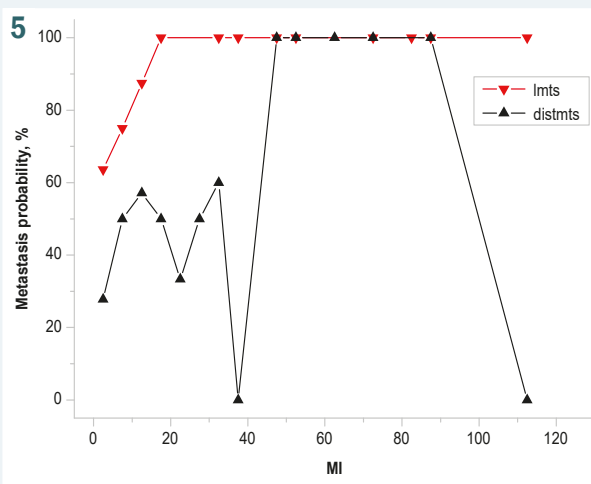
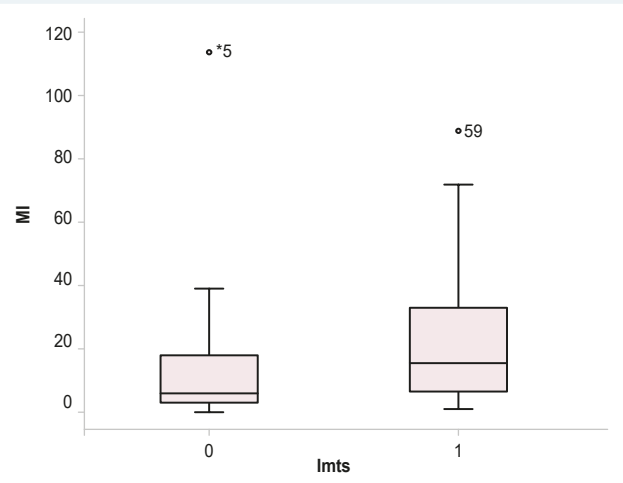
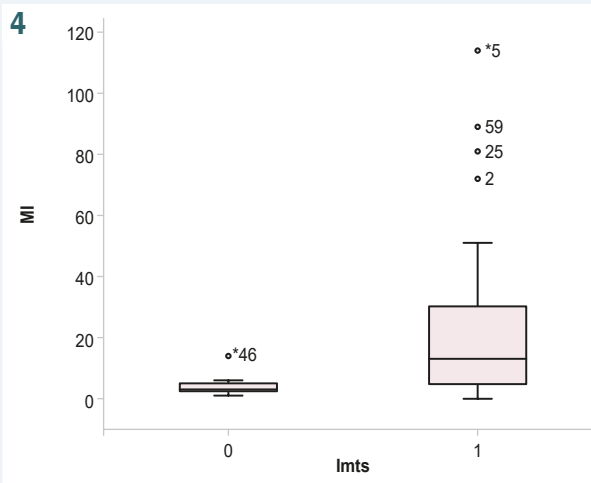


Fig. 3. The graph shows the links of Ki-67 and PHH3 expression (in red), and MI and Ki-67 (in black color).

Fig. 4. Box-plot association of MI and metastatic lesion (without (0) metastases and with metastases (1)) regional – on the left and distant – on the right. Bold line is the median; the bottom and the top of the box are 25th and 75th percentiles respectively; the bottom and the top of the vertical line are the minimal and the maximal values, excluding outliers and extreme values; circles – are outliers, asterisks – extreme values).

Fig. 5. The probability of regional and distant metastatic lesion at different MI rates.

Fig. 6. Survival curves for groups: 0 – no necrotic areas; 1 – small foci of necrosis; 2 – extensive necrosis.



(Fig. 6). One-year survival rate was 100 % in group 0, 67 % – in group 1, and 32 % – in group 2, respectively.

Discussion

Data on lung NETs frequency and their subtypes proportion are contradictory: according to different authors, bronchopulmonary NETs comprise about 2–25 % of all

Table 2. Necrosis severity and percentile for cumulative survival (months)

Necrosis	Percentile		
	25.0 %	50.0 %	75.0 %
0 (no necrotic areas)			
1 (small foci of necrosis)	85.370		82.370
2 (extensive necrosis)	12.630	13.775	9.230
Total	45.000	26.600	13.600

lung neoplasms; their subtypes ratio also varies [6,7,11]. It is believed, that about 9 out of 10 lung carcinoids are typical carcinoids, but we received the opposite data. In the current study we had 1 TC and 22 AC that amounted 4.35 % and 95.65 % of all carcinoids, respectively. In the whole sample (113 cases) there was 1 (2.86 %) TC and 34 (97.14 %) AC.

Assessment of NETs morphological features (i.e. mitotic activity, necrosis that are necessary for modern classification) is not sufficient and is usually difficult in small biopsies, which accounts about 70 % of specimens. IHC markers, widely used in oncomorphology, also give ambiguous results [12,29,32]. There are several publications in this field, and often their results contradict each other. Also, it is inappropriate to extrapolate results of studies on other tumor types to NETs with their specific morphology and behavior. Thus, an adequate, full-fledged diagnostics in bronchopulmonary NETs, using only morphological or just modern IHC markers is impossible. An integrated approach is needed.

In the current study we focused on the most significant morphological parameters and indicators of mitotic activity that could be helpful in assessment of the tumor aggressiveness and the disease prognosis.

Necrosis appeared to be rather confusing indicator. In fact, it's difficult to assess necrosis correctly in small and crashed biopsies. On the other hand, almost 32 % of AC and 20 % of high-grade lung NETs did not show necrosis. But extensive necrosis much more often was detected in G3 malignancies (51.22 % cases). Moreover, severe necrosis was associated with survival rates. For groups 0 (no necrosis), 1 (small foci of necrosis), and 2 (severe necrosis), the 75th percentile was 14, 8, and 3 months. While calculating the median, percentiles and one-year survival, we meant the cumulative survival. In fact, in the group 2 (extended necrosis), only one patient lived up to 7.08 years (85 months). In total there were 21 patients in group 2, and 11 of them died, but due to censored patients at the later stages of the follow-up, the weight of this one case became significant). One-year survival rate was 100 % in group 0, 67 % – in group 1, and almost half as much in group 2 – 32 %. So, necrosis assessment confirmed this indicator predictive value for lung NETs. But obtained results could be affected by wide use of small biopsies and chemotherapy prescribing to some patients (different protocols and number of courses).

Mitoses usually are not assessed accurately in routine practice. MI count is time consumable and requires certain experience. And the counting results are not always reliable, since visually mitoses can be easily confused with apoptotic bodies, macrophages, etc. And it is rather problematic to assess this indicator in small biopsies. In lung NETs MI ranged significantly – from 0.1 to 8.1 in AC and from 0.1 to 11.4 in G3 NETs. The largest number of mitoses (often pathological, including scattering) was detected in LCNEC; MI was rather high – up to 11.4 that is consistent with the data of other studies [9]. In the current study MI was significantly associated with Ki-67 and PHH3 rates ($P < 0.001$) and also with metastatic lesion ($P < 0.003$) but didn't affect the survival rates.

Thus, mitoses and necrosis in lung NETs should be estimated at the same time: one of these indicators is related significantly to metastases, another one – to survival rates.

As mitotic count is proportional to Ki-67, it is important to understand if Ki-67 can complement the existing diagnostic guidelines, as well as discover the benefit of these two markers to unravel the biological heterogeneity of primary thoracic NETs. Ki-67 is considered a “golden standard” in ICH and widely used in pathomorphology. The recent WHO classification mentions that Ki-67 rates might have a role in stratifying lung NETS, but it is not officially required. The role of Ki-67 in lung NETs has been widely studied with potential diagnostic, prognostic and grading implications. Since lung NETs may have similar histology but different clinical behavior. But the obtained results are very mixed. In some studies Ki-67 diagnostic role has been denied, except using it for separation of low and high-grade bronchopulmonary NETs, especially on biopsy samples with crush artifacts. Ki-67 predicting role for short-time and overall survival also is a controversial issue [8,42]. We used Ki-67 rates as an adjunct tool for tumors subtyping. Statistically significant direct association between Ki-67 expression and MI was found. Overall, Ki-67 showed better results than PHH3. But current study didn't reveal any significant association of Ki-67 and PHH3 expression, tumor's morphological features, disease progression and prognosis.

PHH3 is a mitotic-specific marker whose value has been validated in several tumor types [24]. In the current study PHH3 index was significantly associated with MI. PHH3 staining highlights mitotic cells and makes easier of rapid grading by driving pathologist's attention on the most mitotically active areas [28]. This ICH marker is easy to use, offers reduced time and improves interobserver reproducibility in mitotic rate assessment. But contrary to data of literature and our expectations PHH3 didn't show any statistically significant links with necrosis, metastasis and survival. Perhaps this is due to use of different methods for PHH3 assessing in different studies. Also, the obtained results could be affected by some limitation of the current study: rather small sample, ratio of different subtypes of lung NETs. So, we can't recommend PHH3 as an additional predictive marker for lung NETs. Some other reliable and easy diagnostic and prognostic features should be considered in lung NETs.

In our study PHH3 staining was not a strong and robust prognostic factor in lung NETs (like Ki-67).

The current study suggests that morphological features remain the main reliable diagnostic and prognostic tool in lung NETs. They are significantly associated with some ICH markers which are very easy to use, however, the results of these studies cannot be interpreted univocal. This may be due to small number of observations, significant heterogeneity of tumors and their irregular clinical behavior, as well as the lack of unified methods for assessing of IHC markers expression. Apparently, the solution to the problem lies in the use of the correct combination of morphological parameters and ICH markers, which will allow to make an accurate diagnosis and reliable prognosis.

Conclusions

1. The results of our study confirm the diagnostic and prognostic value of MI and necrosis in lung NETs. Mitotic index is statistically associated with regional and distant metastatic lesion, extensive necrosis – with survival rates. Ki-67 expression was significantly associated with mitotic index.

2. There was no significant association of Ki-67 and PHH3 expression, tumor's morphological features, disease progression and prognosis. And contrary to our expectations, promising marker PHH3 had no diagnostic and prognostic value. However, difficulties arise when interpreting the results of expression of IHC markers of proliferation; theory is not always confirmed in practice. Perhaps this is due to the rarity of pathology, insufficient number of studies, and lack of a unified assessment system.

3. Results, obtained for PHH3 is difficult to compare with other studies due to use of different methods for this marker evaluating.

4. Morphological criteria alone are not enough; full diagnostics and prognosis should also consider tumors' IHC profile.

Further large-scaled prospective studies with standardized methods of PHH3 measuring are required to overcome the limitations of current study and check the utility of PHH3 as a predictive marker for metastatic lesion and as a prognostic tool in bronchopulmonary NETs.

Funding

The current study was performed as part of research work "Development of histological and molecular-biological criteria for differential diagnosis of tumors and precancerous changes in organs and their prognostic value" (state registration No. 0119U101131).

Acknowledgement

To Inna Vasylenko for consulting assistance in the statistical processing of the research results.

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

Надійшла до редакції / Received: 03.09.2021
Після доопрацювання / Revised: 29.10.2021
Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2021

Information about authors:

Zakhartseva L. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Bogomolets National Medical University; Kyiv City Clinical Oncological Center, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6838-9970](https://orcid.org/0000-0001-6838-9970)

Chytaieva H. Ye., Assistant of the Department of Pathological Anatomy, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0001-9171-9237](https://orcid.org/0000-0001-9171-9237)

Відомості про авторів:

Захарцева Л. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця; Київський міський клінічний онкологічний центр, Україна.

Читаєва Г. Є., асистент каф. патологічної анатомії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Сведения об авторах:

Захарцева Л. М., д-р мед. наук, профессор, каф. патологической анатомии №, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца; Киевский городской клинический онкологический центр, Украина.

Читаева Г. Е., ассистент каф. патологической анатомии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

References

- Basuroy, R., Bouvier, C., Ramage, J. K., Sissons, M., & Srirajaskanthan, R. (2018). Delays and routes to diagnosis of neuroendocrine tumours. *BMC cancer*, 18(1), 1122. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5057-3>
- Oronsky, B., Ma, P. C., Morgensztern, D., & Carter, C. A. (2017). Nothing But NET: A Review of Neuroendocrine Tumors and Carcinomas. *Neoplasia*, 19(12), 991-1002. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.09.002>
- Riihimäki, M., Hemminki, A., Sundquist, K., Sundquist, J., & Hemminki, K. (2016). The epidemiology of metastases in neuroendocrine tumors. *International journal of cancer*, 139(12), 2679-2686. <https://doi.org/10.1002/ijc.30400>
- Hung Y. P. (2019). Neuroendocrine Tumors of the Lung: Updates and Diagnostic Pitfalls. *Surgical pathology clinics*, 12(4), 1055-1071. <https://doi.org/10.1016/j.path.2019.08.012>
- Melosky B. (2017). Low Grade Neuroendocrine Tumors of the Lung. *Frontiers in oncology*, 7, 119. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00119>
- Ichiki, Y., Matsumiya, H., Mori, M., Kanayama, M., Nabe, Y., Taira, A., Shinohara, S., Kuwata, T., Takenaka, M., Hirai, A., Imanishi, N., Yoneda, K., Noguchi, H., Shimajiri, S., Fujino, Y., Nakayama, T., & Tanaka, F. (2018). Predictive factors of postoperative survival among patients with pulmonary neuroendocrine tumor. *Journal of thoracic disease*, 10(12), 6912-6920. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.11.115>
- Hendifar, A. E., Marchevsky, A. M., & Tuli, R. (2017). Neuroendocrine Tumors of the Lung: Current Challenges and Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Disease. *Journal of thoracic oncology*, 12(3), 425-436. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.11.2222>
- Righi, L., Gatti, G., Volante, M., & Papotti, M. (2017). Lung neuroendocrine tumors: pathological characteristics. *Journal of thoracic disease*, 9(Suppl 15), S1442-S1447. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.01.59>
- Derks, J. L., Speel, E. J., Thunnissen, E., van Suylen, R. J., Buikhuisen, W. A., van Velthuysen, M. L., & Dingemans, A. M. (2016). Neuroendocrine Cancer of the Lung: A Diagnostic Puzzle. *Journal of thoracic oncology*, 11(3), e35-e38. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2015.10.013>
- Hilal T. (2017). Current understanding and approach to well differentiated lung neuroendocrine tumors: an update on classification and management. *Therapeutic advances in medical oncology*, 9(3), 189-199. <https://doi.org/10.1177/1758834016678149>
- Filosso, P. L., Falcoz, P. E., Solidoro, P., Pellicano, D., Passani, S., Guerrero, F., Ruffini, E., & ESTS Lung Neuroendocrine Working-Group Participating Centers* (2018). The European Society of Thoracic Surgeons (ESTS) lung neuroendocrine tumors (NETs) database. *Journal of thoracic disease*, 10(Suppl 29), S3528-S3532. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.04.104>
- La Rosa, S., & Uccella, S. (2021). Classification of neuroendocrine neoplasms: lights and shadows. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 22(3), 527-538. <https://doi.org/10.1007/s11154-020-09612-2>
- Swinson, D. E., Jones, J. L., Richardson, D., Cox, G., Edwards, J. G., & O'Byrne, K. J. (2002). Tumour necrosis is an independent prognostic marker in non-small cell lung cancer: correlation with biological variables. *Lung cancer*, 37(3), 235-240. [https://doi.org/10.1016/s0169-5002\(02\)00172-1](https://doi.org/10.1016/s0169-5002(02)00172-1)
- Sugimoto, A., Umemura, S., Miyoshi, T., Nakai, T., Kuroe, T., Nosaki, K., Ikeda, T., Udagawa, H., Kirita, K., Zenke, Y., Matsumoto, S., Yoh, K., Niho, S., Tsuboi, M., Goto, K., & Ishii, G. (2021). High proportion of tumor necrosis predicts poor survival in surgically resected high-grade neuroendocrine carcinoma of the lung. *Lung cancer*, 157, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2021.05.018>
- Rindi, G., & Inzani, F. (2020). Neuroendocrine neoplasm update: toward universal nomenclature. *Endocrine-related cancer*, 27(6), R211-R218. <https://doi.org/10.1530/ERC-20-0036>
- Bellizzi A. M. (2020). Immunohistochemistry in the diagnosis and classification of neuroendocrine neoplasms: what can brown do for you?. *Human pathology*, 96, 8-33. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.12.002>

- [17] Pelosi, G., Sonzogni, A., Harari, S., Albini, A., Bresaola, E., Marchiò, C., Massa, F., Righi, L., Gatti, G., Papanikolaou, N., Vijayvergia, N., Calabrese, F., & Papotti, M. (2017). Classification of pulmonary neuroendocrine tumors: new insights. *Translational lung cancer research*, 6(5), 513-529. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2017.09.04>
- [18] Raphael, M. J., Chan, D. L., Law, C., & Singh, S. (2017). Principles of diagnosis and management of neuroendocrine tumours. *CMAJ*, 189(10), E398-E404. <https://doi.org/10.1503/cmaj.160771>
- [19] Chirieac L. R. (2016). Tumor cell proliferation, proliferative index and mitotic count in lung cancer. *Translational lung cancer research*, 5(5), 554-556. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2016.10.10>
- [20] Rekhman, N., Desmeules, P., Litvak, A. M., Pietanza, M. C., Santos-Zabala, M. L., Ni, A., Montecalvo, J., Chang, J. C., Beras, A., Pree-shagul, I. R., Sabari, J. K., Rudin, C. M., Ladanyi, M., Klimstra, D. S., Travis, W. D., & Lai, W. C. (2019). Stage IV lung carcinoids: spectrum and evolution of proliferation rate, focusing on variants with elevated proliferation indices. *Modern pathology*, 32(8), 1106-1122. <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0248-2>
- [21] Joseph, M. G., Shibani, A., Panjwani, N., Arab, A., Shepherd, J., Stitt, L. W., & Inculet, R. (2015). Usefulness of Ki-67, Mitoses, and Tumor Size for Predicting Metastasis in Carcinoid Tumors of the Lung: A Study of 48 Cases at a Tertiary Care Centre in Canada. *Lung cancer international*, 2015, 545601. <https://doi.org/10.1155/2015/545601>
- [22] Ha, S. Y., Choi, M., Lee, T., & Park, C. K. (2016). The Prognostic Role of Mitotic Index in Hepatocellular Carcinoma Patients after Curative Hepatectomy. *Cancer research and treatment*, 48(1), 180-189. <https://doi.org/10.4143/crt.2014.321>
- [23] Ozturk Sari, S., Taskin, O. C., Gundogdu, G., Yegen, G., Onder, S., Keskin, M., Saglam, S., Ozluk, Y., Gulluoglu, M., & Mete, O. (2016). The Impact of Phosphohistone-H3-Assisted Mitotic Count and Ki67 Score in the Determination of Tumor Grade and Prediction of Distant Metastasis in Well-Differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Endocrine pathology*, 27(2), 162-170. <https://doi.org/10.1007/s12022-016-9424-9>
- [24] Voss, S. M., Riley, M. P., Lokhandwala, P. M., Wang, M., & Yang, Z. (2015). Mitotic count by phosphohistone H3 immunohistochemical staining predicts survival and improves interobserver reproducibility in well-differentiated neuroendocrine tumors of the pancreas. *The American journal of surgical pathology*, 39(1), 13-24. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000341>
- [25] Mirzailian, E., Tabatabaei Ghods, Z. S., Tavangar, S. M., Emami, B., Oraie, M., Safyari, R., & Saffar, H. (2020). Utility of PHH3 in Evaluation of Mitotic Index in Breast Carcinoma and Impact on Tumor Grade. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 21(1), 63-66. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.1.63>
- [26] Tsuta, K., Liu, D. C., Kalhor, N., Wistuba, I. I., & Moran, C. A. (2011). Using the mitosis-specific marker anti-phosphohistone H3 to assess mitosis in pulmonary neuroendocrine carcinomas. *American journal of clinical pathology*, 136(2), 252-259. <https://doi.org/10.1309/AJCP-DXFOPXGEF0RP>
- [27] Chan, D. L., Clarke, S. J., Diakos, C. I., Roach, P. J., Bailey, D. L., Singh, S., & Pavlakis, N. (2017). Prognostic and predictive biomarkers in neuroendocrine tumours. *Critical reviews in oncology/hematology*, 113, 268-282. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.03.017>
- [28] Elmaci, I., Altinoz, M. A., Sari, R., & Bolukbasi, F. H. (2018). Phosphorylated Histone H3 (PHH3) as a Novel Cell Proliferation Marker and Prognosticator for Meningeal Tumors: A Short Review. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM*, 26(9), 627-631. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000499>
- [29] Lafamme, P., Mansoori, B. K., Sazanova, O., Orain, M., Couture, C., Simard, S., Trahan, S., Manem, V., & Joubert, P. (2020). Phospho-histone-H3 immunostaining for pulmonary carcinoids: impact on clinical appraisal, interobserver correlation, and diagnostic processing efficiency. *Human pathology*, 106, 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.09.009>
- [30] Garg, R., Bal, A., DAS, A., Singh, N., & Singh, H. (2019). Proliferation Marker (Ki67) in Sub-Categorization of Neuroendocrine Tumours of the Lung. Proliferation Marker (Ki67) in Sub-Categorization of Neuroendocrine Tumours of the Lung. *Turk patoloji dergisi*, 35(1), 15-21. <https://doi.org/10.5146/tipath.2018.01436>
- [31] Elmaci, I., Altinoz, M. A., Bolukbasi, F. H., Yapicier, O., & Sav, A. (2017). Paradoxical results obtained with Ki67-labeling and PHH3-mitosis index in glial tumors: a literature analysis. *Clinical neuropathology*, 36(6), 272-282. <https://doi.org/10.5414/NP301028>
- [32] Metovic, J., Barella, M., Bianchi, F., Hofman, P., Hofman, V., Remmelink, M., Kern, I., Carvalho, L., Pattini, L., Sonzogni, A., Veronesi, G., Harari, S., Forest, F., Papotti, M., & Pelosi, G. (2021). Morphologic and molecular classification of lung neuroendocrine neoplasms. *Virchows Archiv*, 478(1), 5-19. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-03015-z>
- [33] Pelosi, G., Massa, F., Gatti, G., Righi, L., Volante, M., Birocco, N., Maisonneuve, P., Sonzogni, A., Harari, S., Albini, A., & Papotti, M. (2019). Ki-67 Evaluation for Clinical Decision in Metastatic Lung Carcinoids: A Proof of Concept. *Clinical pathology*, 12, 2632010X19829259. <https://doi.org/10.1177/2632010X19829259>
- [34] Warth, A., Fink, L., Fisseler-Eckhoff, A., Jonigk, D., Keller, M., Ott, G., Rieker, R. J., Sinn, P., Söder, S., Soltermann, A., Willenbrock, K., Weichert, W., & Pulmonary Pathology Working Group of the German Society of Pathology (2013). Interobserver agreement of proliferation index (Ki-67) outperforms mitotic count in pulmonary carcinoids. *Virchows Archiv*, 462(5), 507-513. <https://doi.org/10.1007/s00428-013-1408-2>
- [35] Kim, J. Y., Jeong, H. S., Chung, T., Kim, M., Lee, J. H., Jung, W. H., & Koo, J. S. (2017). The value of phosphohistone H3 as a proliferation marker for evaluating invasive breast cancers: A comparative study with Ki67. *Oncotarget*, 8(39), 65064-65076. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17775>
- [36] Huang, W., Nebiolo, C., Esbona, K., Hu, R., & Lloyd, R. (2020). Ki67 index and mitotic count: Correlation and variables affecting the accuracy of the quantification in endocrine/neuroendocrine tumors. *Annals of diagnostic pathology*, 48, 151586. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151586>
- [37] Duregon, E., Bertero, L., Pittaro, A., Soffietti, R., Rudà, R., Trevisan, M., Papotti, M., Ventura, L., Senetta, R., & Cassoni, P. (2016). Ki-67 proliferation index but not mitotic thresholds integrates the molecular prognostic stratification of lower grade gliomas. *Oncotarget*, 7(16), 21190-21198. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8498>
- [38] Tracht, J., Zhang, K., & Pekar, D. (2017). Grading and Prognostication of Neuroendocrine Tumors of the Pancreas: A Comparison Study of Ki67 and PHH3. *The journal of histochemistry and cytochemistry*, 65(7), 399-405. <https://doi.org/10.1369/0022155417708186>
- [39] Inoue, T., Nakazato, Y., Karube, Y., Maeda, S., Kobayashi, S., & Chida, M. (2018). Mitosis count and number of cancer cells in cases of primary pulmonary adenocarcinoma: Correlations among phosphorylated histone 3, number of cancer cells, nuclear grade, pathologic features and prognosis. *Pathology international*, 68(3), 159-166. <https://doi.org/10.1111/pin.12635>
- [40] Villani, V., Mahadevan, K. K., Ligorio, M., Fernández-Del Castillo, C., Ting, D. T., Sabbatino, F., Zhang, I., Vangel, M., Ferrone, S., Warshaw, A. L., Lillemo, K. D., Wargo, J., Deshpande, V., & Ferrone, C. R. (2016). Phosphorylated Histone H3 (PHH3) Is a Superior Proliferation Marker for Prognosis of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Annals of surgical oncology*, 23(Suppl 5), 609-617. <https://doi.org/10.1245/s10434-016-5171-x>
- [41] van Steenhoven, J., Kuijter, A., Kornegoor, R., van Leeuwen, G., van Gorp, J., van Dalen, T., & van Diest, P. J. (2020). Assessment of tumour proliferation by use of the mitotic activity index, and Ki67 and phosphohistone H3 expression, in early-stage luminal breast cancer. *Histopathology*, 77(4), 579-587. <https://doi.org/10.1111/his.14185>
- [42] Manem, V., Sazonova, O., Gagné, A., Orain, M., Khoshkrood-Mansoori, B., Gaudreault, N., Bossé, Y., & Joubert, P. (2021). Unravelling actionable biology using transcriptomic data to integrate mitotic index and Ki-67 in the management of lung neuroendocrine tumors. *Oncotarget*, 12(3), 209-220. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27874>

The impact of concomitant anemic syndrome on the clinical course of coronary artery disease

M. O. Konovalova  *B,C,D,E, N. S. Mykhailovska  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

The presence of comorbid pathology negatively affects the prognosis of patients with coronary artery disease (CAD). Today it is important to clarify the features of CAD on the background of concomitant anemia and identify the main risk factors for complications to improve the tactics of this category of patients.

The aim. To investigate the influence of concomitant anemic syndrome on the clinical course of coronary artery disease, frequency and features of the main cardiovascular events.

Materials and methods. The study involved 91 patients with coronary artery disease (42 men and 49 women, age – 70 (49; 93)). All patients were divided into 2 groups: the main group (n = 46) consisted of patients with coronary artery disease with iron-deficiency anemia, the comparison group (n = 45) – patients with coronary artery disease without iron-deficiency anemia. The study of the main cardiovascular events took into account re-hospitalization due to arrhythmic disorders, progression of heart failure (HF), CAD destabilization within the observed period (1 year), as well as death from cardiovascular causes. The data analysis was performed using Statistica 13.0.

Results. During the year, 42 non-fatal cardiovascular events were noted in patients of both groups, however in the main group their total number was 30 (67 %) versus 12 (27 %) in the comparison group ($\chi^2 = 13.603$; $P < 0.05$). The presence of concomitant anemia in CAD patients significantly increased the relative risk of re-hospitalizations (RR = 1.9; 95 % CI 1.230–3.112; $P < 0.05$). Among the reasons for hospitalization in the main group, HF decompensation prevailed – 17 (57 %) patients, unstable angina – 7 (23 %), arrhythmic disorders – 6 (20 %); in the comparison group, among the reasons for re-hospitalization, 7 (57 %) had HF decompensation, 3 (25 %) had unstable angina, and 2 (17 %) cases had arrhythmic disorders. In total, 9 (19.5 %) deaths were recorded in the main group, while in the comparison group 1 (2.2 %) death was recorded during the year ($\chi^2 = 6.995$; $P < 0.05$). The presence of concomitant anemia in patients with CAD increases the risk of fatal outcome by 8.8 times (RR = 8.8; 95 % CI 1.162–66.685; $P < 0.05$). The presence of moderate anemia in patients with CAD significantly increases the incidence of combined critical events by 39 % during the year of follow-up compared with mild anemia ($\chi^2 = 12.843$; $P < 0.05$).

Conclusions. The presence of concomitant anemia is associated with a worsened prognosis for patients having coronary artery disease due to an increased risk of non-fatal cardiovascular events that require re-hospitalization during the year of observation, and an increased incidence of death. Increasing severity of anemia is associated with an increase in the frequency of the combined critical event during 1 year of follow-up.

Key words:

coronary artery disease, anemia, cardiovascular events, heart failure.

Pathologia

2021; 18 (3), 263-268

*E-mail:

mkonovalova94@gmail.com

Вплив супутнього анемічного синдрому на клінічний перебіг ішемічної хвороби серця

M. O. Коновалова, Н. С. Михайловська

Наявність коморбідної патології негативно впливає на прогноз пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС). Актуальним є уточнення особливостей перебігу ІХС на тлі супутньої анемії та визначення основних факторів ризику розвитку ускладнень для удосконалення тактики ведення таких хворих.

Мета роботи – дослідити вплив супутнього анемічного синдрому на клінічний перебіг ІХС, частоту виникнення та особливості основних кардіоваскулярних подій.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 91 хворого на ІХС (42 чоловіки, 49 жінок віком 70 (49; 93) років), яких поділили на дві групи: основна (n = 46) – пацієнти з ІХС та супутньою залізодефіцитною анемією; група порівняння (n = 45) – ІХС без анемії. Вивчаючи основні кардіоваскулярні події, враховували повторні госпіталізації з приводу аритмічних порушень, прогресування серцевої недостатності (СН), дестабілізацію ІХС протягом року спостереження, а також летальні наслідки від серцево-судинних причин. Статистично результати опрацювали в ліцензованій програмі Statistica 13.0.

Результати. Протягом року у хворих обох груп зафіксували 42 нефатальні кардіоваскулярні події: в основній – 30 (67 %), у групі порівняння – 12 (27 %) ($\chi^2 = 13,603$; $p < 0,05$). Наявність супутньої анемії у хворих на ІХС вірогідно підвищувала відносний ризик повторних госпіталізацій (ВР = 1,9; 95 % ДІ 1,230–3,112; $p < 0,05$). Серед причин госпіталізації в основній групі переважали декомпенсація СН (17 (57 %) пацієнтів), нестабільна стенокардія (7 (23 %) хворих), аритмічні порушення (6 (20 %) осіб). У групі порівняння причини повторної госпіталізації: декомпенсація СН (7 (57 %) пацієнтів), нестабільна стенокардія (3 (25 %) хворих), аритмічні порушення (2 (17 %) випадки). Зафіксували 9 (19,5 %) летальних випадків в основній групі, у групі порівняння протягом року зареєстрували 1 (2,2 %) летальний випадок ($\chi^2 = 6,995$; $p < 0,05$). Встановили зростання ризику летального наслідку у 8,8 раза за умов супутньої анемії у хворих

Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, анемія, кардіоваскулярні події, серцева недостатність.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53),
С. 263-268

на ІХС (ВР = 8,8; 95 % ДІ 1,162–66,685; $p < 0,05$). Виявили, що наявність у хворих на ІХС анемії середнього ступеня тяжкості вірогідно підвищує частоту виникнення комбінованої критичної події на 39 % упродовж 1 року спостереження порівняно з анемією легкого ступеня ($\chi^2 = 12,843$; $df = 1$; $p < 0,05$).

Висновки. Перебіг ІХС на тлі супутньої анемії характеризується гіршим прогнозом хворих на ІХС унаслідок збільшення частоти та ризику розвитку нефатальних кардіоваскулярних подій, що потребують повторних госпіталізацій протягом року спостереження, а також збільшення кількості летальних випадків. Підвищення ступеня тяжкості анемії асоціюється зі зростанням частоти виникнення комбінованої критичної події протягом 1 року спостереження.

Ключевые слова:
ишемическая
болезнь сердца,
анемия,
кардиоваскулярные
события, сердечная
недостаточность.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 263-268

Влияние сопутствующего анемического синдрома на клиническое течение ишемической болезни сердца

М. А. Коновалова, Н. С. Михайловская

Наличие коморбидной патологии негативно влияет на прогноз больных ишемической болезнью сердца (ИБС). Актуальным остается изучение особенностей течения ИБС на фоне сопутствующей анемии и определение основных факторов риска развития осложнений для усовершенствования тактики ведения таких больных.

Цель работы – оценить влияние сопутствующего анемического синдрома на клиническое течение ИБС, частоту возникновения и особенности основных кардиоваскулярных событий.

Материалы и методы. В исследование включили 91 больного ИБС (42 мужчины, 49 женщин в возрасте 70 (49; 93) лет), которых поделили на две группы: основную ($n = 46$) – пациенты с ИБС и сопутствующей железодефицитной анемией, группу сравнения ($n = 45$) – ИБС без анемии. При изучении основных кардиоваскулярных событий учитывали повторные госпитализации вследствие аритмических нарушений, прогрессирования сердечной недостаточности (СН), дестабилизацию ИБС в течение года наблюдения, а также летальные исходы от сердечно-сосудистых причин. Статистическая обработка данных проведена в лицензированной программе Statistica 13.0.

Результаты. В течение года у больных обеих групп зафиксировали 42 нефатальных кардиоваскулярных события: в основной – 30 (67 %), в группе сравнения – 12 (27 %) ($\chi^2 = 13,603$; $p < 0,05$). Наличие сопутствующей анемии у больных ИБС достоверно повышало относительный риск повторных госпитализаций (ОР = 1,9; 95 % ДИ 1,230–3,112; $p < 0,05$). Среди причин госпитализации в основной группе преобладала декомпенсация СН (17 (57 %) пациентов), нестабильная стенокардия (7 (23 %) случаев), аритмические нарушения (6 (20 %) больных). В группе сравнения причины повторной госпитализации: декомпенсация СН (7 (57 %) больных), нестабильная стенокардия (3 (25 %) пациента), аритмические нарушения (2 (17 %) случая). Зафиксировали 9 (19,5 %) летальных исходов в основной группе, в группе сравнения в течение года зарегистрировали 1 (2,2 %) летальный исход ($\chi^2 = 6,995$; $p < 0,05$). Отмечено увеличение риска летального исхода в 8,8 раза при сопутствующей анемии у больных ИБС (ОР = 8,8; 95 % ДИ 1,162–66,685; $p < 0,05$). Наличие у больных ИБС анемии средней степени тяжести достоверно повышает частоту возникновения комбинированного критического события на 39 % в течение года наблюдения по сравнению с анемией лёгкой степени тяжести ($\chi^2 = 12,843$; $p < 0,05$).

Выводы. Течение ИБС на фоне сопутствующей анемии характеризуется худшим прогнозом больных ИБС за счёт роста частоты и риска развития нефатальных кардиоваскулярных событий, требующих повторных госпитализаций в течение года наблюдения, роста числа летальных исходов. Повышение степени тяжести анемии ассоциируется с увеличением частоты возникновения комбинированного критического события в течение года наблюдения.

Cardiovascular diseases are the prevailing cause of death and one of the main disabilities causing factors worldwide [1,2]. The incidence of cardiovascular diseases has almost doubled in the last 10 years, and the number of deaths caused by them continues to increase steadily. Ukraine's mortality rate due to coronary artery disease (CAD) and cardiovascular diseases in general continues to be one of the worst in the world [1].

At the same time, anemia affects about 25 % of the world's population. The prevalence of anemia increases with age, and therefore it often accompanies cardiovascular diseases. Among the potential factors leading to the development of anemia in coronary heart disease, the most important are decreased iron intake and absorption, difficulty in its release from the depot, hemodilution, chronic inflammation with hyperproduction of proinflammatory cytokines and hepcidin, decreased erythropoietin synthesis due to renal dysfunction with the development of bone marrow resistance to erythropoietin stimulation, etc. [3–5].

Concomitant anemia affects cardiovascular remodeling processes. Anemic hypoxia is compensated

by a cascade of hemodynamic and hemodynamically non-associated mechanisms. Realization of the basic hemodynamic factors is achieved by an increase of myocardium contractile ability, a decrease in an afterload, and an increase in a preload, positive ino- and chronotropic effects. Increased nitric oxide production, hypoxia-induced vasodilation and decreased blood viscosity cause vascular resistance reduction, which leads to a postload reduction. In addition, chronic anemia stimulates angiogenesis and the formation of new small vessels. In its turn, the development of collaterals and the microcirculatory tract also helps to reduce postload. Increased preload and left ventricular blood supply contribute to the increase of the end-diastolic volume and the left ventricular ejection fraction. While these changes are reversible in case of short-term anemia, a chronic condition leads to remodeling, with the formation of an eccentric hypertrophy of the left ventricular myocardium [6–8].

Increased cardiac output caused by anemia facilitates the development of arterial remodeling of central vessels

of the elastic type, such as the aorta and common carotid arteries, by expanding the lumen and compensatory thickening of the intima-media complex, resulting in increased systolic pressure. Activation of the sympathetic nervous system increases left ventricular contractility and increases heart rate [3,6,7].

In turn, increasing heart rate adds to higher myocardial oxygen demand. Oxygen supply to the myocardium is determined by the coronary blood flow and hemoglobin concentration. In patients without coronary pathology, a significant decrease in oxygen concentration in the coronary bloodstream can be compensated by peripheral vasodilation, but in coronary stenosis, this mechanism has limited capabilities [9]. Severe anemia can lead to an imbalance between myocardial oxygen supply and consumption, even in the absence of hemodynamically significant coronary stenosis. The literature describes examples of the development of acute coronary syndrome with ST segment elevation in a patient with severe anemia in the absence of angiographically significant coronary stenosis, thrombosis or spasm. Therefore, a decrease in blood oxygen concentration, as well as an activation of the sympathetic nervous system, may increase myocardial oxygen demand and intensify ischemia [7,9].

These side effects mediated by anemia lead to an increase of the development of cardiovascular complications in patients with cardiovascular disease, including coronary artery disease [3,6,7].

Thus, anemia is an independent predictor of cardiovascular disease and related adverse cardiovascular events, and it is important to study further the impact of anemic syndrome on the prognosis of patients with coronary artery disease and the risk of the development of complications.

Aim

To investigate the influence of concomitant anemic syndrome on the clinical course of coronary artery disease, frequency and features of the main cardiovascular events.

Materials and methods

91 patients with coronary artery disease (stable angina pectoris II–III FC) were monitored in a monocentric one-year study in parallel groups (42 men and 49 women of average age 70 [49; 93]) hospitalized in therapeutic and cardiologic departments of the communal non-commercial enterprise “City Hospital No. 4” of Zaporizhzhia City Council (Ukraine). All patients were divided into 2 groups: the main group (n = 46) consisted of patients with coronary artery disease with iron-deficiency anemia of mild and moderate severity, the comparison group (n = 45) – patients with coronary artery disease without anemia. The groups were comparable in age, sex, risk factors, the specificity of comorbidities. Concomitant subcompensated diabetes mellitus type 2 occurred in 5 % of patients of the main group and 6 % of patients of the comparison group, arterial hypertension – in 80 % of patients of the main group and 85 % of patients of the comparison group.

Coronary artery disease diagnosis was verified according to clinical, laboratory and instrumental criteria

of the 2019 European Society of Cardiology (ESC) Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. Concomitant anemic syndrome was detected by determining the level of hemoglobin and counting the number of erythrocytes. The etiology of anemia was established through biochemical and enzyme-linked immunosorbent assay in accordance with the Ministry of Health of Ukraine orders No. 709 of 02.11.2015 and No. 647 of 30.07.2010 as amended on July 29.07.2016.

The vast majority of anemia cases (95 %) was iron deficiency, diagnosed according to the 2020 recommendations of the American Gastroenterological Association (AGA), other patients had anemia of mixed etiology (anemia of chronic disease and iron deficiency anemia).

Inclusion criterion for the study were: providing informed consent; age over 18; the presence of anemia of mild (Hb 100–120 g/L in women, and 100–135 g/L in men) and moderate (Hb 80–99 g/L) severity; verified coronary artery disease. Exclusion criterion were: absence of informed consent, acute bleeding diagnosed in hospital; acute coronary syndrome; CKD III–V stages; severe anemia requiring blood transfusion; hemolytic anemia; hypo-aplastic anemia; malignant tumors, including those of hematopoietic organs; B12-folate deficiency anemia.

The work follows the moral and ethical principles of bioethics in accordance with the rules of the ICH/GCP, the Declaration of Human Rights of Helsinki (1964), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1997), as well as current legislation of Ukraine.

All patients received basic therapy for coronary heart disease, which included antiplatelet drugs, statins, β -blockers, long-acting nitrates and in the case of concomitant hypertension, diabetes, heart failure or left ventricular systolic dysfunction – ACE inhibitors. Patients with coronary heart disease with concomitant anemia received iron supplements. Patients with concomitant anemia of mild severity received oral iron – iron sulfate 247.25 mg, which is equivalent to 80 mg of iron (II), 1 tablet once a day. Patients with concomitant anemia of moderate severity received intravenous drip in 100 ml of 0.9 % sodium solution, 5 ml of iron (III) hydroxide-sucrose complex with a concentration of 20 mg/ml (100 mg of iron), 3 times a week.

The study of the main cardiovascular events took into account re-hospitalizations due to arrhythmic disorders, progression of heart failure (HF), CAD destabilization during the observed year, as well as the incidence of death from cardiovascular causes. Studies of adverse cardiovascular events were conducted via in-person or telephone interviews with patients and analysis of medical documentation.

Statistical data processing was performed using the software package Statistica 13.0 (StatSoft Inc., USA, No. license JPZ8041382130ARCN10-J). Pearson's χ^2 test was used to compare the clinical features of cardiovascular complaints and to assess the frequency of cardiovascular events depending on the presence of anemic syndrome. To assess the impact of anemic syndrome on the clinical course of coronary heart disease,

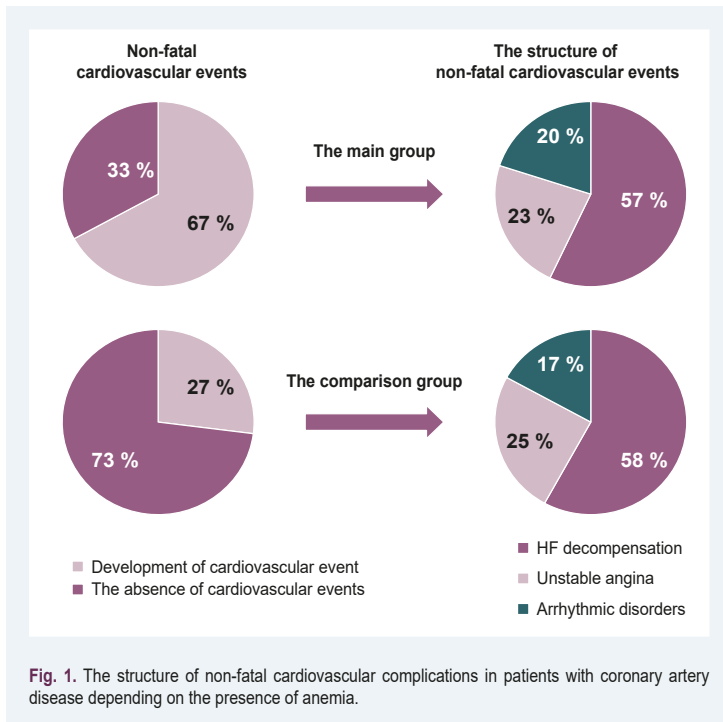


Fig. 1. The structure of non-fatal cardiovascular complications in patients with coronary artery disease depending on the presence of anemia.

Table 1. The main complaints in patients with coronary artery disease

Symptom	The main group, n = 46		The comparison group, n = 45		χ ²
	Absolute amount	%	Absolute amount	%	
Chest pain	41	89	30	65	8.073; P < 0.05
Exertional breathlessness	42	91	36	80	2.374; P > 0.05
Chest discomfort	38	83	32	71	1.694; P > 0.05
Rapid heart rate	35	77	26	57	3.451; P > 0.05
Cardiac rhythm disturbances	6	17	5	11	0.080; P > 0.05

Table 2. Relative risk of adverse cardiovascular events in patients with coronary artery disease with concomitant anemia

Cardiovascular events	RR	95 % CI
HF decompensation	2.376*	1.091–5.174
Unstable angina	2.283	0.629–8.281
Arrhythmic disorders	2.935	0.625–13.781
Fatal outcome	8.804*	1.162–66.685

*: P < 0.05.

Table 3. The frequency of cardiovascular events in patients with coronary artery disease depending on the severity of anemia

Cardiovascular event	Anemia of mild severity, n = 18		Anemia of moderate severity, n = 28		χ ²
	Absolute amount	%	Absolute amount	%	
Non-fatal cardiovascular event	9	50	21	75	3.019; P > 0.05
Fatal outcome	2	11	7	25	1.343; P > 0.05
Combined critical event	11	61	28	100	12.843; P < 0.05

the relative risk was determined with a 95 % confidence interval (CI). The obtained results were considered statistically significant at P < 0.05.

Results

In the main group, the dominant complaints were exertional breathlessness and chest pain – 91 % and 89 %, respectively (Table 1). 83 % of patients in the main group noted the appearance of chest discomfort, 77 % – a feeling of rapid heart rate, 17 % – cardiac rhythm disturbances. 80 % of patients in the comparison group complained of exertional breathlessness, and attacks of chest pain or chest discomfort occurred in 65 % and 71 %, respectively. In addition, 57 % of patients in the comparison group complained of a feeling of rapid heart rate, and 11 % – cardiac rhythm disturbances.

Therefore, chest pain attacks occurred significantly more often in patients with coronary heart disease with concomitant anemia compared with patients without anemia (χ² = 8.073; P < 0.05).

During the year, 42 non-fatal cardiovascular events were noted in patients of both groups, including 24 (57 %) cases of heart failure (HF) decompensation, 10 (24 %) cases of unstable angina and 8 (19 %) cases of arrhythmic disorders. In the main group, the total number of cardiovascular events that required hospitalization of patients was 30 (67 %) against 12 (27 %) of the comparison group (χ² = 13.603; P < 0.05). Among the main group patients, 17 (57 %) were hospitalized due to HF decompensation, 7 (23 %) – unstable angina, and 6 (20 %) – arrhythmic disorders. In the comparison group, 7 (58 %) had HF decompensation, 3 (25 %) – unstable angina, and arrhythmic disorders were recorded in 2 (17 %) cases. The development of myocardial infarction in both observation groups was not registered during the year. The structure of non-fatal cardiovascular complications depending on the presence of anemic syndrome is shown in Fig. 1.

Fatal outcome was observed in 9 patients of the main group, which was 19.5 % of the total number of patients in the main group, while in the comparison group was recorded for 1 (2.2 %) death during the year (χ² = 6.995; P < 0.05). As follows, the presence of concomitant anemia in patients with CAD increases the risk of fatal outcome by 8.8 times (RR = 8.804; 95 % CI 1.162–66.685; P < 0.05).

Therefore, the concomitant anemic syndrome (Table 2) is significantly more often associated with the need for re-hospitalization of patients with coronary heart disease and increases its relative risk by 1.96 times (RR = 1.957; 95 % CI 1.230–3.112; P < 0.05). The leading cause of repeated hospitalizations is decompensation of heart failure (χ² = 5.365; P < 0.05), the risk of which increases by 2.4 times in the presence of concomitant anemia in patients (RR = 2.376; 95 % CI 1.091–5.174; P < 0.05).

The frequency of cardiovascular events depending on the severity of anemia was analyzed (Table 3). It was found, that the presence of anemia of moderate severity in patients with CAD significantly increases the incidence of combined critical events (death or hospitalization for cardiovascular reasons) within the observed period (1

year) ($\chi^2 = 12.843$; $P < 0.05$). However, there was no statistically significant difference between the incidence of certain types of non-fatal and fatal cardiovascular events depending on the severity of anemia.

Therefore, the concomitant anemia is an independent factor in the worsening of the prognosis in CAD due to clinical symptoms intensification and increasing the frequency of complications.

Discussion

In our study, we found that patients having CAD with concomitant anemia are more likely to have chest pain attacks compared with patients without anemia ($\chi^2 = 8.073$; $P < 0.05$). This conclusion agrees with other known sources [5]. According to the literature, concomitant anemia in CAD patients affects their life quality, reduces tolerance to physical load, and is an independent negative predictor of prognosis [10–12]. This can be explained by increased myocardial ischemia due to a decrease in blood oxygen concentration at low hemoglobin levels [9].

We established a negative effect of concomitant anemia on the prognosis of CAD patients: the presence of anemia in this category of patients significantly increased the frequency of re-hospitalizations due to decompensation of heart failure. Obtained data agree with the results of the study ATTEMPT-CVD [13], which found that the frequency of cardiovascular and renal events was significantly higher in the group of patients with concomitant anemia than in the comparison group (RR = 1.945; 95 % CI 1.208–3.130; $P < 0.05$). The MAGGIC study, which included 13 295 patients with heart failure, recognized anemia as an independent prognostic predictor in HF with reduced left ventricular ejection fraction and heart failure with preserved ejection fraction [14].

Also, the study [15] showed that the relative risk of hospitalization for heart failure in groups with iron deficiency was higher compared to the reference group (low iron content: RR = 1.29; 95 % CI 1.19–1.41; functional iron deficiency: RR = 1.25; 95 % CI 1.13–1.37).

In our work, the frequency of arrhythmic disorders in patients with coronary heart disease with concomitant anemia did not differ significantly. However, in the study by Woo-Hyun Lim et al. [16] the risk of developing AF increased by 6 % in patients with anemia and low Hb levels (Hb levels <13 and 13.0–13.9 g/dl in men and <12 and 12.0–12.9 g/dl in women).

In our work, a significant increase in the number of deaths among patients with coronary heart disease with concomitant anemia was recorded ($\chi^2 = 6.284$; $df = 1$; $P < 0.05$). According to the study [17], it was shown that low hemoglobin level is an independent predictor of mortality from cardiovascular causes, and anemia is independently associated with overall mortality (RR = 1.90; 95 % CI 1.55–2.33).

In addition, according to the literature, among patients with CAD and concomitant anemia there is an increase in mortality compared with patients with isolated CAD, with anemia being an independent predictor of acute ischemic myocardial damage [6].

A study [18] demonstrated that during 8–36 months of observation, 21.94 % of deaths were recorded in pa-

tients with HF with anemia and 9.78 % in patients without anemia. According to Line Davidsen et al. [19], anemia in patients with stable angina is significantly associated with bleeding, the development of acute coronary syndrome and all-cause mortality, even after percutaneous coronary intervention.

Conclusions

1. The features of the clinical course of coronary artery disease with concomitant anemia include a higher frequency of attacks of typical chest pain and a higher frequency of fatal (17.3 %) and non-fatal (40.0 %) cardiovascular events during the year of follow-up compared with patients without concomitant anemia.

2. The presence of concomitant anemia in patients with coronary artery disease increases the risk of fatal outcome by 8.8 times, re-hospitalization by 1.96 times, decompensation of pre-existing heart failure by 2.4 times.

3. The presence of anemia of moderate severity in patients with coronary artery disease is associated with an increase in the incidence of combined critical events by 39 % (death or hospitalization for cardiovascular reasons) during the year of follow-up compared with mild anemia.

Further work. Selecting predictors of adverse cardiovascular events and establishing further criteria for predicting the course of coronary artery disease on the background of concomitant anemia is promising.

Funding

The study was performed within the research programme of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Medicine of Zaporizhzhia State Medical University “Clinical and pathogenetic, prognostic and treatment-diagnostic aspects of cardiovascular pathology with various comorbid conditions”, state registration No. 0118U007138.

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

Надійшла до редакції / Received: 25.08.2021

Після доопрацювання / Revised: 21.09.2021

Прийнято до друку / Accepted: 11.11.2021

Information about the authors:

Konovalova M. O., PhD Student of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3387-5802

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine and Internal Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-6781-9406

Відомості про авторів:

Коновалова М. О., PhD аспірант каф. загальної практики – сімейної медицини та внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

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

Сведения об авторах:

Коновола М. А., PhD аспірант каф. общей практики – семейной медицины и внутренних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

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

References

- [1] Mykhailovska, N. S., Stetsiuk, I. O., Kulynych, T. O., & Lisova, O. O. (2019). Klinichna efektyvnist zastosuvannya L-argininu u khvorykh na ishemichnu khvorobu sertsia ta metabolichnyi syndrom [Clinical Effectiveness of L-arginin Supplementation in Patients with Coronary Artery Disease and Metabolic Syndrome]. *Semeinaya meditsina*, (2), 59-65. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.30841/2307-5112.2.2019.175134>
- [2] Mykhailovska, N. S., Stetsiuk, I. O., Kulynych, T. O., Gorbachova, S. V., & Zhulkevych, I. V. (2020). The interrelationship of bone and cardiovascular remodeling biomarkers and clinical peculiarities of coronary artery disease in postmenopausal women. *Reumatologia*, 58(3), 142-149. <https://doi.org/10.5114/reum.2020.96687>
- [3] Gorbachova, V. V., Liashenko, A. V., Gavrilenko, T. I., Mkhitarian, L. S., & Voronkov, L. G. (2018). Kliniko-instrumentalna kharakterystyka ta klinichnyi prognoz u patsientiv z khronichnoiu sertsevoiu nedostatnistiu i znyzhenoi fraktsiieiu vykydu livoho shlunochka zalezno vid naiavnosti ta kharakteru zalozdefitsynoho stanu [Clinical and instrumental characteristics, clinical prognosis in patients with chronic heart failure and reduced left ventricular ejection fraction, depending on the presence and nature of the iron deficiency state]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, (5), 29-38. [in Ukrainian]. <http://doi.org/10.31928/1608-635X-2018.5.2938>
- [4] Dolynna, O. V. (2016). Patohenez ta shliakhy korektsii anemichnoho syndromu u patsientiv z khronichnoiu sertsevoiu nedostatnistiu [Pathogenesis and ways of correcting anemia syndrome in patients with chronic heart failure]. *Semeinaya meditsina*, (1), 58-62. [in Ukrainian].
- [5] Oslopov, V. N., Khazova, E. V., Khabibullina, R. T., Oslopova, D. V., Khanaphieva, A. L., Oslopova, Yu. V., Malkova, M. I., & Delian, A. M. (2019). Koronarnye, no ne ishemicheskie maski anemii [Coronary, but not ischemic anemia masks]. *Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny*, 12(5), 104-118. [in Russian]. [https://doi.org/10.20969/VSKM.2019.12\(5\).104-118](https://doi.org/10.20969/VSKM.2019.12(5).104-118)
- [6] Gorohovskaya, G. N., Martynov, A. I., Yun, V. L., & Petina, M. M. (2020). Sovremenniy vzglyad terapevta na problemu zhelezodefitsitnoi anemii u patsientov s serdechno-sosudistoi patologiei [The modern view of general practitioner on the problem of iron deficiency anemia in patients with cardiovascular pathology]. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, (14), 70-78. [in Russian]. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-14-70-78>
- [7] Sidaruk, S. P., Petrova, E. B., & Mitkovskaya, N. P. (2017). Anemiya pri serdechno-sosudistyykh zabolevaniyakh [Anemia in Cardiovascular Diseases]. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiiovaskulyarnye riski*, 1(1), 38-45. [in Russian].
- [8] Vatutin, N. T., Taradin, G. G., & Venzheha, V. V. (2019). Anemiya i zhelezodefitsit u bol'nykh s khronicheskoi serdechnoi nedostatchnost'yu [Anaemia and iron deficiency in chronic heart failure patients]. *Kardiologiya*, 59(4), 4-20. [in Russian]. <https://doi.org/10.18087/cardio.2638>
- [9] Sayar, N. (2017). *Stable Angina Pectoris*. Marmara University, Department of Cardiology (pp. 1-9). <http://www.smgebooks.com/Angina-Pectoris/chapters/AP-17-02.pdf>
- [10] Katerenchuk, O. I. (2017). Tipovi hematologichni syndromy v kardiologii: anemiya u patsientiv z ishemichnoiu sertsevoiu nedostatnistiu [Typical hematological syndromes in cardiology: anemia in patients with ischemic heart failure]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 2, 137-139. [in Ukrainian].
- [11] Kuskaeva, A. V., Nikulina, S. Yu, Chernova, A. A., & Aksyutina, N. V. (2016). Geneticheskie prediktory fibrillyatsii predserdii [Genetic predictors of atrial fibrillation]. *Ratsional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii*, 12(3), 331-336. [in Russian]. <https://doi.org/10.20969/1819-6446-2016-12-3-331-336>
- [12] Migone de Amicis, M., Chivite, D., Corbella, X., Cappellini, M. D., & Formiga, F. (2017). Anemia is a mortality prognostic factor in patients initially hospitalized for acute heart failure. *Internal and emergency medicine*, 12(6), 749-756. <https://doi.org/10.1007/s11739-017-1637-5>
- [13] Kim-Mitsuyama, S., Soejima, H., Yasuda, O., Node, K., Jinnouchi, H., Yamamoto, E., Sekigami, T., Ogawa, H., & Matsui, K. (2019). Anemia is an independent risk factor for cardiovascular and renal events in hypertensive outpatients with well-controlled blood pressure: a subgroup analysis of the ATTEMPT-CVD randomized trial. *Hypertension research*, 42(6), 883-891. <https://doi.org/10.1038/s41440-019-0210-1>
- [14] Paolillo, S., Scardovi, A. B., & Campodonico, J. (2020). Role of comorbidities in heart failure prognosis Part I: Anaemia, iron deficiency, diabetes, atrial fibrillation. *European journal of preventive cardiology*, 27(2_suppl), 27-34. <https://doi.org/10.1177/2047487320960288>
- [15] Cho, M. E., Hansen, J. L., Sauer, B. C., Cheung, A. K., Agarwal, A., & Greene, T. (2021). Heart Failure Hospitalization Risk associated with Iron Status in Veterans with CKD. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 16(4), 522-531. <https://doi.org/10.2215/CJN.15360920>
- [16] Lim, W. H., Choi, E. K., Han, K. D., Lee, S. R., Cha, M. J., & Oh, S. (2020). Impact of Hemoglobin Levels and Their Dynamic Changes on the Risk of Atrial Fibrillation: A Nationwide Population-Based Study. *Scientific reports*, 10(1), 6762. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63878-9>
- [17] Kalra, P. R., Greenlaw, N., Ferrari, R., Ford, I., Tardif, J. C., Tendera, M., Reid, C. M., Danchin, N., Stepinska, J., Steg, P. G., Fox, K. M., & Prospective observational Longitudinal Registry of patients with stable coronary artery disease (CLARIFY) Investigators (2017). Hemoglobin and Change in Hemoglobin Status Predict Mortality, Cardiovascular Events, and Bleeding in Stable Coronary Artery Disease. *The American journal of medicine*, 130(6), 720-730. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.01.002>
- [18] Abebe, T. B., Gebreyohannes, E. A., Bhagavathula, A. S., Tefera, Y. G., & Abegaz, T. M. (2017). Anemia in severe heart failure patients: does it predict prognosis?. *BMC cardiovascular disorders*, 17(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s12872-017-0680-5>
- [19] Davidsen, L., Kragholm, K. H., Aldahl, M., Polcwiartek, C., Torp-Pedersen, C., Soegaard, P., & Freeman, P. (2020). Long-term impact of baseline anaemia on clinical outcomes following percutaneous coronary intervention in stable angina. *Open heart*, 7(2), e001319. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2020-001319>

Clinical and pathomorphological analysis of deaths from COVID-19 in 2020

O. V. Riabokon¹*, L. M. Tumanska^{1,B,C}, V. V. Cherkaskyi^{1,2,B,C}, Yu. Yu. Riabokon^{1,D,E}

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Municipal non-profit enterprise "Regional Infectious Diseases Clinical Hospital" of Zaporizhzhia Regional Council, 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

The aim of the work – to conduct clinical and pathomorphological analysis of deaths from COVID-19 in 2020.

Materials and methods. We analyzed 41 case histories and results of pathological-anatomical examination of patients who were died of COVID-19 during 2020.

Results. The lethal outcome of COVID-19 disease was recorded at day 22 (16; 27) of the disease. Among the dead, there is a high percentage of men (73.2 %), early old age and middle old age patients (75.6 %) with comorbid pathology (92.7 %). Early lung damage with COVID-19 in the deceased was determined by pronounced interstitial and interstitial-alveolar edema, the presence of erythrocyte stasis in the pulmonary microvessels, blood clots and hypoperfusion leukocyte stasis, as well as the presence of erythrocytes in the alveoli. Bilateral polysegmental subtotal viral pneumonia in 90.2 % of dead patients was characterized by significant edema and thickening of the alveolar walls with their moderate infiltration by lymphocytes, focal peribronchial and perivascular inflammatory polymorphonuclear infiltration, multiple and small exfoliated alveolar epithelium (87.8 %), as well as metaplasia of a few alveolocytes preserved on the luminal surface of the alveoli (82.9 %). Every tenth person who died of COVID-19 had signs of secondary bacterial microflora. In 85.4 % of patients who died on day 22–27 of the disease focal or sublobar pneumofibrosis was diagnosed. In those who died due to COVID-19, multiorgan failure was characterized by focal necrosis of the renal tubular epithelium (73.2 %), focal lymphocytic-leukocyte infiltration (12.2 %) and renal microvascular thrombosis (17.1 %), focal centro-lobular necrosis (90.2 %) and focal lymphocytic-leukocyte infiltration of lobes (7.3 %) of the liver. Thrombotic complications were confirmed in 22.0 % of deceased patients: ischemic cerebral infarction, transmural myocardial infarction, pulmonary embolism, deep vein thrombosis of the lower extremities under the pathology. These thrombotic complications were not diagnosed during life in all patients. The majority of deaths due to COVID-19 had morphological signs of chronic cardiovascular pathology. Ischemic heart disease and hypertension during the life of patients were not diagnosed in all cases.

Conclusions. Early lung damage in COVID-19 in the deceased was determined by pronounced interstitial-alveolar edema, blood clots and leukocyte stasis in microvessels, less often – the presence of "hyaline membranes". In 90.2 % of the dead patients bilateral polysegmental subtotal pneumonia with edema and lymphocytic infiltration of the pulmonary interstitium, inflammatory peribronchial and perivascular focal polymorphonuclear infiltrates, foci of atelectasis and dyscrphaseses was found. In 9.7 % of patients bilateral subtotal viral-bacterial fibrinous-purulent bronchopneumonia developed. In those who died on the 22nd–27th day of the disease focal pneumofibrosis was determined. Pathomorphologically, thrombotic complications, which were not diagnosed in all patients during their lifetime, were confirmed in 22.0 % of deceased patients. Most deaths from COVID-19 had morphological signs of chronic cardiovascular disease.

Key words:
coronavirus
disease, COVID-19,
pathology.

Pathologia
2021; 18 (3), 269-277

*E-mail:
ryabokonksmu@ukr.net

Клініко-патоморфологічний аналіз летальних випадків внаслідок COVID-19 у 2020 році

О. В. Рябоконт, Л. М. Туманська, В. В. Черкаський, Ю. Ю. Рябоконт

Мета роботи – здійснити клініко-патоморфологічний аналіз летальних випадків від коронавірусної хвороби (COVID-19) у 2020 році.

Матеріали та методи. Проаналізували 41 історію хвороби та результати патологоанатомічного дослідження пацієнтів, які померли внаслідок COVID-19 протягом 2020 року.

Результати. Летальний наслідок від COVID-19 зафіксований на 22 (16; 27) добу захворювання із переважанням серед померлих чоловіків (73,2 %), пацієнтів похилого та старечого віку (75,6 %) із наявністю коморбідної патології (92,7 %). Раннє ураження легень при COVID-19 у померлих визначали як виразний інтерстиційний та інтерстиційно-альвеолярний набряк, наявність у легневих мікросудинах стазу еритроцитів, мікрогустків крові та гіперфузійних лейкоцитарних стазів, а також наявність в альвеолах еритроцитів, рідше – «гіалінових мембран». Двобічна полісегментарна субтотальна вірусна пневмонія в 90,2 % померлих хворих виявлялася як суттєвий набряк і потовщення стінок альвеол із помірно інфільтрацією лімфоцитами, вогнищевою перибронхіальною та периваскулярною запальною поліморфноклітинною інфільтрацією, множинними дрібними вогнищами ателектазів і дислектазів, наявність в альвеолах скупчень еритроцитів, гемосидерофагів і макрофагів, злушеного альвеолярного епітелію (87,8 %), а також метаплазії нечисленних альвеолоцитів, що збереглися на люмінальній поверхні альвеол (82,9 %).

У кожного десятого померлого від COVID-19 зафіксували ознаки приєднання вторинної бактеріальної мікрофлори. У 85,4 % померлих на 22–27 добу хвороби встановили великовогнищевий або сублобарний пневмофіброз. У померлих

Ключові слова:
коронавірусна
хвороба COVID-19,
патологія.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 269-277

унаслідок COVID-19 поліорганна недостатність характеризувалася вогнищевим некрозом епітелію каналців нирок (73,2 %), вогнищевою лімфоцитарно-лейкоцитарною інфільтрацією (12,2 %), тромбозом мікросудин (17,1 %) нирок, вогнищевими центролобулярними некрозами (90,2 %) та вогнищевою лімфоцитарно-лейкоцитарною інфільтрацією часток (7,3 %) печінки. Тромботичні ускладнення патоморфологічно підтверджені у 22,0 % померлих: ішемічний інфаркт головного мозку, трансмуральний інфаркт міокарда, інфаркт міокарда, що ускладнився вогнищевою інфаркт-пневмонією через ТЕЛА дрібних гілок легеневої артерії, рецидивна ТЕЛА дрібних гілок легеневої артерії з формуванням множинних інфарктів легень різної давнини, тромбоз глибоких вен верхньої кінцівки.

У більшості померлих унаслідок COVID-19 виявляли морфологічні ознаки хронічної серцево-судинної патології. Ішемічна хвороба серця та гіпертонічна хвороба в деяких випадках не були діагностовані за життя пацієнтів.

Висновки. Раннє ураження легень при COVID-19 у померлих визначали за виразним інтерстиційно-альвеолярним набряком, мікросгустками крові та лейкоцитарними стазами в мікросудинах, рідше – за наявністю «гіалінових мембран». У 90,2 % померлих виявлена двобічна полісегментарна субтотальна пневмонія з набряком і лімфоцитарною інфільтрацією легеневого інтерстицію, запальними перибронхіальними та периваскулярними вогнищевими поліморфноклітинними інфільтратами, вогнищами ателектазів і дислектазів, наявністю в альвеолах еритроцитів, гемосидерофагів, макрофагів, диспластично зміненого та злушеного альвеолярного епітелію. У 9,7 % хворих виникла двобічна субтотальна вірусно-бактерійна фібринозно-гнійна бронхопневмонія. У померлих на 22–27 добу хвороби реєстрували великовогнищевий пневмофіброз. Патоморфологічно тромботичні ускладнення підтверджені у 22,0 % померлих, які за життя вдалося діагностувати не в усіх пацієнтів. У більшості померлих унаслідок COVID-19 виявляли морфологічні ознаки хронічної серцево-судинної патології.

Ключевые слова:
коронавирусная
болезнь COVID-19,
патология.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 269-277

Клинико-патоморфологический анализ летальных случаев вследствие COVID-19 в 2020 году

Е. В. Рябоконт, Л. М. Туманская, В. В. Черкасский, Ю. Ю. Рябоконт

Цель работы – провести клинико-патоморфологический анализ летальных случаев от коронавирусной болезни (COVID-19) в 2020 году.

Материалы и методы. Проанализировали 41 историю болезни и результаты патологоанатомического исследования пациентов, умерших вследствие COVID-19 в 2020 году.

Результаты. Летальный исход вследствие COVID-19 зафиксирован на 22 (16; 27) сутки болезни с преобладанием среди заболевших мужчин (73,2 %), пациентов пожилого и старческого возраста (75,6 %) с наличием коморбидной патологии (92,7 %). Раннее поражение лёгких при COVID-19 у умерших проявлялось выраженным интерстициальным и интерстициально-альвеолярным отёком, наличием в микрососудах лёгких стаза эритроцитов, микросгустков крови и гипоперфузионных лейкоцитарных стазов, а также наличием в альвеолах эритроцитов, реже – «гиалиновых мембран». Двусторонняя полисегментарная субтотальная вирусная пневмония у 90,2 % умерших пациентов проявлялась значительным отёком и утолщением стенок альвеол с умеренной инфильтрацией лимфоцитами, очаговой перибронхиальной и периваскулярной воспалительной инфильтрацией, множественными мелкими очагами ателектазов и дислектазов, наличием в альвеолах скоплений эритроцитов, гемосидерофагов и макрофагов, слушенного альвеолярного эпителия (87,2 %), а также метаплазии немногочисленных альвеоцитов, которые сохранились на люминальной поверхности альвеол (82,9 %).

У каждого десятого умершего от COVID-19 отмечены признаки присоединения вторичной бактериальной микрофлоры. У 85,4 % умерших на 22–27 сутки болезни пациентов фиксировали крупноочаговый или сублобарный пневмофиброз. У умерших от COVID-19 полиорганная недостаточность характеризовалась очаговым некрозом эпителия каналцев почек (73,2 %), очаговой лимфоцитарно-лейкоцитарной инфильтрацией (12,2 %), тромбозом микрососудов (17,1 %) почек, очаговыми центролобулярными некрозами (90,2 %) и очаговой лимфоцитарно-лейкоцитарной инфильтрацией долек (7,3 %) печени.

Тромботические осложнения патоморфологически подтверждены у 22,0 % умерших пациентов: ишемический инфаркт головного мозга, трансмуральный инфаркт миокарда, инфаркт миокарда, осложнившийся очаговой инфаркт-пневмонией из-за ТЕЛА мелких ветвей лёгочной артерии, рецидивизирующая ТЕЛА мелких ветвей лёгочной артерии с формированием множественных инфарктов лёгких разной давности, тромбоз глубоких вен верхней конечности. У большинства умерших вследствие COVID-19 отмечены морфологические признаки хронической сердечно-сосудистой патологии. Ишемическая болезнь сердца и гипертоническая болезнь при жизни пациентов диагностированы не во всех случаях.

Выводы. Раннее поражение лёгких при COVID-19 у умерших определялось выраженным интерстициально-альвеолярным отёком, микросгустками крови и лейкоцитарными стазами в микрососудах, реже – наличием «гиалиновых мембран». У 90,2 % умерших пациентов зафиксирована двусторонняя полисегментарная субтотальная пневмония с отёком и лимфолейкоцитарной инфильтрацией лёгочного интерстиция, воспалительными перибронхиальными и периваскулярными очаговыми полиморфноклеточными инфильтратами, очагами ателектазов и дислектазов, наличием в альвеолах эритроцитов, гемосидерофагов, макрофагов, диспластически измененного и слушенного альвеолярного эпителия. У 9,7 % больных возникла двусторонняя субтотальная вирусно-бактериальная фибринозно-гнойная бронхопневмония. У умерших на 22–27 сутки болезни регистрировали крупноочаговый пневмофиброз. Патоморфологически тромботические осложнения подтверждены у 22,0 % умерших, которые при жизни удалось диагностировать не у всех пациентов. У большинства умерших вследствие COVID-19 установлены морфологические признаки хронической сердечно-сосудистой патологии.

Under the conditions of pandemic spread of coronavirus SARS-CoV-2, every fifth patient develops a severe course of the disease with a high risk of death [1]. Even in the presence of modern diagnostic tests, pathomorphological examination of deaths during the pandemic of the new coronavirus COVID-19 is of particular importance and can significantly affect the understanding of the disease pathogenesis. The data obtained may have an impact on the therapeutic strategy for the treatment of a new infection [2].

It is known that ACE2 is a receptor that uses SARS-CoV and SARS-CoV-2 to penetrate the target cell [3,4]. At the tissue level, ACE2-receptors are highly expressed in the lungs, kidneys, heart, and vascular endothelium, which may explain the presence of multiorgan lesions in patients with SARS-CoV and SARS-CoV-2 coronavirus [5,6]. The appearance of multiorgan lesions can be explained by the development of "cytokine storm" in conditions of severe and critical course of the disease. "Cytokine storm" can be a manifestation of a hyperimmune response with hyperproduction of proinflammatory cytokines and chemokines by immune cells and the development of systemic endotheliitis with hypercoagulation [7,8]. Despite the fact that in the pandemic of highly contagious COVID-19 pathomorphological studies are somewhat limited, the accumulation of results of these studies continues [9–12]. At the same time, the clinical and pathomorphological analysis of the obtained results is of special importance.

Aim

The aim of the work – to conduct clinical and pathomorphological analysis of deaths from COVID-19 in 2020.

Materials and methods

We analyzed 41 case histories and results of pathoanatomical examination of patients who were treated in the intensive care unit of the Municipal Non-Profit Enterprise "Regional infectious diseases clinical hospital" of Zaporizhzhia Regional Council and died of coronavirus COVID-19 during 2020. Pathoanatomical examination was performed in Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional Bureau of Forensic Medical Examination" of Zaporizhzhia Regional Council.

Age of the dead was from 48 to 85 years. There were 30 men and 11 women. The diagnosis of COVID-19 in all cases was confirmed by the isolation of SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal mucus or sputum. All patients were examined and treated in accordance with current regulations: Order of the Ministry of Health (MOH) of Ukraine dated 28.03.2020, No. 722 "Organization of medical care for patients with coronavirus disease (COVID-19)" (as amended by the order of the MOH of Ukraine dated 17.09.2020, No. 2122 "On amendments to the Standards of medical care of "Coronavirus disease (COVID-19)"); Order of the MOH of Ukraine No. 10 dated 07.01.2021 "On approval of Amendments to the Standards of medical care of "Coronavirus disease (COVID-19)"; Order of the MOH of Ukraine dated April 6, 2021 No. 638 "Protocol for the provision of medical care for the treatment of coronavirus disease (COVID-19)".

Statistical data processing was performed in the program Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., license number JPZ804I382130ARCN10-J).

Results

According to the results of the analysis, it was found that men predominated among those who died as a result of COVID-19 (n = 30, 73.2 %). More than half of the patients were early old aged (n = 23, 56.1 %), every fourth patient was middle adulthood (n = 10, 24.4 %), and every fifth was middle old aged (n = 8, 19.5 %).

Patients were hospitalized in an infectious hospital at day 9.0 [7.0; 12.0] of illness, and after deterioration – by day 8.5 [6.0; 11.0] of treatment in an outpatient setting. Deterioration was expressed by febrile (n = 26, 63.4 %) or subfebrile (n = 13, 31.7 %) fever, shortness of breath with a respiratory rate of 28.0 [28.0; 32.0] per minute, hemoptysis (n = 4, 9.8 %), reducing oxygen saturation to 82.0 [75.0; 86.0] %, short-term diarrheal syndrome (n = 5, 12.2 %). At hospitalization, all patients had auscultatory signs (respiratory failure, crepitation) of bilateral pneumonia, which was confirmed radiologically, by computed tomography or lungs ultrasound with a lesion of 56.0 [51.0; 62.5] % of the lungs. The development of acute respiratory failure was accompanied by the appearance of acrocyanosis (n = 27, 65.9 %), and 2 (4.9 %) patients were taken to the intensive care unit (ICU) from other hospitals on artificial ventilation of the lungs (AVL).

Patients showed the following laboratory changes that characterized the severity of immune inflammation and hypercoagulation: leukocytosis in 29 (70.7 %) patients, the median of this indicator was 11.1 [7.9; 13.7] $\times 10^9/l$; band neutrophils shift in 16 (39.0 %) with the presence of metamyelocytes in 2 (4.9 %) patients; development of absolute lymphopenia from 1.00 to 0.39 with a median of 0.8 [0.6; 1.1] $\times 10^9/l$ in the vast majority of patients (n = 35, 85.4 %); acceleration of ESR to 38.0 [25.0; 47.0] mm/h; increase in C-reactive protein in all patients to 150.5 [101.5; 235.5] ng/ml; increasing the level of interleukin-6 to 60.1 [25.0; 81.4] ng/ml; hyperfibrinogenemia from 4.8 to 8.4 g/l in 32 (78.0 %) patients with a median of this indicator of 5.1 [4.3; 6.4] g/l; increasing the level of D-dimer to 1.4 [0.9; 9.4] mg/l and ferritin to 760.0 [482.0; 1148.0] ng/ml.

The duration of patients treatment in the ICU was from 2 to 38 days, the median was 11.0 [7.0; 18.0] days. During this period, patients received treatment according to the protocol of the MOH of Ukraine, every fifth patient (n = 8, 19.5 %) received tocilizumab. Despite the ongoing treatment, these patients progressed to respiratory failure, which required the transfer of patients to non-invasive ventilation or AVL. The median duration of AVL was 2.0 [1.0; 6.0] days. The dynamics increased the proportion of patients with signs of leukocytosis (n = 39, 95.1 %) with a median of this indicator of 16.2 [12.5; 24.2] $\times 10^9/l$. It should be noted that every fourth patient (n = 11, 26.8 %) has hyperleukocytosis in the range from 20.3 to 54.4 $\times 10^9/l$. The increase in endogenous intoxication and immune inflammation with hypercoagulation was evidenced by the preservation of absolute lymphopenia

Table 1. Pathomorphological changes in the lungs of patients who died of COVID-19, abs (%)

Pathomorphological sign	Detection frequency (n = 41)
Interstitial-alveolar pulmonary edema with the presence of erythrocyte stasis and blood clots in microvessels	41 (100 %)
Bilateral polysegmental subtotal viral pneumonia:	37 (90.2 %)
– edema and thickening of the alveoli walls with moderate lymphocytic-leukocyte infiltration;	37 (90.2 %)
– focal peribronchial and perivascular inflammatory polymorphonuclear infiltration;	37 (90.2 %)
– multiple small foci of atelectases and dyslectases;	37 (90.2 %)
– the presence of erythrocytes, hemosiderophages, macrophages, squamous alveolar epithelium in the alveoli;	36 (87.8 %)
– metaplasia of small alveolocytes on the luminal surface of the alveoli;	34 (82.9 %)
– presence of fibrin in some parietal layers alveoli – “hyaline membranes”;	15 (36.6 %)
– hypoperfusion leukocyte stasis in microvessels.	11 (26.8 %)
Interveolar fibrosis, perivascular and peribronchial fibrosis	35 (85.4 %)
Big-focal or sublobar pneumosclerosis	35 (85.4 %)
Bilateral hydrothorax	9 (21.9 %)
Fibrinous-purulent tracheobronchitis and bilateral subtotal viral-bacterial fibrinous-purulent bronchopneumonia	4 (9.7 %)
Bilateral fibrinous-purulent pleuritis	3 (7.3 %)

(n = 24, 58.5 %), band neutrophils shift (n = 10, 24.4 %), an increase in the proportion of patients with metamyelocytes (n = 17, 41.5 %), an increase of median D-dimer level up to 5.5 [1.6; 21.1] mg/l. Despite treatment, hyperfibrinogenemia persisted (n = 28, 68.3 %), increasing the level of C-reactive protein to 127.0 [42.0; 221.0] mg/l and ferritin to 511.0 [360.0; 1314.0] ng/ml.

Fatal outcome of COVID-19 disease was recorded at day 22.0 [16.0; 27.0] of the disease. Pathomorphological signs of early lung damage in COVID-19 in the deceased were determined by pronounced interstitial and interstitial-alveolar edema, the presence in the pulmonary microvessels of erythrocytes stasis and blood clots and hypoperfusion leukocyte stasis, and erythrocytes in alveoli (Fig. 1, 2). The presence of fibrin in the alveoli of the parietal layers, the so-called “hyaline membranes” occurred in 36.6 % of deceased patients (Table 1).

The vast majority of patients (90.2 %) subsequently developed bilateral polysegmental subtotal viral pneumonia. According to pathomorphological data (Fig. 2, 3, 4), it was characterized by significant edema and thickening of the alveolar walls with their moderate predominantly lymphocytic infiltration (90.2 %), focal peribronchial and perivascular inflammatory polymorphonuclear infiltration (90.2 %), multiple small atelectases and dyslectases (90.2 %), the presence of erythrocytes clusters, hemosiderophages and macrophages, squamous alveolar epithelium in the alveoli (87.8 %), and metaplasia of a few alveolocytes preserved on the luminal surface of the alveoli (82.9 %). Bilateral subtotal viral-bacterial fibrinous-purulent bronchopneumonia (9.7 %) was detected in 4 deceased men during the pathomorphological examination of the lungs (Table 1). In these cases, treatment in the ICU lasted from 17 to 24 days. Patients received sequential oxygen therapy in a mask mode, then non-invasive lung ventilation and only during the last 1–2 days were transferred to ALV. In 35 (85.4 %) patients, who died on day 22–27 of the disease, there were fibrosis of the interalveolar septa, perivascular and peribronchial fibrosis (Fig. 5), big-focal or sublobar pneumosclerosis (Fig. 6).

One 54-year-old patient treated with a protocol using immunotropic drugs (including tocilizumab, for the correction of clinical and laboratory manifestations of “cytokine storm”), antibacterial drugs and low molecular

weight heparins, was diagnosed in the second week of the disease with sepsis (progression of respiratory failure, multiorgan failure syndrome, bacteriologically isolated from the blood *Klebsiella pneumonia*). The lethal outcome was recorded after three weeks of treatment. At pathoanatomical examination in the lung tissue, along with the presence of bilateral polysegmental subtotal hemorrhagic viral pneumonia signs, there was fibrinous-purulent pleurisy with pronounced inflammatory polymorphic-cellular infiltration of the layers of the parietal and visceral pleura, fibrinous-purulent tracheobronchitis. Foci of leukocyte-lymphocytic infiltration, as well as tubular necrosis of the kidneys and centrolobular necrosis of the liver were found in the tissue of the kidneys and liver. Morphological manifestations of sepsis were characterized by the presence of septic spleen: foci of red pulp myelosis, plasma-leukocyte infiltration, hemolysis of erythrocytes, hemosiderin sedimentation, foci of necrosis.

It should be noted that the unfavorable course of COVID-19 was facilitated by comorbid pathology, which was diagnosed in life in 38 (92.7 %) patients who died from COVID-19. Thus, the vast majority had cardiovascular comorbidities, namely coronary heart disease (80.5 %) with arrhythmias in the form of permanent atrial fibrillation (29.3 %) and hypertension (75.6 %). The presence of type 2 diabetes mellitus in almost half of patients (46.3 %) and grade II–III obesity in every third patient (31.7 %) is noteworthy. It should be noted that more than half of the COVID-19 patients who died had a combination of three or more comorbid conditions (Fig. 7).

Pathomorphological changes in other organs of those who died due to COVID-19 reflect multiorgan failure, which arose due to acute respiratory failure of III degree and endogenous intoxication. On the other hand, pathomorphological changes indicate the presence of a number of comorbid states. It should be noted that pathomorphological signs of comorbid cardiovascular pathology were found somewhat more often than was diagnosed in life. There was high frequency of pathomorphological signs detection of necrotic changes in the kidneys (73.2 %), liver (90.2 %), selective neuronal necrosis in the brain (19.5 %) (Table 2).

According to the results of pathoanatomical examination, 9 (22.0 %) deaths due to COVID-19 developed

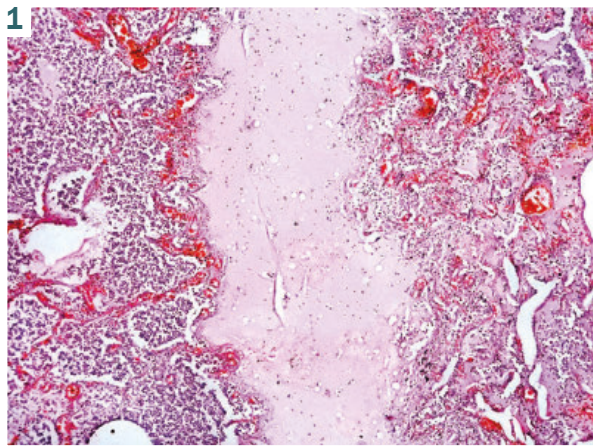


Fig. 1. Bilateral polysegmental pneumonia in COVID-19: significant swelling of the interlobular interstitium, lymphocyte-leukocyte exudate in the alveoli. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 100$.

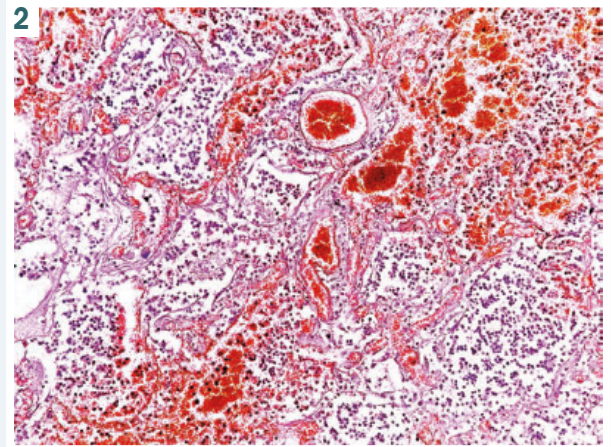


Fig. 2. Bilateral polysegmental pneumonia in COVID-19: microvascular hyperemia and edema of the interalveolar septa, blood clots in the arterioles and venules, lymphocyte-leukocyte exudate and erythrocytes in the alveoli. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 400$.

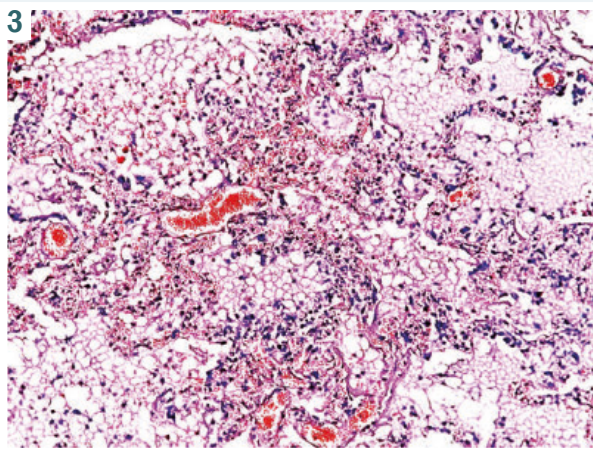


Fig. 3. Bilateral polysegmental pneumonia with COVID-19: predominantly alveolar edema, alveolocyte metaplasia. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 400$.

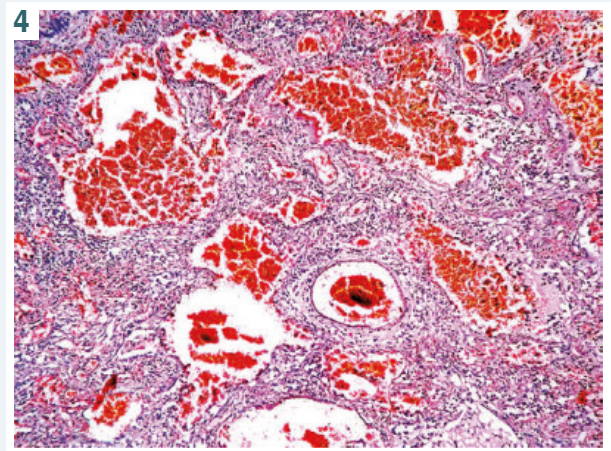


Fig. 4. Bilateral polysegmental pneumonia in COVID-19: mainly lymphocytic infiltration of thickened interalveolar septa, desquamation of alveolocytes, erythrocytes in alveoli. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 300$.

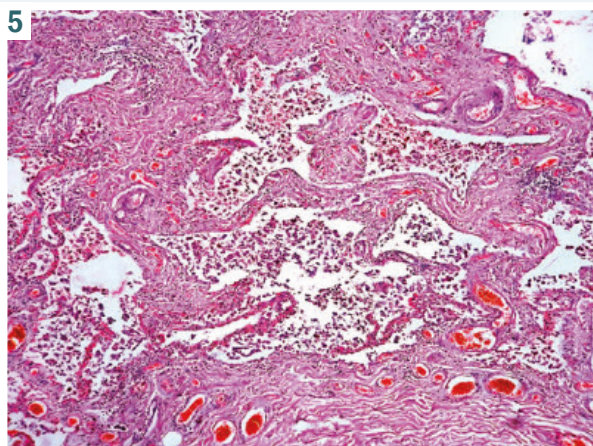


Fig. 5. Interalveolar membranes fibrosis, desquamated alveolocytes and macrophages in alveoli in bilateral polysegmental COVID-19 pneumonia. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 200$.

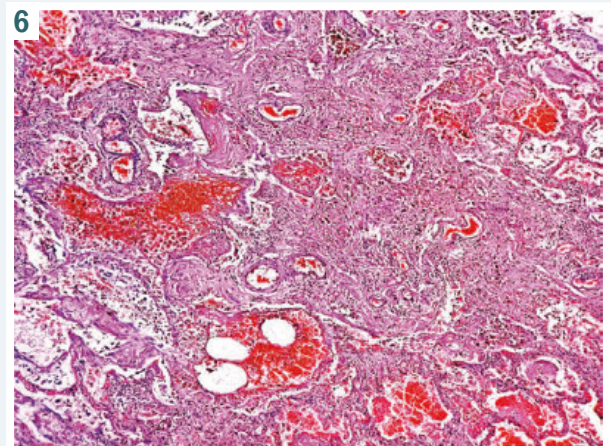


Fig. 6. Focal pneumosclerosis; erythrocytes, desquamated alveolocytes, macrophages and hemosiderophages in the alveoli in bilateral polysegmental COVID-19 pneumonia. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 200$.

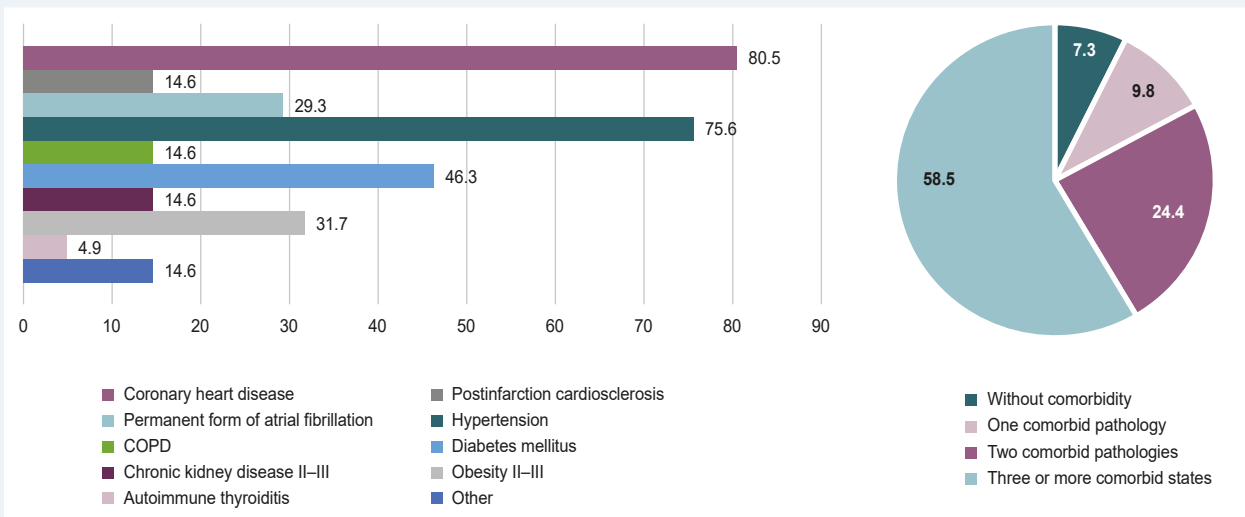


Fig. 7. The spectrum of comorbidity (A) and the combination of the frequency of comorbid conditions (B) of those who died as a result of COVID-19 (%).

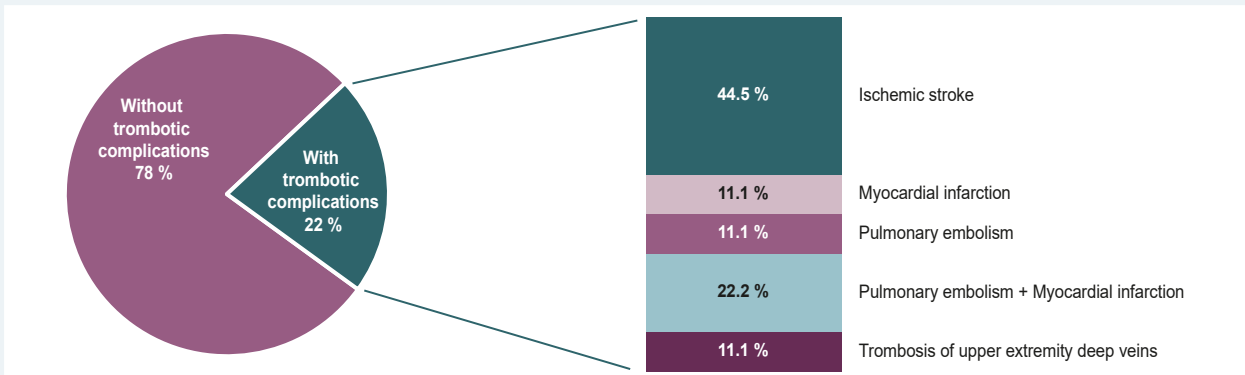


Fig. 8. Frequency and spectrum of pathological-anatomical signs detection of thrombotic complications in patients who died due to COVID-19 (%).

Table 2. Pathomorphological changes in other organs of patients who died of COVID-19, abs (%)

Pathomorphological sign	Detection frequency (n = 41)
Heart	
Atherosclerosis of coronary arteries in the stage of atheromatosis and calcification, stenosis of coronary arteries from 50 % to 75 %;	36 (87.8 %)
Diffuse interstitial cardiosclerosis;	37 (90.2 %)
Big-focal postinfarction cardiosclerosis;	3 (7.3 %)
Concentric or eccentric myocardial hypertrophy	32 (78.0 %)
Kidneys	
Acute tubular necrosis	30 (73.2 %)
Focal leuko-lymphocytic infiltration	5 (12.2 %)
Micro blood clots in blood vessels	7 (17.1 %)
Focal arterionephrosclerosis	25 (61.0 %)
Liver	
Focal centro-lobular necrosis	37 (90.2 %)
Foci of leuko-lymphocytic infiltration of the interstitial	3 (7.3 %)
Brain	
Ischemic stroke	4 (9.8 %)
Cerebral edema	25 (61.0 %)
Focal selective-neuronal complete and incomplete necrosis	8 (19.5 %)
Pancreas	
Liposclerosis and lipomatosis of the interparticle spaces with atrophy of the islet apparatus	12 (29.3 %)
Islet atrophy with amyloid accumulation and vascular hyalinosis	4 (9.8 %)

thrombotic complications. They led to the development of ischemic heart attack (4 patients); transmural myocardial infarction (1 patient); myocardial infarction complicated by focal infarction-pneumonia due to pulmonary embolism of small vessels of the pulmonary artery (2 patients); recurrent pulmonary embolism of small vessels of the pulmonary artery with the formation of multiple pulmonary infarctions of different statutes of limitations (1 patient); deep vein thrombosis of the upper extremity (1 patient) (Fig. 8). Thrombotic complications were not diagnosed during life in all patients: ischemic cerebral infarction was diagnosed in life in 3 patients on the basis of relevant clinical symptoms, transmural myocardial infarction – in 2 patients by electrocardiographic changes and elevated serum troponin I. Pulmonary embolism has not been diagnosed in a lifetime (Fig. 2).

Discussion

In the first publications of Chinese researchers, male gender and older age of patients with COVID-19 were identified as risk factors for adverse disease [13]. It was demonstrated that among patients in need of intensive care, death was observed mainly in patients older than 60 years. Each increase in age by 10 years was associ-

ated with a 58 % additional risk of adverse effects [14]. According to our data, 75.6 % of deaths due to COVID-19 are elderly and senile. However, the data presented in the literature on the effects of COVID-19 on the sex of the patient, show some contradictions. Thus, the authors [14] did not find differences in the survival of patients with severe COVID-19 depending on gender, but other researchers [15] showed a predominance of male patients (67 %) among those who died. According to the results of our study, men significantly predominated among those who died as a result of COVID-19 (73.2 %). It is assumed that one of the explanations for the higher percentage of severe COVID-19 and, accordingly, lethal outcome in men is a more pronounced expression of ACE2 than in women, but this statement still needs further study [16].

It is believed that the most common pathological sign in lethal cases of COVID-19 is diffuse alveolar damage [11,12]. In COVID-19, the acute stage is characterized by the presence of "hyaline membranes", and the phase of organization – varying degrees of fibroblasts and myofibroblasts proliferation [11,12]. Signs of diffuse alveolar damage have been described even in the absence of pulmonary ventilation, which was an additional confirmation of the viral nature of the changes found, excluding the effects of ventilation and oxygen [11,17]. Pathomorphological manifestations of diffuse alveolar damage in COVID-19 in 8 of 12 correspond to early acute respiratory distress syndrome [10]. The predominant findings are protein-enriched interstitial edema, "hyaline membranes", activated pneumocytes, microvascular thromboembolism, blood stasis in capillaries [10], as well as the presence of inflammation signs with lymphocytic infiltration [17]. Alveolar septa are unevenly dilated due to infiltrates of varying severity. They consist mainly of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes [11,17].

According to the results of our study, the early and dominant in the subsequent course of COVID-19 signs of lung damage in all deaths due to COVID-19 were significant interstitial-alveolar pulmonary edema with the presence of erythrocyte stasis and blood clots in microvessels. Bilateral polysegmental subtotal viral pneumonia in 90.2 % of deceased patients was manifested by significant edema and thickening of the alveoli walls with their moderate infiltration by lymphocytes, focal peribronchial and perivascular inflammatory polymorphonuclear infiltration, multiple small atelectases and dislectases. In the majority (87.8 %) of deaths from COVID-19, the presence of erythrocyte clusters, hemosiderophages and macrophages, squamous alveolar epithelium, as well as metaplasia of a few alveolocytes on the luminal surface of the alveoli (82.9 % of deaths) was determined. It was combined with the presence of absolute lymphopenia in the peripheral blood of 75.6 % patients. In patients with COVID-19, peripheral blood lymphopenia correlated with lymphocytic infiltration of the lungs. It was found during morphological examination of the lungs in the deceased, as reported by other researchers [14]. In their opinion, this coincides with the pathogenetic mechanism of viral infection.

Zinserling et al. [18] pay attention to the lesions that indicate a direct effect of the COVID-19: desquamation of the ciliated epithelial cells, the appearance of viral

inclusions in the cells of the alveolar epithelium [18]. The role of the virus in the formation of these pathomorphological changes confirms the positive result of PCR on RNA SARS-CoV-2 in the study of lung tissue of deceased patients (9 of 12) in the range from 1.2×10^4 to 9.0×10^9 copies/ml [10]. Under conditions of viral infection, there is a significant cellular immune response. This is evidenced by mononuclear infiltration of lung tissue with the largest number of CD3⁺ T lymphocytes. Among them, CD2⁺, CD5⁺, CD8⁺ and the formation of small peribronchial clusters (CD20⁺) by B-lymphocytes are most often detected [18]. According to D. Wichmann et al. [10] epithelial metaplasia occurs at later stages of COVID-19.

The appearance of neutrophils in the lungs in diffuse alveolar damage is explained by the addition of secondary bacterial microflora [11,12]. The addition of secondary bacterial microflora in our study was pathomorphologically confirmed by the development of fibrinous-purulent tracheobronchitis and bilateral subtotal fibrinous-purulent bronchopneumonia in 4 patients, as well as bilateral fibrinous-purulent pleurisy in 3 (7.3 %) patients. Big-focal or sublobar pneumofibrosis was detected by us in 35 (85.4 %) patients who died on day 22–27 of the disease.

Particular attention is drawn to acute kidney damage, despite the fact that the respiratory system is the main target in COVID-19. It can also have a significant impact on the prognosis. Today, data on morphological changes that occur in the kidneys in patients with a critical course of this infection are accumulating. Thus, H. Su et al. [9] analyzed the pathological changes in the kidney tissue of 26 deaths due to the progression of respiratory failure and multiorgan failure syndrome in COVID-19. In 34.6 % of patients, there were laboratory signs in vivo of renal impairment in the form of increased serum creatinine and/or proteinuria, which occurred for the first time [9]. Pathomorphological signs of kidney damage according to the results of light microscopy were represented by diffuse damage to the proximal tubules with loss of border and even foci of necrosis. According to the results of electron microscopic examination, the researchers found accumulations of coronavirus-like particles in the tubular epithelium and in the podocytes of the glomeruli. The main targets for SARS-CoV-2 are tubular and glomerular visceral renal epithelial cells [9]. According to the results of our study, a lifetime increasing in creatinine levels in most patients (75.6 %) with a critical course of the disease was found. It revealed the pathomorphological examination in COVID-19 patients: acute tubular necrosis signs (73.2 %), focal leukocyte infiltration (12.2 %) and microthrombosis (17.1 %). Literature data suggest that renal cells absorb factors including systemic hypoxia, abnormal coagulation, and possibly rhabdomyolysis, which is associated with drug or hyperventilation [9]. Also immune inflammation was found. It was confirmed by immunohistochemical infiltration of T-lymphocytes (CD3⁺, CD8⁺) tissues of many organs, including the intestines, kidneys, adrenal glands [18].

In the modern literature in many studies, the authors draw attention to the significant frequency of thrombotic complications that occur in severe and critical course of COVID-19, and the complexity of their lifelong diagnosis [10,17]. This feature in COVID-19 is explained by the high

expression of ACE2 in the vascular endothelium. This to some extent explains both the presence of multiorgan lesions and the high risk of thrombosis [6]. The study of pathomorphological signs of thrombosis in patients with COVID-19 allowed researchers to use the term “pulmonary vasculopathy” [19,20]. Autopsy revealed deep vein thrombosis in 58 % of patients in whom venous thromboembolism was not suspected in life [10]. Pulmonary artery thromboembolism was the direct cause of death in one in three deaths due to COVID-19, while microthrombi were regularly detected in small arteries [10]. In our study, more than one in five deaths (22.0 %) due to COVID-19 was pathomorphologically diagnosed with signs of thrombotic complications, the presence of which in almost half of the cases was not established during life. Other researchers report the absence of clinical symptoms of thrombotic complications, including pulmonary embolism [17]. Researchers report clear macroscopic signs of pulmonary embolism in a pathoanatomical study in one of three deaths due to COVID-19 [11]. In addition, researchers have documented several cases not only of pulmonary embolism but also of prostate vein thrombosis, the presence of blood clots in the glomerular capillaries of the kidneys and alveolar capillaries [11].

When analyzing the results of pathomorphological changes, one should pay attention to the high frequency of morphological features in different organs. These changes indicate the presence of chronic comorbidities and a slightly lower level of lifelong diagnosis of these conditions. The vast majority of deaths due to COVID-19 had morphological signs of chronic cardiovascular pathology in the form of diffuse interstitial cardiosclerosis (90.2 %), big-focal postinfarction cardiosclerosis (7.3 %), atherosclerosis of coronary arteries with 50–75 % stenosis (87.8 %), myocardial hypertrophy (78.0 %), focal arterionephrosclerosis (61.0 %). It should be noted that lifelong coronary heart disease was diagnosed in 80.5 % and hypertension in 75.6 % of patients. Literature data also indicate that pre-existing chronic diseases can be identified in all deaths due to COVID-19 [10] with a predominance of the cardiovascular system chronic pathology in most cases, including high-grade coronary artery sclerosis; myocardial scarring, which indicates coronary heart disease, and congestive cardiomyopathy [10]. In the study [17], authors reported the detection of myocardial hypertrophy signs, atherosclerosis of the coronary artery with microscopic acute ischemia signs. Our previous studies on the prognostic role of comorbid pathology in COVID-19 demonstrated a statistically significant effect of the presence of chronic cardiovascular pathology and chronic kidney disease [21].

Conclusions

1. The lethal outcome of COVID-19 disease was recorded at day 22.0 [16.0; 27.0] of the disease. Among the dead, there is high percentage of early old age and middle old age patients (75.6 %), men (73.2 %), patients with comorbid pathology (92.7 %).

2. Early lung damage with COVID-19 in the deceased was determined by pronounced interstitial and interstitial-alveolar edema, the presence of erythrocyte

stasis, blood clots and hypoperfusion leukocyte stasis in the pulmonary microvessels, as well as the presence in the alveoli of erythrocytes.

3. Bilateral polysegmental subtotal viral pneumonia in 90.2 % of dead patients was characterized by significant edema and thickening of the alveolar walls with their moderate infiltration by lymphocytes, focal peribronchial and perivascular inflammatory polymorphonuclear infiltration, multiple and small exfoliated alveolar epithelium (87.8 %), as well as metaplasia of a few alveolocytes preserved on the luminal surface of the alveoli (82.9 %).

4. One of ten deaths from COVID-19 showed signs of secondary bacterial microflora in the form of fibrinous-purulent tracheobronchitis and bilateral subtotal fibrinous-purulent bronchopneumonia, as well as bilateral fibrinous-purulent pleurisy (7.3 %) and sepsis. In 85.4 % of patients who died on day 22–27 of the disease focal or sublobar pneumofibrosis is determined.

5. In those who died as a result of COVID-19, multiorgan failure is characterized by focal necrosis of the renal tubular epithelium (73.2 %), focal lymphocytic-leukocyte infiltration (12.2 %) and renal microvascular thrombosis (17.1 %), focal centro-lobular necrosis 90.2 %) and focal lymphocytic-leukocyte infiltration of lobes (7.3 %) of the liver. Lifetime laboratory signs of renal failure were found in 75.6 % of patients, and hepatic failure – in 68.3 % of patients.

6. Pathomorphologically confirmed thrombotic complications occurred in 22.0 % of deceased patients: ischemic cerebral infarction (4 patients); transmural myocardial infarction (1 patient); myocardial infarction complicated by focal infarction pneumonia due to pulmonary embolism of pulmonary artery small vessels (2 patients); recurrent pulmonary embolism of pulmonary artery small vessels with the formation of multiple pulmonary infarctions of different ages (1 patient); deep vein thrombosis of the upper extremity (1 patient).

7. Morphological signs of chronic coronary heart disease and hypertension were identified in most deaths due to COVID-19: atherosclerosis and 50–75 % coronary artery stenosis (87.8 %), diffuse interstitial cardiosclerosis (90.2 %), focal postinfarction cardiomyocardial infarction (7.3 %), myocardial hypertrophy (78.0 %), focal arterionephrosclerosis (61.0 %). At the same time during the life of patients ischemic heart disease was diagnosed in 80.5 % of cases, hypertension – in 75.6 % of cases.

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

Надійшло до редакції / Received: 09.10.2021

Після доопрацювання / Revised: 13.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2021

Information about authors:

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

ORCID ID: [0000-0002-7394-4649](https://orcid.org/0000-0002-7394-4649)

Tumanska L. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Cherkaskyi V. V., Assistant Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University; Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Municipal Non-profit Enterprise "Regional Infectious Diseases Clinical Hospital" of Zaporizhzhia Regional Council, Ukraine. Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-2273-8511](https://orcid.org/0000-0002-2273-8511)

Відомості про авторів:

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

Туманська А. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Черкаський В. В., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет; зав. відділення анестезіології та інтенсивної терапії, КНП «Обласна інфекційна клінічна лікарня» ЗОР, м. Запоріжжя, Україна.

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

Сведения об авторах:

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

Туманская А. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Черкацкий В. В., ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет; зав. отделением анестезиологии и интенсивной терапии, КНП «Областная инфекционная клиническая больница» ЗОС, г. Запорожье, Украина.

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

References

- [1] Siddiqi, H. K., & Mehra, M. R. (2020). COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *The Journal of heart and lung transplantation*, 39(5), 405-407. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.03.012>
- [2] Liu, Q., Wang, R. S., Qu, G. Q., Wang, Y. Y., Liu, P., Zhu, Y. Z., Fei, G., Ren, L., Zhou, Y. W., & Liu, L. (2020). Gross examination report of a COVID-19 death autopsy. *Fa yi xue za zhi*, 36(1), 21-23. <https://doi.org/10.12116/j.issn.1004-5619.2020.01.005>
- [3] Turner, A. J., Hiscox, J. A., & Hooper, N. M. (2004). ACE2: from vasopeptidase to SARS virus receptor. *Trends in pharmacological sciences*, 25(6), 291-294. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2004.04.001>
- [4] Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaram, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426(6965), 450-454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- [5] Yang, J. K., Lin, S. S., Ji, X. J., & Guo, L. M. (2010). Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes. *Acta diabetologica*, 47(3), 193-199. <https://doi.org/10.1007/s00592-009-0109-4>
- [6] Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- [7] Tay, M. Z., Poh, C. M., Rénia, L., MacAry, P. A., & Ng, L. (2020). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature reviews. Immunology*, 20(6), 363-374. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>
- [8] Connors, J. M., & Levy, J. H. (2020). Thromboinflammation and the hypercoagulability of COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis*, 18(7), 1559-1561. <https://doi.org/10.1111/jth.14849>
- [9] Su, H., Yang, M., Wan, C., Yi, L. X., Tang, F., Zhu, H. Y., Yi, F., Yang, H. C., Fogo, A. B., Nie, X., & Zhang, C. (2020). Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney international*, 98(1), 219-227. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.003>
- [10] Wichmann, D., Sperhake, J. P., Lütgehetmann, M., Steurer, S., Edler, C., Heinemann, A., Heinrich, F., Mushumba, H., Knip, I., Schröder, A. S., Burdelski, C., de Heer, G., Nierhaus, A., Frings, D., Pfefferle, S., Becker, H., Brederke-Wiedling, H., de Weerth, A., Paschen, H. R., Sheikhzadeh-Eggers, S., Kluge, S. (2020). Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19: A Prospective Cohort Study. *Annals of internal medicine*, 173(4), 268-277. <https://doi.org/10.7326/M20-2003>
- [11] Menter, T., Haslbauer, J. D., Nienhold, R., Savic, S., Hopfer, H., Deigenesch, N., Frank, S., Turek, D., Willi, N., Pargger, H., Bassetti, S., Leuppi, J. D., Cathomas, G., Tolnay, M., Mertz, K. D., & Tzankov, A. (2020). Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology*, 77(2), 198-209. <https://doi.org/10.1111/his.14134>
- [12] Tian, S., Xiong, Y., Liu, H., Niu, L., Guo, J., Liao, M., & Xiao, S. Y. (2020). Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Modern pathology*, Inc, 33(6), 1007-1014. <https://doi.org/10.1038/s41379-020-0536-x>
- [13] Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 323(13), 1239-1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- [14] Wang, Y., Lu, X., Li, Y., Chen, H., Chen, T., Su, N., Huang, F., Zhou, J., Zhang, B., Yan, F., & Wang, J. (2020). Clinical Course and Outcomes of 344 Intensive Care Patients with COVID-19. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 201(11), 1430-1434. <https://doi.org/10.1164/rccm.202003-0736LE>
- [15] Yang, X., Yu, Y., Xu, J., Shu, H., Xia, J., Liu, H., Wu, Y., Zhang, L., Yu, Z., Fang, M., Yu, T., Wang, Y., Pan, S., Zou, X., Yuan, S., & Shang, Y. (2020). Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet. Respiratory medicine*, 8(5), 475-481. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5)
- [16] Dashraath, P., Wong, J., Lim, M., Lim, L. M., Li, S., Biswas, A., Choolani, M., Mattar, C., & Su, L. L. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 222(6), 521-531. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.03.021>
- [17] Barton, L. M., Duval, E. J., Stroberg, E., Ghosh, S., Mukhopadhyay, S. (2020). COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA. *American Journal of Clinical Pathology*, 153(6), 725-733. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa062>
- [18] Zinserling, V. A., Vashukova, M. A., Vasilyeva, M. V., Isakov, A. N., Lugovskaya, N. A., Narkevich, T. A., Sukhanova, Yu. V., Semenova, N. Yu., & Gusev, D. A. (2020). Voprosy patomorfogeneza novoi koronavirusnoi infektsii (COVID-19) [Issues of pathology of a new coronavirus infection CoVID-19]. *Jurnal Infektsologii*, 12(2), 5-11. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2020-12-2-5-11>
- [19] Griffin, D. O., Jensen, A., Khan, M., Chin, J., Chin, K., Saad, J., Parnell, R., Awwad, C., & Patel, D. (2020). Pulmonary Embolism and Increased Levels of d-Dimer in Patients with Coronavirus Disease. *Emerging infectious diseases*, 26(8), 1941-1943. <https://doi.org/10.3201/eid2608.201477>
- [20] Lodigiani, C., Iapichino, G., Carenzo, L., Cecconi, M., Ferrazzi, P., Sebastian, T., Kucher, N., Studt, J. D., Sacco, C., Bertuzzi, A., Sandri, M. T., Barco, S., & Humanitas COVID-19 Task Force (2020). Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thrombosis research*, 191, 9-14. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.024>
- [21] Riabokon, O. V., Cherkaskyi, V. V., Onishchenko, T. Ye., Riabokon, Yu. Yu. (2021). Features of comorbid pathology spectrum and age structure of oxygen-dependent patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) depending on outcomes of the disease. *Zaporozhye medical journal*, 23(2), 214-219. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.2.228712>

Морфологічні особливості змін периферичних ольфакторних структур при ураженні коронавірусом SARS-COV-2

I. С. Шпонька¹, В. І. Попович², О. М. Усова³, О. О. Бондаренко⁴,
Ю. В. Гаман³, Г. З. Щурук⁴

¹Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна, ²Івано-Франківський національний медичний університет, Україна, ³ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна, ⁴КП «Волинська обласна клінічна лікарня», м. Луцьк, Україна

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

Ключові слова:
COVID-19,
SARS-CoV-2,
коронавірусна
інфекція, аносмія,
ольфакторний
епітелій,
ольфакторна
цибулина,
ольфакторний
тракт.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 278-285

*E-mail:
dr.olgausova@gmail.com

Коронавірусна інфекція, спричинена вірусом SARS-CoV-2, – надзвичайно важлива й актуальна проблема сучасної медицини. Захворювання швидко поширюється, має високу ймовірність тяжкого перебігу та викликає чимало критичних ускладнень у пацієнтів групи ризику. Наявність патогномічних симптомів, одним із них є розвиток гіпо- або аносмії, дає змогу швидко диференціювати коронавірусну від інших гострих респіраторних вірусних інфекцій, тобто вчасно ізолювати пацієнта та почати коректне лікування, враховуючи можливі ризики.

Мета роботи – з'ясування морфологічних особливостей ольфакторних структурних елементів хворих на коронавірусну хворобу (COVID-19) для кращого розуміння механізмів розвитку нюхових розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

Матеріали та методи. Здійснили ретроспективний аналіз аутопсійного матеріалу – слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію) та ольфакторних цибулин 9 померлих (4 жінки, 5 чоловіків) віком від 53 до 79 років з лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі. Застосували стандартне забарвлення гематоксиліном та еозиним, виконали імуногістохімічне дослідження за протоколами ThermoScientific (США) з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та протоколами RnDsystems з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2). Для порівняння результатів сформували контрольну групу з 9 померлих (3 жінки, 6 чоловіків) віком від 59 до 68 років із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19; причини смерті – ускладнення цукрового діабету, ішемічна хвороба серця та порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом.

Результати. Середній вік померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19, аносмією в анамнезі та осіб групи контролю – $64,67 \pm 7,73$ та $62,33 \pm 6,48$ року відповідно. У семи з дев'яти зрізів ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі експресія ольфакторного маркерного протеїну (OMP) та нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) частково позитивна (40,89 (25,00; 52,00) та 42,44 (29,00; 55,00) клітини в полі зору відповідно при збільшенні 200×); а реакція з антитілами до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) вогнищево або субтотально відсутня (34,33 (14,00; 49,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×). У контрольних зрізах ольфакторної слизової оболонки носової порожнини померлих із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19 та відсутністю симптомів аносмії (тест Манна-Вітні, $p < 0,05$) виявлена експресія цих трьох маркерів. У зрізах ольфакторних цибулин хворих на COVID-19 визначили слабку (тест Манна-Вітні, $p < 0,05$) експресію рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) на відміну від контрольних зрізів (100,56 (94,00; 107,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×).

Висновки. Розвиток аносмії за умов інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 має специфічні саме для цього інфекційного агента риси, може бути зумовлений первинним зруйнуванням клітин, які експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2-позитивних суштентакулярних клітин ольфакторної слизової оболонки носової порожнини, нейронів ольфакторних цибулин), із можливою наступною дисфункцією безпосередньо ольфакторних клітин (OMP- та TuJ-1-позитивних).

Key words:
COVID-19,
SARS-CoV-2,
coronavirus
infections,
olfaction disorders,
olfactory epithelium,
olfactory bulb,
olfactory tract.

Pathologia
2021; 18 (3), 278-285

Morphological features of changes in peripheral olfactory structures in SARS-COV-2 coronavirus infection

I. S. Shponka, V. I. Popovych, O. M. Usova, O. O. Bondarenko, Yu. V. Haman, H. Z. Shchuruk

Coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus is an extremely important and urgent problem of modern medicine. It spreads quickly, has a high probability of a severe course and a large number of critical complications in patients from the risk group. The presence of pathognomonic symptoms, one of which is the development of hypo- or anosmia, makes it possible to quickly differentiate coronavirus infection from other acute respiratory viral infections, that is, to isolate the patient on time and begin correct treatment, taking all possible risks into account.

The aim is to identify the morphological features of olfactory structural elements in patients with coronavirus disease (COVID-19) for a better understanding of the mechanisms of olfactory disorders development in coronavirus infection.

Materials and methods. The basis of the work is a retrospective analysis of autopsy material, namely the mucous membrane of the upper parts of the nasal cavity (olfactory epithelium) and olfactory bulbs of nine deceased (4 women and 5 men) aged

from 53 to 79 years with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and anosmia in anamnesis. We used standard hematoxylin and eosin staining and immunohistochemical reactions in accordance with the ThermoScientific protocols (USA) with antibodies to neurospecific beta-III tubulin (clone TuJ-1) and RnDsystems protocols with antibodies to olfactory marker protein (OMP) and angiotensin converting enzyme (ACE-2). To compare the results, a control group of 9 deaths (3 women and 6 men) aged from 59 to 68 years with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 was formed. The causes of death of these patients were complications of diabetes, coronary heart disease and cerebrovascular disorders of the ischemic type.

Results. The average age of the deceased with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and a history of anosmia and the control group was 64.67 ± 7.73 and 62.33 ± 6.48 years, respectively. The expression of olfactory marker protein (OMP) and neurospecific beta-III tubulin (clone TuJ-1) was partially positive (40.89 (25.00–52.00) and 42.44 (29.00–55.00) cells in the field of view at a magnification of 200 \times , respectively) in seven out of nine sections of the olfactory mucous membrane of deaths with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19 and anosmia in anamnesis. The reaction with antibodies to angiotensin converting enzyme (ACE-2) was focally or subtotally absent (34.33 (14.00–49.00) cells in the field of view at 200 \times magnification). There was expression of these three markers in control sections of the olfactory mucosa of a deceased with a laboratory excluded diagnosis of COVID-19 and no symptoms of anosmia (Mann–Whitney test, $P < 0.05$). In sections of olfactory bulbs of patients with COVID-19 weak (Mann–Whitney test, $P < 0.05$) expression of receptors for angiotensin-converting enzyme (ACE-2) (26.78 (15.00–39.00) cells in field of view at a magnification of 200 \times) was revealed in contrast to control sections (100.56 (94.00–107.00) cells in the field of view at a magnification of 200 \times).

Conclusions. The development of anosmia in SARS-CoV-2 coronavirus infection has specific features. This may be due to the primary destruction of cells expressing receptors for the angiotensin-converting enzyme (ACE-2-positive: sustentacular cells of the olfactory mucosa, neurons of the olfactory bulbs). Subsequent dysfunction of olfactory cells (OMP- and TuJ-1-positive) is also possible.

Морфологические особенности изменений периферических ольфакторных структур при поражении коронавирусом SARS-CoV-2

И. С. Шпонька, В. И. Попович, О. Н. Усова, А. А. Бондаренко, Ю. В. Гаман, Г. З. Щурук

Коронавирусная инфекция, обусловленная вирусом SARS-CoV-2, – чрезвычайно важная и актуальная проблема современной медицины. Заболевание быстро распространяется, имеет высокую вероятность тяжёлого течения и вызывает большое количество критических осложнений у пациентов группы риска. Наличие патогномических симптомов, одним из которых является развитие гипо- или аносмии, позволяет быстро дифференцировать коронавирусную инфекцию от других острых респираторных вирусных инфекций, то есть своевременно изолировать пациента и начать корректное лечение с учётом возможных рисков.

Цель работы – выяснение морфологических особенностей ольфакторных структурных элементов больных коронавирусной болезнью (COVID-19) для лучшего понимания механизмов развития обонятельных нарушений при инфицировании коронавирусом.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ аутопсийного материала – слизистой оболочки верхних отделов носовой полости (ольфакторного эпителия) и ольфакторных луковиц 9 умерших (3 женщины, 6 мужчин) в возрасте от 53 до 79 лет с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе. Использовали стандартное окрашивание гематоксилином и эозином, провели иммуногистохимическое исследование в соответствии с протоколами ThermoScientific (США) с антителами к нейроспецифическому бета-III тубулину (клон TuJ-1) и протоколами RnDsystems с антителами к ольфакторному маркерному протеину (OMP) и ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2). Для сравнения результатов сформирована контрольная группа из 9 умерших (4 женщины, 5 мужчин) в возрасте от 59 до 68 лет с лабораторно опровергнутым диагнозом COVID-19; причины смерти – осложнения сахарного диабета, ишемическая болезнь сердца и нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу.

Результаты. Средний возраст умерших с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе и лиц группы контроля – $64,67 \pm 7,73$ и $62,33 \pm 6,48$ года соответственно. В семи из девяти исследуемых срезов ольфакторной слизистой оболочки носовой полости умерших с лабораторно подтвержденным диагнозом COVID-19 и аносмией в анамнезе экспрессия ольфакторного маркерного протеина (OMP) и нейроспецифического бета-III тубулина (клон TuJ-1) частично положительна (40,89 (25,00; 52,00) и 42,44 (29,00; 55,00) клетки в поле зрения соответственно при увеличении 200 \times); а реакция с антителами к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2) очагово или субтотально отсутствовала (34,33 (14,00; 49,00) клетки в поле зрения при увеличении 200 \times).

У умерших с лабораторно исключённым диагнозом COVID-19 и отсутствием симптомов аносмии (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$) обнаружена экспрессия этих трёх маркеров в контрольных срезах ольфакторной слизистой оболочки носовой полости. В срезах ольфакторных луковиц больных COVID-19 отмечена слабая (тест Манна–Уитни, $p < 0,05$) экспрессия рецепторов к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клетки в поле зрения при увеличении 200 \times) в отличие от контрольных срезов (100,56 (94,00; 107,00) клетки в поле зрения при увеличении 200 \times).

Выводы. Развитие аносмии в условиях инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 имеет специфические именно для этого инфекционного агента черты и может быть обусловлено первичным разрушением клеток, экспрессирующих рецепторы к ангиотензинпревращающему энзиму (ACE-2-положительных sustentacularных клеток ольфакторной слизистой оболочки носовой полости, нейронов ольфакторных луковиц), с возможной последующей дисфункцией непосредственно ольфакторных клеток (OMP- и TuJ-1-положительных).

Ключевые слова:

COVID-19, SARS-CoV-2, коронавирусная инфекция, аносмия, ольфакторный эпителий, ольфакторная луковица, ольфакторный тракт.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 278-285

Проблема надзвичайно швидкого поширення коронавірусної інфекції, спричиненої SARS-CoV-2, з високим ризиком тяжкого перебігу хвороби, чималою кількістю критичних ускладнень, а отже несприятливим прогнозом із високою летальністю залишається актуальною [2, 12]. Для кращого розуміння особливостей патогенезу коронавірусної хвороби, поліпшення діагностики та диференціювання від інших респіраторних інфекцій необхідне ретельне вивчення клітинних механізмів розвитку патогномічних симптомів COVID-19.

Провідний та один із найпоширеніших специфічних симптомів – зниження нюхової функції (гіпосмія) чи повне її зникнення (аносмія) [6, 7, 10]. Тому цікаво з'ясувати, які саме патогістологічні та імуногістохімічні зміни її спричиняють [3, 13]. Ольфакторні клітини – видозмінені біполярні нейрони, що в нормі експресують рецептори до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), який є специфічним для них; гістологічна належність до нервової тканини зумовлює наявність рецепторів до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) [9].

Розташування нюхових нейронів на поверхні тіла людини зумовлює вразливість до дії різноманітних подразників на відміну від ділянок із глибшим розташуванням нервових клітин, коли назовні виходять лише аферентні волокна. Тобто у разі впливу біологічних (вірусні, бактеріальні, грибкові інфекції тощо), хімічних (інгаляції токсичних речовин) і фізичних (дія екстремальних температур, травми) агентів тіла нейронів можуть бути повністю зруйновані з наступною незворотною втратою нюху, а отже суттєвим погіршенням якості життя. Проте достеменно не відомо, чи є цей фактор єдиною причиною виникнення гіпо- та аносмії.

До складу ольфакторного епітелію входять ще два види клітин: суспендулярні та базальні. Суспендулярні клітини виконують опорну функцію, а також забезпечують життєздатність і нормальне функціонування нюхових нейронів, вони експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) [1, 3]. Базальні клітини розташовані на базальній мембрані. Це відносно недиференційовані, резервні клітини, їхня основна функція – відновлення структури ольфакторного епітелію в разі його пошкодження [4]. Ольфакторні цибулини – парні структури безпосередньо центральної нервової системи, утворюють синаптичний контакт з аксонами ольфакторних рецепторних клітин. Особливістю нейронів ольфакторних цибулин також є експресія рецепторів до ACE-2 [1, 3, 8].

Наголосимо, що немає єдиного механізму розвитку нюхових порушень, тому як причини виникнення гіпо- й аносмії у хворих на COVID-19 слід розглядати такі зміни: порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами, зруйнування ольфакторних рецепторних клітин, пошкодження суспендулярних клітин, патологічні зміни у клітинах ольфакторних цибулин [2, 5, 15].

Мета роботи

З'ясування морфологічних особливостей ольфакторних структурних елементів хворих на коронавірусну

хворобу (COVID-19) для кращого розуміння механізмів розвитку нюхових розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили ретроспективний аналіз аутопсійного матеріалу – слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію) та ольфакторних цибулин від 9 померлих (4 жінки, 5 чоловіків) віком від 53 до 79 років з лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі. Для контролю створена група з 9 померлих (3 жінки, 6 чоловіків) віком від 59 до 68 років із лабораторно спростованим діагнозом COVID-19, причини смерті – ускладнення цукрового діабету, ішемічна хвороба серця та порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом. Матеріал зібрали співробітники Івано-Франківського національного медичного університету та ДВНЗ «Ужгородський національний університет» під час аутопсійних досліджень померлих у патологоанатомічних відділеннях КП «Волинська обласна клінічна лікарня», КНП «Обласна клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради» та КНП «Закарпатська обласна клінічна лікарня імені Андрія Новака». Матеріал для контрольної групи взято у відділенні загальної патології КЗ «Дніпропетровське обласне патологоанатомічне бюро».

Для морфологічного дослідження зразки слизової оболонки та нервової тканини фіксували у 10 % нейтральному забуференому формаліні, зневоднювали та занурювали в парафін. Морфологічне дослідження виконали на базі міжкафедральної морфологічної лабораторії Дніпровського державного медичного університету. З парафінових блоків з тканиною зробили зрізи завтовшки 4 мкм. Наступний етап – депарафінізація та регідратація зрізів, стандартне забарвлення гематоксиліном та еозином; виконали імуногістохімічне дослідження згідно із протоколами ThermoScientific (США) з антитілами до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та протоколами RnDsystems з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) й ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2). Цифрові фотографії отримали за допомогою кольорової камери ZEISS AxioCam 512 під мікроскопом Axio Imager.A2 (збільшення $\times 100/200/400$).

Статистичний аналіз і графічну презентацію результатів дослідження виконали з використанням пакетів комп'ютерних програм Statistica 6.1 (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel 2016. Дані описової статистики наведені у форматі середнє арифметичне \pm стандартне відхилення ($M \pm SD$) або як медіана та міжквартильний інтервал ($Me (Q1; Q3)$) залежно від розподілу ознаки. Категоріальні змінні наведені як абсолютна кількість випадків (n) у групі та частота у відсотках (%). Для оцінювання різниці між порівнюваними середніми значеннями двох незалежних сукупностей у разі дослідження малих вибірок використовували непараметричний метод статистичного аналізу – U-критерій Манна-Вітні. Відмінності зі значенням $p < 0,05$ вважали статистично значущими.

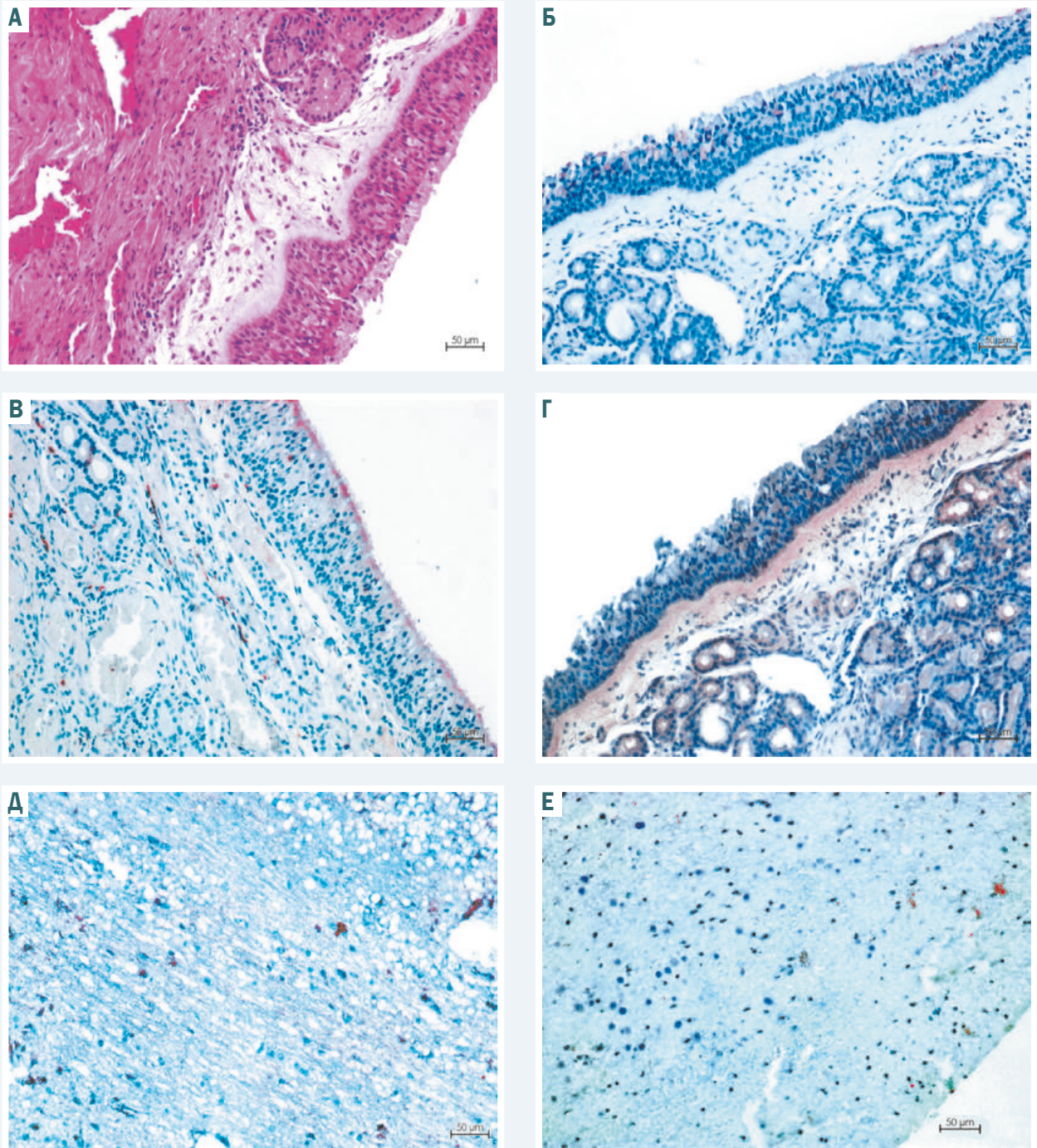


Рис. 1. А. Зразок ольфакторної слизової оболонки хворого на COVID-19 із загальними ознаками гострих запальних змін, забарвлення гематоксиліном та еозином. Б. Частково позитивна експресія рецепторів до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, OMP. В. Частково позитивна експресія рецепторів до нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, TuJ-1. Г. Вогнищева відсутність експресії рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на COVID-19, ACE-2. Д. Позитивна реакція рецепторів нейронів ольфакторної цибулини з антитілами до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) померлого зі спростованим діагнозом COVID-19, ACE-2. Е. Вогнищево позитивна експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) в нейронах ольфакторної цибулини хворого на COVID-19, ACE-2. Збільшення: А, Б, В, Г, Д, Е $\times 200$.

Результати

Середній вік померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносією в анамнезі та осіб групи контролю становив $64,67 \pm 7,73$ та $62,33 \pm 6,48$ року відповідно. Під час морфологічного дослідження встановили, що зміни ольфакторної слизової оболонки

носової порожнини мали і загальні риси, притаманні будь-якій гострій респіраторній вірусній інфекції, і специфічні особливості. В усіх зразках виявили ознаки гострих запальних змін слизової оболонки верхніх дихальних шляхів: виражену лімфоплазмоцитарну інфільтрацію слизової оболонки та підслизового шару, розширення та повнокров'я кровоносних судин,

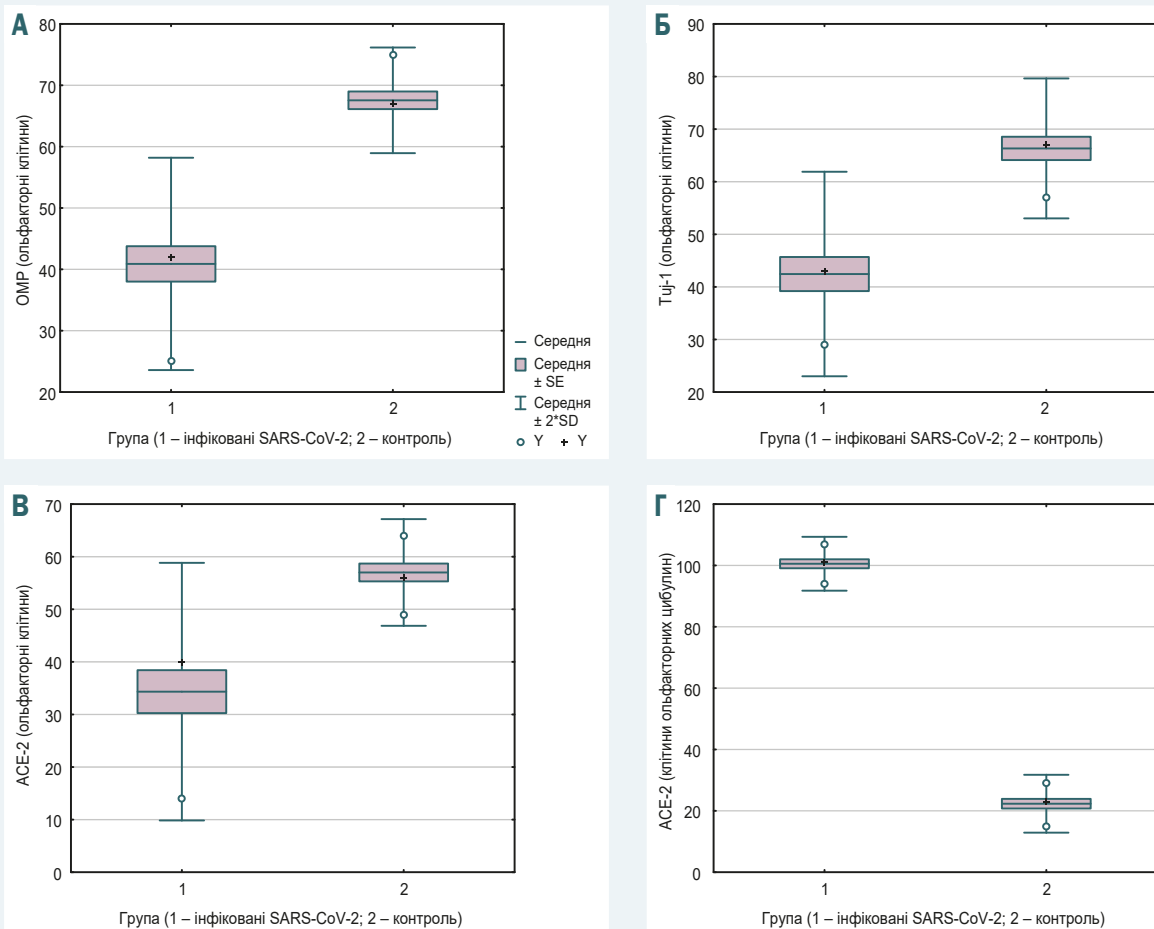


Рис. 2. Середня кількість OMP-, TuJ-1-та ACE-2-позитивних клітин у полі зору при збільшенні $\times 200$ під час дослідження зрізів ольфакторної слизової оболонки носової порожнини контрольної групи та хворих із лабораторно підтвердженим інфікуванням коронавірусом SARS-CoV-2; середня кількість ACE-2-позитивних клітин у полі зору при збільшенні $\times 200$ під час дослідження зрізів ольфакторних цибулин контрольної групи та хворих із лабораторно підтвердженим інфікуванням коронавірусом SARS-CoV-2.

потовщення підслизового шару внаслідок набряку, вогнищеву десквамацію епітелію (рис. 1А).

Цікаві результати порівняння стану клітин у контрольних зрізах ольфакторної слизової оболонки померлих з лабораторно спростованим діагнозом COVID-19 та відсутністю симптомів аносмії, де була позитивна реакція з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) та ангіотензинперетворювального ферменту (ACE-2), зі зрізами інфікованих коронавірусом SARS-CoV-2. Так, кількість OMP-позитивних клітин у контрольних зрізах у середньому становила 67,56 (63,00; 75,00) у полі зору при збільшенні $200\times$, кількість TuJ-1-позитивних клітин у цих зрізах у середньому дорівнювала 66,33 (57,00; 75,00) у полі зору при збільшенні $200\times$, кількість ACE-2-позитивних клітин у середньому становила 56,00 (53,00; 64,00) у полі зору при збільшенні $200\times$.

У зразках слизової оболонки ольфакторної ділянки носової порожнини обстежених із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі кількість OMP-позитивних клітин була меншою (тест Манна-Вітні, $p < 0,05$), тобто з частково позитивною експресією рецепторів до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) (40,89

(25,00;52,00) клітини в полі зору при збільшенні $200\times$) та нейроспецифічного бета-III тубуліну (клон TuJ-1) (42,44 (29,00; 55,00) клітини в полі зору при збільшенні $200\times$). У контрольній групі – вогнищеве або субтотально відсутня (тест Манна-Вітні, $p < 0,05$) експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ферменту (34,33 (14,00; 49,00) клітини в полі зору при збільшенні $200\times$) (рис. 1Б, В, Г, рис. 2А, Б, В). Ці факти свідчать про швидке та масивне зруйнування ольфакторних рецепторних клітин під впливом біологічного агента внаслідок поверхневого розташування з наступним порушенням передавання нюхового імпульсу до структур центральної нервової системи, а також про пошкодження сустантакулярних клітин ольфакторного епітелію, яке може стати причиною порушення секреції одорант-зв'язувальних протеїнів, а тому відсутності зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами.

Загибель сустантакулярних клітин може викликати опосередковане зруйнування ольфакторних рецепторних клітин. У зрізах ольфакторних цибулин хворих на COVID-19 виявлена слабка (тест Манна-Вітні, $p < 0,05$) експресія рецепторів до ангіотензинперетворювального ферменту (ACE-2) (26,78 (15,00; 39,00) клітини в полі зору при збільшенні $200\times$) на

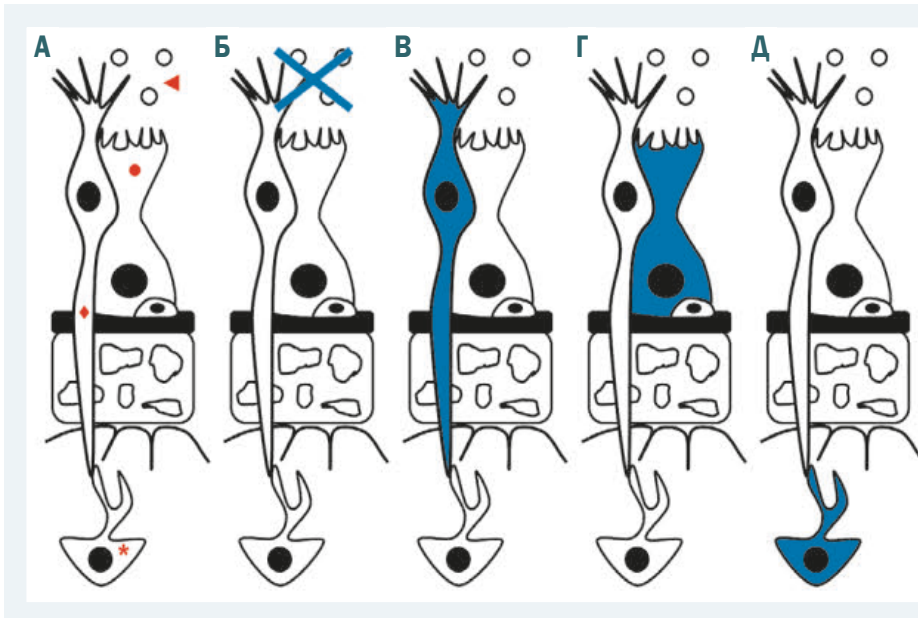


Рис. 3. Схематичне зображення механізму сприйняття нюхових відчуттів і його порушень (елементи графіки запозичені з дослідження R. Butowt та C. S. von Bartheld [2]). **А.** Ланцюг передачі нюхового відчуття у нормі: одоранти (◀) → секреція одорант-зв'язувальних протеїнів сустентакулярною клітиною (●) → зв'язування одорантів з ольфакторною рецепторною клітиною (♦) → утворення синаптичного контакту між ольфакторною рецепторною клітиною та нейроном ольфакторної цибулини (*). **Б.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок назальної обструкції при гіперпродукції слизу. **В.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок зруйнування ольфакторних рецепторних клітин. **Г.** Порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами внаслідок припинення секреції одорант-зв'язувальних протеїнів через зруйнування сустентакулярних клітин. **Д.** Порушення сприйняття нюхових відчуттів унаслідок зруйнування нейронів ольфакторної цибулини центральної нервової системи.

відміну від контрольних зрізів (100,56 (94,00; 107,00) клітини в полі зору при збільшенні 200×) (рис. 1Д, Е, рис. 2Г). Отже, не треба виключати можливість зруйнування нейронів ольфакторних цибулин центральної нервової системи, що спричиняє відсутність нюхових відчуттів.

Обговорення

Коронавірусна хвороба, спричинена коронавірусом SARS-CoV-2, – нова проблема сьогодення, тому дослідження особливостей перебігу й основних клінічних проявів цього захворювання тільки починаються. Наукові пошуки у цій сфері показали: будь-які клітини організму людини, що експресують рецептори до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2), можуть бути таргетними для дії коронавірусу SARS-CoV-2. Це пояснює високу частоту ускладнень з боку серцево-судинної системи та нирок, тому не виключене первинне зруйнування сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію носової порожнини та нейронів ольфакторних цибулин, які також мають ці рецептори (рис. 3Г).

Результати цього дослідження збігаються з даними провідних світових науковців [1–3, 11, 14]. Виявлені гістологічні зміни підтверджують, що ACE-2-позитивні клітини є частково ураженими або тотально зруйнованими у лабораторно підтверджених випадках інфікування SARS-CoV-2. Проте нерозкритим залишається питання про те, що саме є первинною ланкою розвитку аносмії. Відповіді на нього допоможе ретельне вивчення стану клітинного складу периферичних відділів ольфакторної системи залежно від часу, який минув після виникнення нюхових розладів.

Відомо, що ольфакторні рецепторні клітини відіграють головну роль у механізмі сприйняття запахів, тому стан цих клітин також впливає на наявність, порушення або повну відсутність нюхового сприйняття [3, 5]. Наше дослідження показало зменшення кількості ольфакторних рецепторних клітин (OMP-позитивних) у слизовій оболонці хворих

із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19. Це можна пояснити тим, що ці клітини також можуть бути вразливими до дії SARS-CoV-2 безпосередньо або опосередковано після пошкодження сустентакулярних клітин (рис. 3В) [1, 5, 15]. Оборотною ознакою нюхових розладів, що спостерігають у більшості випадків, свідчить про ураження саме клітин ольфакторної слизової оболонки носової порожнини або ж не досить критичне ураження нейронів ольфакторних цибулин (рис. 3Д). Оскільки більшість гострих респіраторних вірусних інфекцій супроводжується інтенсивним набряком слизової оболонки носової порожнини з гіперфункцією слизових залоз, а отже гіперсекрецією слизу, не можна виключати порушення зв'язування одорантів з ольфакторними рецепторними клітинами як одну з можливих причин розвитку нюхових розладів (рис. 3Б). Отже, особливості аносмії при коронавірусній хворобі COVID-19 потребують додаткових наукових досліджень.

Висновки

1. В ольфакторній ділянці носової порожнини померлих із лабораторно підтвердженим діагнозом COVID-19 та аносмією в анамнезі виявили зміни периферичних ольфакторних структур, і притаманні респіраторним інфекціям загалом, і специфічні саме для інфікування коронавірусом SARS-CoV-2.

2. Розвиток аносмії за умов інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 специфічний саме для цього інфекційного агента, зумовлений первинним зруйнуванням сустентакулярних клітин ольфакторного епітелію (ACE-2-позитивних) з наступною дисфункцією безпосередньо ольфакторних клітин (OMP- та TuJ-1-позитивних).

3. Наявність рецепторів до ангіотензинперетворювального ензиму (ACE-2) на нейронах ольфакторних цибулин – причина пошкодження цих структур та ще одна ланка в патогенезі виникнення нюхової дисфункції.

4. Ретельне вивчення патогістологічних і молекулярно-генетичних змін периферичних і центральних відділів ольфакторної системи хворих на COVID-19 може покращити розуміння виникнення та розвитку аносмії як патогномічного симптому, корисне для прогнозування функціонального стану нюхового апарату та диференціальної діагностики гострих респіраторних інфекційних хвороб.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні структурно-функціональних особливостей елементів ольфакторної системи в умовах інфікування коронавірусом SARS-CoV-2.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.06.2021

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 28.10.2021

Відомості про авторів:

Шпонька І. С., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, перший проректор, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-7561-6489](https://orcid.org/0000-0002-7561-6489)

Попович В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. оториноларингології з курсом хірургії голови та шиї, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2898-8474](https://orcid.org/0000-0002-2898-8474)

Усова О. М., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8505-2309](https://orcid.org/0000-0001-8505-2309)

Бондаренко О. О., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9739-9219](https://orcid.org/0000-0002-9739-9219)

Гаман Ю. В., аспірант, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-0475-3312](https://orcid.org/0000-0002-0475-3312)

Щурук Г. З., зав. відділення оториноларингології, КП «Волинська обласна клінічна лікарня», м. Луцьк, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-1916-9589](https://orcid.org/0000-0003-1916-9589)

Information about authors:

Shponka I. S., MD, PhD, DSc, First ViceRector, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Popovych V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology and Ophthalmology with the Course of Head and Neck Surgery, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Usova O. M., MD, Assistant Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

Bondarenko O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Haman Yu. V., MD, Graduate Student, Uzhhorod National University, Ukraine.

Shchuruk H. Z., MD, Head of the Department of Otorhinolaryngology, Volyn Regional Clinical Hospital, Lutsk, Ukraine.

Сведения об авторах:

Шпонька И. С., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, первый проректор, Днепропетровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.

Попович В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. оториноларингологии с курсом хирургии головы и шеи, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Усова О. Н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепропетровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.

Бондаренко А. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Днепропетровский государственный медицинский университет, г. Днепр, Украина.

Гаман Ю. В., аспирант, ГБУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина.

Щурук Г. З., зав. отделением оториноларингологии,

КП «Волинская областная клиническая больница», г. Луцк, Украина.






Список літератури

- [1] Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age / K. Bilinska, P. Jakubowska, C. S. Von Bartheld, R. Butowt. *ACS chemical neuroscience*. 2020. Vol. 11, Iss. 11. P. 1555-1562. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00210>
- [2] Butowt R., von Bartheld, C. S. Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *The Neuroscientist*. 2020. 1073858420956905. URL : <https://doi.org/10.1177/1073858420956905>
- [3] Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19 / J. Meinhardt, J. Radke, C. Dittmayer et al. *Nature neuroscience*. 2021. Vol. 24, Iss. 2. P. 168-175. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00758-5>
- [4] Anatomy and cellular constituents of the human olfactory mucosa: a review / C. R. Chen, C. Kachramanoglou, D. Li et al. *Journal of neurologic surgery. Part B, Skull base*. 2014. Vol. 75, Iss. 5. P. 293-300. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1361837>
- [5] Saussez S., Lechien J. R., Hopkins C. Anosmia: an evolution of our understanding of its importance in COVID-19 and what questions remain to be answered. *European archives of oto-rhino-laryngology*. 2021. Vol. 278, Iss. 7. P. 2187-2191. <https://doi.org/10.1007/s00405-020-06285-0>
- [6] The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis / J. Y. Tong, A. Wong, D. Zhu et al. *Otolaryngology--head and neck surgery*. 2020. Vol. 163, Iss. 1. P. 3-11. <https://doi.org/10.1177/0194599820926473>
- [7] Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients / L. A. Vaira, G. Salzano, A. G. Fois et al. *International forum of allergy & rhinology*. 2020. Vol. 10, Iss. 9. P. 1103-1104. <https://doi.org/10.1002/alar.22593>
- [8] van Riel D., Verdijk R., Kuiken T. The olfactory nerve: a shortcut for influenza and other viral diseases into the central nervous system. *The Journal of pathology*. 2015. Vol. 235, Iss. 2. P. 277-287. <https://doi.org/10.1002/path.4461>
- [9] Vedin V., Slotnick B., Berghard A. Zonal ablation of the olfactory sensory neuroepithelium of the mouse: effects on odorant detection. *The European journal of neuroscience*. 2004. Vol. 20, Iss. 7. P. 1858-1864. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03634.x>
- [10] Self-Reported Symptoms of COVID-19, Including Symptoms Most Predictive of SARS-CoV-2 Infection, Are Heritable / F. Williams, M. B. Freidin, M. Mangino et al. *Twin research and human genetics*. 2020. Vol. 23, Iss. 6. P. 316-321. <https://doi.org/10.1017/thg.2020.85>
- [11] High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa / H. Xu, L. Zhong, J. Deng et al. *International journal of oral science*. 2020. Vol. 12, Iss. 1. P. 8. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
- [12] Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19 / M. S. Xydakis, P. Dehghani-Mobaraki, E. H. Holbrook et al. *The Lancet. Infectious diseases*. 2020. Vol. 20, Iss. 9. P. 1015-1016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30293-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30293-0)
- [13] Self-reported olfactory loss associates with outpatient clinical course in COVID-19 / C. H. Yan, F. Faraji, D. P. Prajapati et al. *International forum of allergy & rhinology*. 2020. Vol. 10, Iss. 7. P. 821-831. <https://doi.org/10.1002/alar.22592>
- [14] SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues / C. Ziegler, S. J. Allon, S. K. Nyquist et al. *Cell*. 2020. Vol. 181, Iss. 5. P. 1016-1035.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035>
- [15] Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019: A Review / A. S. Zubair, L. S. McAlpine, T. Gardin et al. *JAMA neurology*. 2020. Vol. 77, Iss. 8. P. 1018-1027. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.2065>

References

- [1] Bilinska, K., Jakubowska, P., Von Bartheld, C. S., & Butowt, R. (2020). Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age. *ACS chemical neuroscience*, 11(11), 1555-1562. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00210>
- [2] Butowt, R., & von Bartheld, C. S. (2020). Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *The Neuroscientist*, 1073858420956905. Advance online publication. <https://doi.org/10.1177/1073858420956905>
- [3] Meinhardt, J., Radke, J., Dittmayer, C., Franz, J., Thomas, C., Mothes, R., Laue, M., Schneider, J., Brünink, S., Greuel, S., Lehmann, M., Hassan, O., Aschman, T., Schumann, E., Chua, R. L., Conrad, C., Eils, R., Stenzel, W., Windgassen, M., Rößler, L., ... Heppner, F. L. (2021). Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nature neuroscience*, 24(2), 168-175. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00758-5>
- [4] Chen, C. R., Kachramanoglou, C., Li, D., Andrews, P., & Choi, D. (2014). Anatomy and cellular constituents of the human olfactory mucosa: a review. *Journal of neurological surgery. Part B, Skull base*, 75(5), 293-300. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1361837>
- [5] Saussez, S., Lechien, J. R., & Hopkins, C. (2021). Anosmia: an evolution of our understanding of its importance in COVID-19 and what questions remain to be answered. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 278(7), 2187-2191. <https://doi.org/10.1007/s00405-020-06285-0>
- [6] Tong, J. Y., Wong, A., Zhu, D., Fastenberg, J. H., & Tham, T. (2020). The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Otolaryngology--head and neck surgery*, 163(1), 3-11. <https://doi.org/10.1177/0194599820926473>
- [7] Vaira, L. A., Salzano, G., Fois, A. G., Piombino, P., & De Riu, G. (2020). Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients. *International forum of allergy & rhinology*, 10(9), 1103-1104. <https://doi.org/10.1002/alr.22593>
- [8] van Riel, D., Verdijk, R., & Kuiken, T. (2015). The olfactory nerve: a shortcut for influenza and other viral diseases into the central nervous system. *The Journal of pathology*, 235(2), 277-287. <https://doi.org/10.1002/path.4461>
- [9] Vedin, V., Slotnick, B., & Berghard, A. (2004). Zonal ablation of the olfactory sensory neuroepithelium of the mouse: effects on odorant detection. *The European journal of neuroscience*, 20(7), 1858-1864. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03634.x>
- [10] Williams, F., Freidin, M. B., Mangino, M., Couvreur, S., Visconti, A., Bowyer, R., Le Roy, C. I., Falchi, M., Mompeó, O., Sudre, C., Davies, R., Hammond, C., Menni, C., Steves, C. J., & Spector, T. D. (2020). Self-Reported Symptoms of COVID-19, Including Symptoms Most Predictive of SARS-CoV-2 Infection, Are Heritable. *Twin research and human genetics*, 23(6), 316-321. <https://doi.org/10.1017/thg.2020.85>
- [11] Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., Li, T., & Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International journal of oral science*, 12(1), 8. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
- [12] Xydakis, M. S., Dehgani-Mobaraki, P., Holbrook, E. H., Geisthoff, U. W., Bauer, C., Hautefort, C., Herman, P., Manley, G. T., Lyon, D. M., & Hopkins, C. (2020). Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19. *The Lancet. Infectious diseases*, 20(9), 1015-1016. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30293-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30293-0)
- [13] Yan, C. H., Faraji, F., Prajapati, D. P., Ostrander, B. T., & DeConde, A. S. (2020). Self-reported olfactory loss associates with outpatient clinical course in COVID-19. *International forum of allergy & rhinology*, 10(7), 821-831. <https://doi.org/10.1002/alr.22592>
- [14] Ziegler, C., Allon, S. J., Nyquist, S. K., Mbano, I. M., Miao, V. N., Tzouanas, C. N., Cao, Y., Yousif, A. S., Bals, J., Hauser, B. M., Feldman, J., Muus, C., Wadsworth, M. H., 2nd, Kazer, S. W., Hughes, T. K., Doran, B., Gatter, G. J., Vukovic, M., Taliaferro, F., Mead, B. E., ... HCA Lung Biological Network (2020). SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell*, 181(5), 1016-1035.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035>
- [15] Zubair, A. S., McAlpine, L. S., Gardin, T., Farhadian, S., Kuruvilla, D. E., & Spudich, S. (2020). Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019: A Review. *JAMA neurology*, 77(8), 1018-1027. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.2065>

Структурно-функціональний стан лімфоцитів крові хворих на інфекційний мононуклеоз із різним його перебігом

Я. В. Колесник *^{1,A-F}, Т. О. Брюханова ^{1,C,D,E,F}, М. Ю. Слєпченко ^{1,B,D,E},
О. А. Наконечна ^{1,B,D,E}, О. Г. Сорокіна ^{2,B,D,E}

¹Харківський національний медичний університет, Україна, ²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

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

Ключові слова:

діти, інфекційний мононуклеоз, структура, імунітет, лімфоцит, прогнозування перебігу.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 286-294

*E-mail:
yanakolesnik8@gmail.com

У статті наведені результати власних досліджень.

Мета роботи – визначення структурно-функціонального стану лімфоцитів крові дітей із гострим і тривалим перебігом інфекційного мононуклеозу (ІМ).

Матеріали та методи. Під клінічним і лабораторно-інструментальним наглядом перебували 102 дитини. Пацієнтів поділили на групи: перша – 65 дітей із гострим перебігом ІМ; друга – 37 хворих на ІМ тривалого перебігу. Всім дітям здійснили стандартне клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження. Діагноз ІМ верифікували методами ПЛР (виявлення ДНК ВЕБ у крові) та ІФА (анти-ВЕБ ІgM та ІgG).

Результати. У результаті дослідження структурного стану цитоплазматичної мембрани лімфоцитів крові хворих на ІМ у дебюті захворювання виявили: середні значення швидкості проникнення електронного парамагнітного резонансу спінних зондів (ШП ЕПР с. з.) у дітей обох груп вірогідно перевищували нормативні ($p < 0,001$). Виявили також відмінності між групами хворих. Значення ШП ЕПР с. з. у хворих із тривалим перебігом на 15,8 % перевищували такі в пацієнтів із гострим ІМ ($p < 0,001$). Щодо показника мікрів'язкості внутрішньоклітинного вмісту, то його значення виявилися зниженими порівняно з контролем: на 22,1 % ($p < 0,001$) у хворих із гострим перебігом захворювання, на 25,1 % у пацієнтів із тривалим перебігом ІМ ($p < 0,001$). У дітей із тривалим перебігом хвороби цей показник на 9 % нижчий, ніж у групі з гострим перебігом ІМ.

Оцінюючи імунологічні дані, встановили: з-поміж показників Т-системи імунітету для хворих із тривалим перебігом хвороби порівняно з альтернативною групою характерне зниження вмісту CD3 <50 % (у 51,3 % і 26,2 % пацієнтів за групами відповідно; $p < 0,05$); CD4 <31 % (у 62,1 % і 32,4 % відповідно, $p < 0,05$), CD8 <15 % (у 37,8 % і 10,8 % відповідно, $p < 0,01$). Щодо цитокинового профілю, то в пацієнтів із тривалим перебігом хвороби порівняно з дітьми з гострим перебігом у 3,5 раза частіше визначали ІЛ-1 <20,0 пг/мл (у 64,8 % і 18,5 % хворих відповідно); ФНП α <20,0 пг/мл в 1,9 раза частіше (у 48,6 % і 24,6 % відповідно) і дуже високий (>30,1 пг/мл) рівень ІЛ-4 (у 40,5 % і 20,0 % відповідно). З боку В-системи імунітету в пацієнтів із тривалим перебігом ІМ порівняно з дітьми з гострим перебігом частіше визначали підвищені концентрації CD22, а також низький рівень ІgA, ІgM (<1,1 г/л) і ІgG (<10,0 г/л).

Висновки. У результаті спостережень встановили патогенетичну роль порушення структурної організації лімфоцитів крові у формуванні перебігу ІМ. Наведені порушення (підвищення проникності цитоплазматичної мембрани лімфоцитів і зниження в'язкоеластичних властивостей їхнього внутрішньоклітинного середовища) більше виражені в пацієнтів із тривалим перебігом хвороби, і це – фактор пролонгації захворювання. Показники клітинної та гуморальної ланок імунітету впливають на варіант перебігу ІМ. При формуванні гострого перебігу ІМ у дітей у гострому періоді захворювання спостерігають активацію і клітинної, і гуморальної ланки імунітету (збільшення відносного вмісту CD3+, CD4+, CD8+ та CD22+ і рівнів імуноглобулінів М, А). Для тривалого перебігу ІМ у дебюті хвороби характерна депресія Т-клітинної ланки імунітету (зниження відносного вмісту CD3+, CD4+ та CD8+ лімфоцитів, підвищення CD22+), а також гальмування антилігезу. Варіант перебігу ІМ залежить від типу реакції Т-хелперних клонів: у початковому періоді маніфестації ІМ із гострим перебігом відбувається активація Т1 і Т2 хелперної відповіді (суттєве підвищення ІЛ-1, ФНП α , помірно – ІЛ-4). Тривалий перебіг хвороби формується на тлі слабкої активації прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1, ФНП α), значущої – протизапального ІЛ-4.

Key words:
children, infectious mononucleosis, structure, immunity, lymphocyte, prognosis of the course.

Pathologia
2021; 18 (3), 286-294

Structural and functional state of blood lymphocytes in patients with infectious mononucleosis with different course

Ya. V. Kolesnyk, T. O. Briukhanova, M. Yu. Sliepchenko, O. A. Nakonechna, O. H. Sorokina

The article presents the results of our own studies.

The aim was to determine the structural and functional status of blood lymphocytes in patients with acute and prolonged course of infectious mononucleosis (IM) in children.

Materials and methods. 102 children were under clinical and laboratory-instrumental supervision, the children were divided into groups: group 1 – 65 children with IM with an acute course of the disease; group 2 – 37 children with a prolonged course of the disease. All children underwent standard clinical laboratory and instrumental laboratory examinations. The diagnosis of IM was confirmed by PCR (detection of EBV DNA in the blood) and ELISA (anti-EBV IgM and IgG).

Research results. In the study of the structural state of the cytoplasmic membrane of the lymphocytes in the blood of patients with IM in the onset of the disease, it was found that the average values of penetration rate of the electron paramagnetic resonance of spin probes (PR EPR s. p.) in children of both groups were significantly higher than normal ($P < 0.001$). There are also differences between groups of patients. In this case, the value of PR EPR s. p. in patients with a prolonged course by 15.8 % exceeded those in patients with acute IM ($P < 0.001$). According to the rate of microviscosity of the intracellular content (MV IC), its values were reduced compared with the control – by 22.1 % ($P < 0.001$) in patients with acute course of the disease and by 25.1 % – with a prolonged course of IM). In addition, in patients with a prolonged course of the disease, the values were 9 % lower than in the group with acute infectious mononucleosis. When considering immunological parameters, it was found that the indicators of the T-immune system for patients with a prolonged course of the disease in comparison with the alternative group was characterized by a decrease in the content of CD3 <50 % (respectively in 51.3 % and 26.2 % of patients; $P < 0.05$); CD4 <31 % (62.1 % and 32.4 %, respectively; $P < 0.05$) and CD8 <15 % (37.8 % and 10.8 %, respectively; $P < 0.01$). With regard to the cytokine profile, the level of IL-1 <20.0 pg/ml was determined 3.5 times more often in patients with a prolonged course of the disease compared to the acute course (64.8 % and 18.5 % of patients, respectively); TNF α <20.0 pg/ml 1.9 times more often (48.6 % and 24.6 %, respectively) and a very high (>30.1 pg/ml) level of IL4 in 40.5 % and 20 %). From the B-system of immunity in patients with a prolonged course of IM in comparison with the acute course increased content of CD22 was more often determined, as well as low levels of IgA, IgM <1.1 g/l and IgG <10.0 g/l.

Conclusions. According to the results of observations, the pathogenetic role of the violation of the structural organization of blood lymphocytes in the formation of IM is established. It was found that these disorders in the form of increased permeability of their cytoplasmic membrane and reduced viscoelastic properties of their intracellular environment are more pronounced with a prolonged course of the disease, which is a factor in the prolongation of the disease. It is determined that the indicators of cellular and humoral parts of the immune system affect the course of IM. During formation of an acute course of IM in children already in the acute period of a disease activation of both cellular and humoral links of immunity, which is shown in the form of increase in relative content of CD3+, CD4+, CD8+ and CD22+ and levels of immunoglobulins M, A, is noted. For the prolonged course of the disease depression of T-cell immunity in the form of a decrease in the relative content of CD3+, CD4+ and CD8+ lymphocytes and an increase in CD22+, as well as inhibition of antibody genesis are characteristic. It was found that the variant of IM depends on the type of reaction of T-helper clones, namely – in the initial period of manifestation of IM with its acute course there is activation of T1 and T2 helper response, which manifests itself in a significant increase in IL-1, TNF α and moderate IL-4. Prolonged course of the disease is formed against the background of weak activation of pro-inflammatory interleukins (IL-1, TNF α) and significant – anti-inflammatory IL-4.

Структурно-функциональное состояние лимфоцитов крови больных инфекционным мононуклеозом с различным его течением

Я. В. Колесник, Т. А. Брюханова, М. Ю. Слеченко, О. А. Наконечная, О. Г. Сорокина

В статье представлены результаты собственных исследований.

Цель работы – определение структурно-функционального состояния лимфоцитов крови детей с острым и затяжным течением инфекционного мононуклеоза (ИМ).

Материалы и методы. Под клиническим и лабораторно-инструментальным наблюдением находились 102 ребенка. Пациентов поделили на группы: первая – 65 детей с острым течением ИМ; вторая – 37 больных ИМ затяжного течения. Всем детям провели стандартное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование. Диагноз ИМ верифицировали методами ПЦР (выявление ДНК ВЭБ в крови) и ИФА (анти-ВЭБ IgM и IgG).

Результаты. В результате исследования структурного состояния цитоплазматической мембраны лимфоцитов крови больных ИМ в дебюте заболевания установили: средние значения скорости проникновения электронного парамагнитного резонанса спиновых зондов (СП ЭПР с. з.) у детей обеих групп достоверно выше нормативных ($p < 0,001$). Установлены различия и между группами больных. Значения СП ЭПР с. з. у больных с затяжным течением на 15,8 % превышали соответствующие у пациентов с острым течением ИМ ($p < 0,001$). Что касается показателя микровязкости внутриклеточного содержимого, то его значения оказались сниженными по сравнению с контролем: на 22,1 % ($p < 0,001$) у больных с острым течением заболевания, на 25,1 % у пациентов с затяжным течением ИМ ($p < 0,001$). У детей с затяжным течением этот показатель на 9 % ниже, чем в группе с острым течением ИМ. Оценивая иммунологические данные, установили: среди показателей Т-системы иммунитета у больных с затяжным течением болезни по сравнению с альтернативной группой характерно снижение содержания CD3 <50 % (у 51,3 % и 26,2 % пациентов по группам соответственно, $p < 0,05$); CD4 <31 % (у 62,1 % и 32,4 % соответственно, $p < 0,05$) и CD8 <15 % (в 37,8 % и 10,8 % соответственно, $p < 0,01$). Что касается цитокинового профиля, то у больных с затяжным течением болезни по сравнению с острым течением в 3,5 раза чаще определяли уровень ИЛ-1 <20,0 пг/мл (у 64,8 % и 18,5 % пациентов соответственно) ФНП α <20,0 пг/мл в 1,9 раза чаще (у 48,6 % и 24,6 % соответственно) и очень высокий (>30,1 пг/мл) уровень ИЛ-4 (в 40,5 % и 20,0 % соответственно). Со стороны В-системы иммунитета у пациентов с затяжным течением ИМ по сравнению с острым течением чаще определяли повышенные концентрации CD22, а также низкий уровень IgA, IgM <1,1 (г/л) и IgG <10,0 (г/л).

Выводы. По результатам наблюдений установлена патогенетическая роль нарушения структурной организации лимфоцитов крови в формировании течения ИМ. Указанные нарушения (повышение проницаемости цитоплазматической мембраны лимфоцитов и снижение вязко-эластичных свойств их внутриклеточной среды) выражены в большей степени у пациентов с затяжным течением болезни, и это – фактор пролонгации заболевания. Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета влияют на вариант течения ИМ. При формировании острого течения ИМ у детей уже в остром периоде заболевания наблюдают активацию как клеточного, так и гуморального звеньев

Ключевые слова:

дети, инфекционный мононуклеоз, структура, иммунитет, лимфоцит, прогнозирование течения.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 286-294

имунитета (увеличение относительного содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ и уровней иммуноглобулинов M, A). Для зятого течения ИМ в дебюте болезни характерна депрессия Т-клеточного звена иммунитета (снижение относительного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ лимфоцитов, повышение CD22+), а также торможение антителогенеза. Вариант течения ИМ зависит от типа реакции Т-хелперных клонов: в начальном периоде манифестации ИМ с острым его течением происходит активация Т1 и Т2 хелперного ответа (значительное повышение ИЛ-1, ФНП α , умеренное – ИЛ-4). Зятое течение болезни формируется на фоне слабой активации провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1, ФНП α), значительной – противовоспалительного ИЛ-4.

Актуальність проблеми інфекційного мононуклеозу (ИМ) визначається високим рівнем інфікованості дитячого населення вірусом Епштейна–Барр (ЕБВ), можливістю розвитку несприятливого перебігу хвороби та формування пролонгованої імуносупресії з дефіцитом Т-клітинної та фагоцитарної ланок імунітету [1,2].

У доступній фаховій літературі доволі добре висвітлені питання етіології, патогенезу, клінічних проявів хвороби [3,4]. Утім відомості щодо ранньої діагностики перебігу інфекційного мононуклеозу суперечливі [4,6,7]. Пізня діагностика активних форм ЕБВ інфекції та несвоєчасне лікування можуть зумовити неконтрольовану проліферацію В-лімфоцитів – фактор малігнізації ВЕБ-інфікованих клітин із розвитком лімфопроліферативних захворювань [4,5].

Відомо, що розвиток, перебіг інфекційної патології залежить від структурно-функціонального стану лімфоцитів крові [8,9]. Серед структурно-функціональних систем клітини важливу роль відіграє цитоплазматична мембрана, що забезпечує бар'єр клітини, іонний транспорт, електричну збудливість, міжклітинну комунікацію, внутрішньоклітинну передачу інформації [10]. Біологічні мембрани першими реагують на зовнішні щодо клітини впливи, і модифікація їхньої структури та властивостей часто є основою порушення нормальної життєдіяльності клітини, а отже розвитку багатьох патологій, включаючи онкологічну [11]. Показано, що безперечна роль у формуванні перебігу та наслідків інфекційного мононуклеозу належить факторам імунної відповіді, які включають клітинну та гуморальну ланку імунітету [12–14]. Остання здатна надмірно посилювати запальні ефекти, сприяти згасанню клінічних проявів хвороби або може призводити до несприятливого перебігу захворювання, його хронізації, формування патологічних змін, що загрожують життю людини [14,15].

Мета роботи

Визначення структурно-функціонального стану лімфоцитів крові дітей із гострим і тривалим перебігом інфекційного мононуклеозу.

Матеріали і методи дослідження

Під спостереженням перебували 102 дітей віком 3–15 років, в яких діагностували ИМ. У 76 (74,5 %) пацієнтів визначили середньоважку форму захворювання, у 26 (25,5 %) – важку форму. Тяжкість захворювання встановили на підставі клінічних проявів хвороби, ступеня змін лабораторних аналізів, проаналізувавши інструментальні дані. Всім дітям здійснили стандартне клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження.

Діагноз ИМ верифікували методами ПЛР (виявлення ДНК ВЕБ у крові) та ІФА (анти-ВЕБ IgM і IgG). У 65 (63,7 %) хворих ИМ мав гострий перебіг (перша група), у 37 (36,7 %) – несприятливий (тривалий перебіг, друга група пацієнтів). Критерії визначення гострого та тривалого перебігу ИМ – наявність і вираженість лімфопроліферативного, гепатолієнального синдромів і тривалість їхнього збереження.

Пацієнти обох груп зіставні за статтю, віком, тяжкістю захворювання та іншими параметрами. У групі дітей із гострим перебігом ИМ 25 (38,5 %) дівчат і 40 (61,5 %) хлопців, у групі з тривалим перебігом хвороби 16 (43,2 %) дівчат і 21 (56,8 %) хлопець ($\chi^2 = 0,43$, $p > 0,05$).

Усі діти отримували терапію згідно з протоколами (наказ МОЗ України № 354 від 09.07.2004 р.). Як контрольну групу взяли результати аналогічних досліджень дітей аспіранта кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету Є. С. Ольховського (2019 р.). Статистичний аналіз не показав значущу різницю хворих і здорових дітей за статтю, віком ($p > 0,05$) (табл. 1).

Біофізичну організацію цитоплазматичної мембрани лімфоцитів крові визначали методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) спінових зондів, використали методику додаткового поширення при параметрах мікрохвильової частоти 9,39 ГГц, амплітуди високочастотної модуляції 1 ГГц, часу розвертки магнітного поля 200 с, константи часу 0,1 мс. Висновки про мікрів'язкість внутрішньоклітинного вмісту (МВ ВВ) лімфоцитів робили за рухливістю водорозчинного зонда (феричіаніду нікелю), який легко потрапляє в цитоплазму, разом із позаклітинними парамагнітними іонами дає змогу оцінити МВ ВВ у відносних одиницях (відн. од.) [16].

Стан клітинної ланки імунної відповіді оцінювали методом моноклональних антитіл (набір реактивів НВЛ «Гранум», Україна); використали гепаринізовану кров хворих. Рівні інтерлейкинів (ІЛ-1 β , 4, ФНП α) сироватки крові визначили твердофазним імуноферментним методом, застосувавши стандартні набори реагентів (набір реактивів «Human IL-Platinum ELISA», Novamedline, ФРН) за інструкцією виробника. Стан гуморальної ланки імунної відповіді (вміст IgM, IgA, IgG) визначили імунотурбодиметричним методом, використали сироватку крові пацієнтів (набір реактивів «Biosystems», Іспанія).

Хворих обстежили на клінічній базі кафедри дитячих інфекційних хвороб Харківського національного медичного університету – у КНП ХОР «Обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня» (КНП ХОР «ОДІКЛ»). Лабораторні дослідження здійснили у клінічній, бактеріологічній, вірусологічній, біохімічній лабораторіях КНП ХОР «ОДІКЛ», лабораторії «Аналітика»

Таблиця 1. Поділ хворих у групах відповідно до статі та віку

Показники	Градації показника	Контроль, n = 28		Гострий перебіг, n = 65		Тривалий перебіг, n = 37		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Стать	хлопці	18	64,3	40	61,5	21	56,8	>0,05
	дівчата	10	35,7	25	38,5	16	43,2	>0,05
Вік	<5	17	60,7	39	60	22	59,5	>0,05
	≥5	11	39,3	26	40	15	40,5	>0,05

та Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків.

Критерії залучення дітей у дослідження – вік від 3 до 15 років; клінічно та лабораторно підтверджений діагноз інфекційний мононуклеоз Епштейна–Барр-вірусної етіології (ІФА, ПЛР); наявність інформованої згоди пацієнтів (їхніх батьків) на дослідження імунологічних параметрів.

Критерії виключення – вік до 3 і понад 15 років; наявність тяжкої фонової патології (аутоімунні хвороби, хронічні захворювання у стадії загострення, онкогематологічні патології); інші вірусні інфекції, зумовлені зокрема герпесвірусами (HHV-1, 2, 6, 7 типів, ЦМВ), які визначали методами ПЛР і ІФА.

Під час опрацювання результатів дослідження розраховували середню арифметичну величину ряду (M), середнє квадратичне відхилення (σ), помилку середньої арифметичної величини ряду (m). Вірогідність різниці між середніми величинами визначали за допомогою критерію Стьюдента (t), тесту χ^2 Пірсона (Pearson's Chi-squared test), взаємозв'язок між параметрами оцінювали на основі коефіцієнта кореляції (r) і вірогідності помилки (p).

Статистичні дані опрацювали за допомогою пакета прикладних програм IBM SPSS 25.0® для Windows® (Trial version).

Для комплексного оцінювання функціонування систем організму хворих здійснили структурний аналіз за допомогою методу кореляційних структур. В основі методу – аналіз кореляційних матриць із наведенням зв'язків як графа, вузлами котрого є показники, а ребра – вірогідні зв'язки між ними. Порівнювали показники хворих на інфекційний мононуклеоз із гострим та тривалим перебігом.

Результати

Дослідження структурно-функціонального стану лімфоцитів крові хворих у гострому періоді ІМ показало: середні значення швидкості проникнення електронного парамагнітного резонансу спінових зондів (ШП ЕПР с. з.) у хворих обох груп вірогідно перевищували нормативні (табл. 2).

У групі хворих із гострим перебігом показники біофізичної організації цитоплазматичної мембрани лімфоцитів крові перевищували норму в 1,5 раза ($p < 0,001$), а в пацієнтів із тривалим перебігом – в 1,8 раза ($p < 0,001$). Виявили також відмінності між групами хворих. Значення ШП ЕПР с. з. у хворих із тривалим перебігом на 15,8 % перевищували такі в пацієнтів із гострим ІМ ($p < 0,001$).

Аналізуючи показники, наведені в таблиці 2, звернули увагу на те, що ШП ЕПР с. з. $< 0,37$ відн.

од. вірогідно частіше виявляли у хворих із гострим перебігом ІМ (у 21,6 %, а в альтернативній групі такі показники не зафіксували – 0,0 %; $p = 0,002$). Показник на рівні 0,38–0,39 відн. од. реєстрували в 1,8 раза частіше в пацієнтів із гострим перебігом захворювання (у 61,5 %), ніж із тривалим (32,4 %). Вищі значення показника (0,40–0,47 відн. од.) у 2,4 раза частіше ($p = 0,009$) виявляли у хворих із тривалим перебігом ІМ (40,5 %), ніж у пацієнтів із гострим перебігом захворювання (16,9 %). Дуже високі значення показника (0,48 відн. од.) характерні тільки для хворих із тривалим перебігом захворювання (27,1 %, в альтернативній групі – 0,0 %; $p < 0,001$).

Щодо показника мікрів'язкості внутрішньоклітинного вмісту, то його значення виявилися зниженими порівняно з контролем: на 22,1 % ($p < 0,001$) у хворих із гострим перебігом захворювання, на 25,1 % в пацієнтів із тривалим перебігом ІМ ($p < 0,001$). У дітей із тривалим перебігом хвороби цей показник на 9 % нижчий, ніж у групі з гострим перебігом ІМ ($p = 0,038$). Показник на рівні $< 1,70$ відн. од. більш характерний для осіб із тривалим перебігом хвороби, його визначали у 22,8 раза частіше (62,1 % випадків), ніж у групі з гострим перебігом хвороби (3 %, $p < 0,001$). Діапазон показника 1,71–1,80 відн. од. неспецифічний, його виявили в майже однакової кількості дітей двох груп ($p = 0,068$). Результат $> 1,81$ відн. од. визначили у 43,1 % пацієнтів із гострим перебігом ІМ, у 2,8 % дітей (в 15 разів рідше, $p < 0,001$) альтернативної групи.

Отже, у хворих обох груп визначили порушення біофізичної організації структури лімфоцитів: зниження в'язко-еластичних властивостей, підвищення проникності цитоплазматичної мембрани. У хворих із тривалим перебігом хвороби ці порушення виражені більше.

Оцінюючи імунологічні дані (табл. 3), встановили: з-поміж показників Т-системи імунітету для хворих із тривалим перебігом хвороби порівняно з альтернативною групою характерне зниження вмісту CD3 < 50 % (у 51,3 % і 26,2 % пацієнтів за групами відповідно; $p < 0,05$); CD4 < 31 % (у 62,1 % і 32,4 % відповідно, $p < 0,05$), CD8 < 15 % (у 37,8 % і 10,8 % відповідно, $p < 0,01$).

Отже, у хворих із тривалим перебігом захворювання вірогідно частіше визначали депресію Т-клітинної ланки імунітету ($p < 0,05$, $p < 0,01$).

Щодо цитокінового профілю, то в пацієнтів із тривалим перебігом хвороби порівняно з дітьми з гострим перебігом у 3,5 раза частіше визначали ІЛ-1 $< 20,0$ пг/мл (у 64,8 % і 18,5 % хворих відповідно); ФНПс $< 20,0$ пг/мл в 1,9 раза частіше (у 48,6 % і 24,6 % відповідно) і дуже високий ($> 30,1$ пг/мл) рівень ІЛ-4 (у 40,5 % і 20,0 % відповідно).

Таблиця 2. Показники біофізичної організації цитоплазматичної мембрани та внутрішньоклітинного середовища лімфоцитів крові хворих порівнюваних груп

Показники, одиниці вимірювання	Градації показника	Гострий перебіг, n = 65		Тривалий перебіг, n = 37		p
		абс.	%	абс.	%	
ШП ЕПР с. з., відн. од.	≤0,37	14	21,6	0	0	0,002
	0,38–0,39	40	61,5	12	32,4	0,005
	0,40–0,47	11	16,9	15	40,5	0,009
	≥0,48	0	0	10	27,1	<0,001
M ± m		0,38 ± 0,01 ^{1,2}		0,44 ± 0,01 ²		
Контроль, n = 28		0,25 ± 0,011				

¹: вірогідні відмінності щодо показників групи тривалого перебігу, p < 0,001; ²: вірогідні відмінності щодо групи контролю, p < 0,001.

Показники, одиниці вимірювання	Градації показника	Гострий перебіг, n = 65		Тривалий перебіг, n = 37		p
		абс.	%	абс.	%	
МВ ВС, відн. од.	≤1,70	2	3,0	23	62,1	<0,001
	1,71–1,80	35	53,9	13	35,1	0,068
	≥1,81	28	43,1	1	2,8	<0,001
M ± m		1,80 ± 0,05 ^{1,2}		1,64 ± 0,05 ²		
Контроль, n = 28		2,31 ± 0,12				

¹: вірогідні відмінності щодо групи тривалого перебігу, p = 0,038; ²: вірогідні відмінності щодо групи контролю, p < 0,001.

Таблиця 3. Імунні показники дітей груп порівняння

Показники, одиниці вимірювання	Градації показника	Гострий перебіг, n = 65		Тривалий перебіг, n = 37		p
		абс.	%	абс.	%	
CD3, %	≤50	17	26,2	19	51,3	<0,05
	51–60	17	26,2	11	29,8	>0,05
	≥61	31	47,6	7	18,9	<0,05
CD4, %	≤31	21	32,4	23	62,1	<0,05
	≥32	44	67,6	42	37,9	<0,05
CD8, %	≤15	7	10,8	14	37,8	<0,01
	16–30	32	49,2	19	51,4	>0,05
	≥31	26	40,0	4	10,8	<0,01
CD22, %	≤30	35	53,8	10	27,0	<0,05
	≥31	30	46,2	27	73,0	<0,05
ІЛ-1, пг/мл	≤20	12	18,5	24	64,8	<0,001
	20,1–30,0	10	15,4	6	16,2	>0,05
	≥30,1	43	66,1	7	19,0	<0,001
ІЛ-4, пг/мл	≤30	52	80,0	22	59,5	<0,05
	≥30,1	13	20,0	15	40,5	<0,05
ФНПа, пг/мл	≤20	16	24,6	18	48,6	<0,05
	20,1–30,0	14	21,5	7	18,9	>0,05
	≥30,1	35	53,9	12	32,5	<0,05
ІgA, г/л	≤1,0	21	32,3	20	54,1	<0,05
	≥1,1	44	67,7	17	45,9	<0,05
ІgM, г/л	≤1,0	16	24,6	23	62,1	<0,001
	≥1,1	49	75,4	14	37,9	<0,001
ІgG, г/л	≤10,0	16	24,6	28	75,6	<0,001
	≥10,1	49	75,4	9	24,4	<0,001

Зважаючи на те, що між показниками імунної системи є взаємозв'язки, здійснили системний аналіз показників імунітету у групах методом кореляційних структур. На рис. 1 наведені кореляційні структури показників у групах, включали тільки вірогідні зв'язки.

За даними, що наведені на рис. 1, є вірогідна різниця кореляційних структур у групах за характером зв'язків. Відмінності кореляційних «портретів», що визначені за допомогою показника кореляційної різниці (ПКР), становили 90,6 %. Отже, вже в дебюті захворювання залежно від наступного перебігу формуються такі кореляційні патогенетичні матриці систем імунітету, що суттєво відрізняються архітектонікою.

Про принципові відмінності в організації функціонування системи імунітету в групах свідчать і відмін-

ності системоутворювальних показників кореляційних структур, тобто показників, що утворюють найбільшу кількість зв'язків з іншими ознаками.

У кореляційній структурі хворих із гострим перебігом захворювання системоутворювальним показником є концентрація CD22, що мала прямі зв'язки з ШП ЕПР с. з. (r = 0,57; p < 0,05); ІЛ-1 (r = 0,34; p < 0,05); CD3 (r = 0,45; p < 0,05), CD8 (r = 0,57; p < 0,05), зворотний – з ІgA (r = -0,30; p < 0,05).

Системоутворювальний показник кореляційної структури хворих із тривалим перебігом ІМ – рівень ІgM, що позитивно корелював з ІgG (r = 0,32; p < 0,05), ІgA (r = 0,50; p < 0,05), негативно – зі ШП ЕПР с. з. (r = -0,49; p < 0,05), ФНПа (r = -0,57; p < 0,05) і CD4 (r = -0,43; p < 0,05).

На основі кореляційних структур методом максимального кореляційного шляху побудували кореляційні патогенетичні патерни (рис. 2). Сутність побудови патерна: з кореляційної структури беруть системоутворювальний показник, обирають ознаку, з якою він мав найтісніший зв'язок; потім визначають показник, який має найтісніший зв'язок із попереднім і так далі до відсутності зв'язку.

За даними рис. 2, патерни відрізняються за формою, змістом. Згідно з патерном гострого перебігу ІМ, підвищення CD22 (щодо норми) поєднується зі збільшенням концентрацій CD8, ІЛ-1, CD3, ІЛ-4 і зниженням ІgG, CD4 і ШП ЕПР с. з.

У хворих із тривалим перебігом збільшення рівня ІgM поєднується зі зниженням концентрації ФНПа, ІЛ-4 і збільшенням CD4, CD3, CD8 і ШП ЕПР с. з.

Функціонування патерна в пацієнтів із гострим перебігом має компенсаторну спрямованість, оскільки спрямоване на зниження збільшеної ШП ЕПР с. з., тобто порушень структурної організації цитоплазматичної мембрани лімфоцитів. У хворих із тривалим перебігом ІМ функціонування патерна має декомпенсаторну складову, зумовлює збільшення ШП ЕПР с. з., тобто поглиблення структурно-функціональних порушень мембрани лімфоцитів.

Обговорення

Результати дослідження в основному збігаються з даними фахової літератури, що присвячена вивченню перебігу інфекційних захворювань, зокрема інфекційного мононуклеозу, залежно від структурно-функціонального стану лімфоцитів крові хворих.

В останні роки опубліковано роботи, результати яких свідчать про важливу роль структурного стану імунотетентних клітин, як-от лімфоцитів, і його значення в реакції на антигенний подразник [17,18]. Припускають, що провідну роль у формуванні тривалого перебігу ІМ відіграє стан плазматичних мембран і цитоплазми лімфоцитів. Виражені порушення жорсткості мембрани лімфоцитів, на якій знаходиться весь їхній рецепторний апарат, призводять до порушення функціонування, а також передачі сигналу на внутрішньомембранні ферменти (циклічні нуклеотиди); порушення в'язкості внутрішньоклітинного вмісту лімфоцитів викликає порушення внутрішньоклітинного метаболізму. Ці явища, на нашу думку, – першопричина дисфункції Т-, і В-систем імунітету. Наші дані не суперечать результатам досліджень науковців, які вивчали клінічні аспекти різних варіантів перебігу ІМ у дітей [19].

Результати цього дослідження щодо структурної організації лімфоцитів крові хворих на ІМ у дебюті захворювання показали: середні значення ШП ЕПР с. з. і MB BB у дітей обох груп відрізняються від нормативних ($p < 0,001$). Значення ШП ЕПР с. з. у хворих із тривалим перебігом на 15,8 % перевищували відповідні показники пацієнтів із гострим перебігом ІМ ($p < 0,001$). Показник MB BB на 9 % нижчий у дітей із тривалим перебігом хвороби порівняно з групою гострого перебігу ($p = 0,038$). Аналогічні дані отримали й інші дослідники. Так, показано, що функціонування цитоплазматичної мембрани залежить від її мікрів'яз-

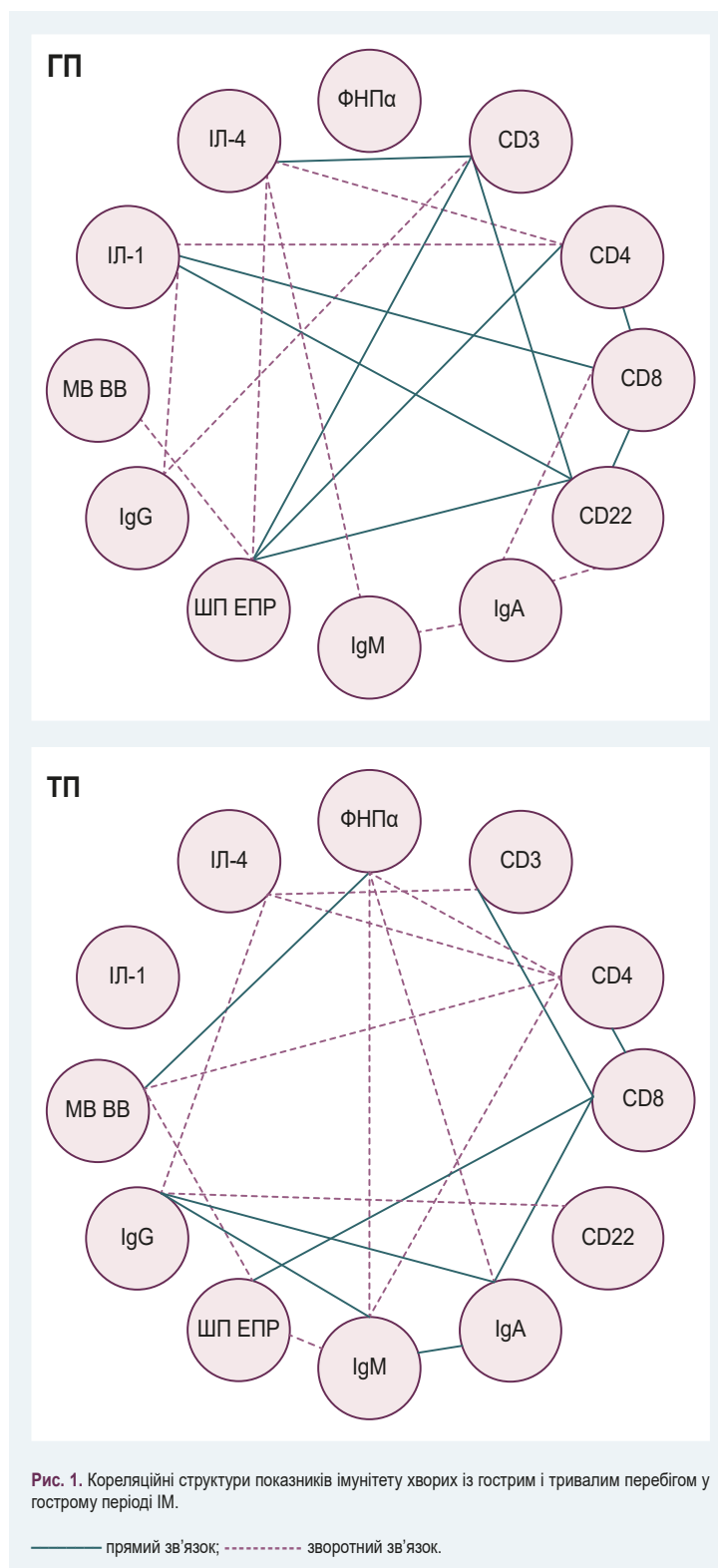
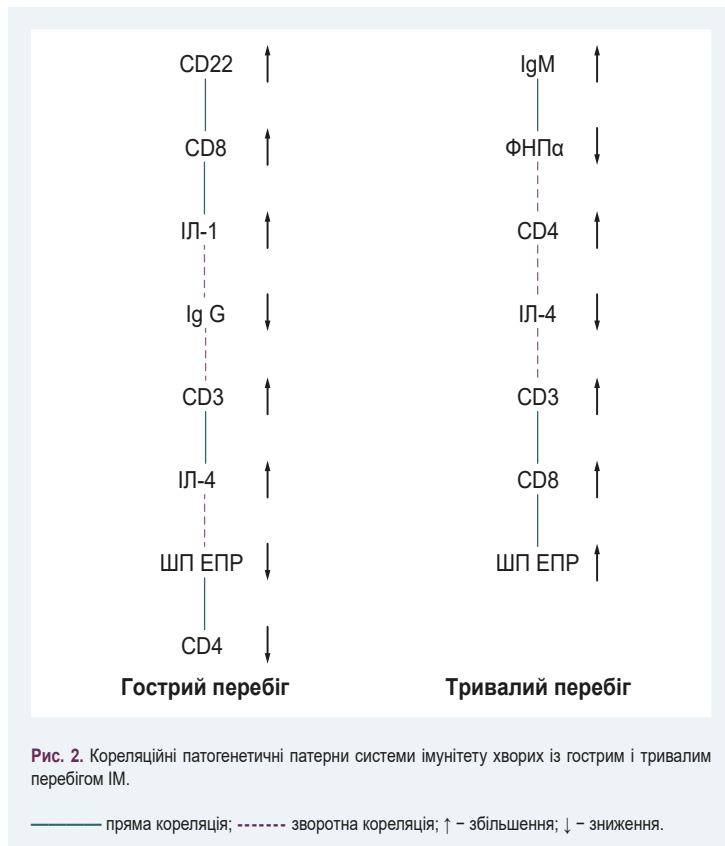


Рис. 1. Кореляційні структури показників імунітету хворих із гострим і тривалим перебігом у гострому періоді ІМ.

— прямиий зв'язок; - - - - - зворотний зв'язок.

кісних властивостей: при багатьох патологічних станах відбувається вірогідне зниження плинності плазматичних мембран лімфоцитів і збільшення їхнього негативного поверхневого заряду [17–19]. Інші автори навпаки вказують на збільшення мікрів'язкості цитоплазматичної мембрани лімфоцитів, що пояснює імуносупресивний стан у деяких пацієнтів з інфекційними захворюваннями [20,21].



Оцінюючи імунологічні показники в гострий період ІМ, виявили: з боку показників Т-системи імунітету в пацієнтів із тривалим перебігом хвороби частіше виявляли депресію Т-клітинної ланки імунітету, ніж у пацієнтів із гострим перебігом. Ці дані відповідають результатам дослідження M. R. Chen, M. Hayashida [11, 22]. У роботі A. Merlo et al. показано, що низька кількість CD8+-лімфоцитів при інфекційних захворюваннях свідчить про зміни характеру реагування імунної системи; у хворого спостерігають млявий, тривалий перебіг хвороби із довгим періодом реконвалесценції та ускладненнями [23].

Щодо цитокінового профілю, то у хворих із тривалим перебігом хвороби порівняно з пацієнтами з гострим перебігом в 3,5 рази частіше визначали рівень ІЛ-1 <20,0 пг/мл (у 64,6 % і 18,5 % хворих відповідно); ФНПа <20,0 пг/мл – в 1,9 рази частіше (у 48,6 % і 24,6 % відповідно), дуже високий (>30,1 пг/мл) рівень ІЛ-4 (у 40,5 % і 20,0 % відповідно). Результати підтвердили, що варіант перебігу ІМ залежить від типу активації Т-хелперних клонів: гострий перебіг формується на тлі гіперпродукції прозапальних ІЛ-1, ФНПа і протизапального ІЛ-4 цитокінів, що показує активацію і Т1, і Т2-хелперної відповіді; тривалий перебіг – на тлі слабкої активації прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1, ФНПа) і значущої активації протизапального ІЛ-4, що відповідає імунній відповіді Т2-хелперного шляху. Таке співвідношення цитокінів може свідчити про перемикавання активованих Т-лімфоцитів із Th1-клітин, які контролюють розвиток клітинноопосередкованих механізмів імунного захисту, на Th2-хелпери, що визначають антитілоутворення та реакції негайної

IgE-залежної алергії. У науковій літературі наведені суперечливі думки щодо цього. Більшість дослідників указують на односпрямованість змін системного цитокінового реагування при сприятливому перебігу ІМ: гіперпродукція прозапальних цитокінів на тлі нестачі протизапальних, що забезпечує формування Th1-типу імунної відповіді [24,25]. Інші автори вважають, що дефіцит факторів захисту гуморальної ланки імунітету в гостру фазу інфекції – причина розвитку ускладнень і/або тривалості інфекційного процесу [26].

Як і в нашому дослідженні, K. Fish et al. показали: трансформація імунної відповіді за Th2-залежним шляхом призводить до порушення елімінації ЕБВ із розвитком несприятливого перебігу та наслідків захворювання [27,28].

З боку В-системи імунітету в пацієнтів із тривалим перебігом ІМ порівняно з хворими з гострим перебігом частіше визначали підвищену концентрацію CD22, а також низький рівень IgA, IgM (<1,1 г/л) і IgG (<10,0 г/л). Аналогічні дані наведені у фаховій літературі [29]. Отже, тривалий перебіг ІМ формується на тлі підвищеного вмісту CD22 і зниження антитілогенезу. Настільки парадоксальна ситуація, на нашу думку, пояснюється зниженням CD4, роль яких полягає в трансформованні В-лімфоцитів (CD22) у плазматичні клітини, які продукують антитіла. Це припущення не збігається з висновками окремих авторів [30].

Результати дослідження свідчать: структурна організація лімфоцитів крові впливає на механізм імунної відповіді, змінюючи вміст Т-лімфоцитів, інтерлейкінів та імуноглобулінів, і в решті впливаючи на перебіг захворювання.

Висновки

1. У результаті дослідження структурного стану цитоплазматичної мембрани лімфоцитів крові хворих на ІМ у дебюті захворювання виявили: середні значення ШП ЕПР с. з. у дітей обох груп вірогідно перевищують нормативні ($p < 0,001$). Встановили також відмінності між групами хворих. Значення ШП ЕПР с. з. у хворих із тривалим перебігом на 15,8 % перевищували такі у хворих із гострим перебігом ІМ ($p < 0,001$). Щодо показника МВ ВВ, то його значення знижені порівняно з контролем: на 22,1 % у хворих із гострим перебігом захворювання ($p < 0,001$), на 25,1 % у пацієнтів із тривалим перебігом ІМ ($p < 0,001$). У дітей із тривалим перебігом хвороби показник на 9 % нижчий, ніж у групі пацієнтів із гострим перебігом ІМ.

2. У разі формування гострого перебігу ІМ у дітей спостерігали активацію і клітинної, і гуморальної ланки імунітету (підвищення відносного вмісту CD3+, CD4+, CD8+ та CD22+ і рівнів імуноглобулінів М, А). Для тривалого перебігу ІМ у дебюті хвороби характерна депресія Т-клітинної ланки імунітету (зниження відносного вмісту CD3+, CD4+ та CD8+ лімфоцитів, підвищення CD22+), а також гальмування антитілогенезу.

3. У початковому періоді маніфестації ІМ із гострим перебігом визначили активацію Т1 і Т2 хелперної відповіді (суттєве підвищення ІЛ-1, ФНПа, помірне збільшення ІЛ-4). Тривалий перебіг хвороби формується

на тлі дисбалансу про- і протизапальних цитокінів, що полягає в домінуванні вмісту ІЛ-4 над ІЛ-1, ФНПс.

Перспективи подальших досліджень. Зважаючи на нагальність проблеми інфекційного мононуклеозу в педіатричній практиці, наступні дослідження особливостей патогенезу є надзвичайно актуальними, особливо щодо поглиблення розуміння механізмів розвитку та прогнозування перебігу патології.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 25.08.2021

Після доопрацювання / Revised: 01.11.2021

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2021

Відомості про авторів:

Колесник Я. В., PhD, асистентка каф. дитячих інфекційних хвороб, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-2984-6563](https://orcid.org/0000-0003-2984-6563)

Брюханова Т. О., канд. біол. наук, асистентка каф. біологічної хімії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8042-9063](https://orcid.org/0000-0002-8042-9063)

Слепченко М. Ю., асистентка каф. дитячих інфекційних хвороб, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-5539-2177](https://orcid.org/0000-0001-5539-2177)

Наконечна О. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. біологічної хімії, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2614-1587](https://orcid.org/0000-0002-2614-1587)

Сорокіна О. Г., канд. мед. наук, асистентка каф. загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет імені В. М. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6646-544](https://orcid.org/0000-0001-6646-544)

Information about authors:

Kolesnyk Ya. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University, Ukraine. Briukhanova T. O., PhD, Assistant of the Department of Biological Chemistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Slepchenko M. Yu., Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Kharkiv National Medical University, Ukraine. Nakonechna O. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Biological Chemistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Sorokina O. H., MD, PhD, Assistant of the Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Колесник Я. В., PhD, ассистент каф. детских инфекционных болезней, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Брюханова Т. А., канд. биол. наук, ассистент каф. биологической химии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Слепченко М. Ю., ассистент каф. детских инфекционных болезней, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Наконечная О. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. биологической химии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Сорокина О. Г., канд. мед. наук, ассистент каф. общей и клинической иммунологии и алергологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Список литературы



[1] Yang Y., Gao F. Clinical characteristics of primary and reactivated Epstein-Barr virus infection in children. *Journal of medical virology*. 2020. Vol. 92, Iss. 12. P. 3709-3716. <https://doi.org/10.1002/jmv.26202>

- [2] Epidemiology of Epstein-Barr virus infection and infectious mononucleosis in the United Kingdom / A. Kuri, B. Jacobs, N. Vickaryous et al. *BMC Public Health*. 2020. Vol. 20, Iss. 1. P. 912. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09049-x>
- [3] Primary Epstein-Barr virus infection with and without infectious mononucleosis / K. Rostgaard, H. Balfour, R. Jarrett et al. *PLoS one*. 2019. Vol. 14, Iss. 12. P. e0226436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226436>
- [4] Ebell M. Infectious Mononucleosis. *JAMA*. 2016. Vol. 315, Iss. 14. P. 1532.
- [5] Clinical differentiation of infectious mononucleosis that is caused by Epstein-Barr virus or cytomegalovirus: A single-center case-control study in Japan / T. Ishii, Y. Sasaki, T. Maeda et al. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2019. Vol. 25, Iss. 6. P. 431-436. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.01.012>
- [6] Fujiwara S., Nakamura H. Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection: Is It Immunodeficiency, Malignancy, or Both? *Cancers*. 2020. Vol. 12, Iss. 11. P. 3202. <https://doi.org/10.3390/cancers12113202>
- [7] Stanfield B. A., Luftig M. A. Recent advances in understanding Epstein-Barr virus. *F1000Research*. 2017. Vol. 6. P. 386. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10591.1>
- [8] Long H. M., Meckiff B. J., Taylor G. S. The T-cell Response to Epstein-Barr Virus—New Tricks From an Old Dog. *Frontiers in immunology*. 2019. Vol. 10. P. 2193. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02193>
- [9] Revisiting the Tissue Microenvironment of Infectious Mononucleosis: Identification of EBV Infection in T Cells and Deep Characterization of Immune Profiles / M. Barros, G. Vera-Lozada, P. Segges et al. *Frontiers in immunology*. 2019. Vol. 10. P. 146. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00146>
- [10] Spontaneously Ruptured Spleen Samples in Patients With Infectious Mononucleosis / M. M. Silézar, C. C. Muñoz, J. D. Solano-Iturri et al. *American Journal of Clinical Pathology*. 2018. Vol. 150, Iss. 4. P. 310-317. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqy056>
- [11] Establishment and characterization of a novel Hodgkin lymphoma cell line, AM-HLH, carrying the Epstein-Barr virus genome integrated into the host chromosome / M. Hayashida, M. Daibata, E. Tagami et al. *Hematological Oncology*. 2016. Vol. 35, Iss. 4. P. 567-575. <https://doi.org/10.1002/hon.2369>
- [12] Epstein-Barr virus NK and T cell lymphoproliferative disease: report of a 2018 international meeting / J. I. Cohen, K. Iwatsuki, Y. H. Ko et al. *Leukemia & Lymphoma*. 2019. Vol. 61, Iss. 4. P. 808-819. <https://doi.org/10.1080/10428194.2019.1699080>
- [13] Kimura H., Fujiwara S. Overview of EBV-Associated T/NK-Cell Lymphoproliferative Diseases. *Frontiers in pediatrics*. 2019. Vol. 6. P. 417. <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00417>
- [14] Ko Y.-H. Epstein-Barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative diseases in children and adolescents. *Precision and Future Medicine*. 2018. Vol. 2, Iss. 1. P. 1-7. <https://doi.org/10.23838/pfm.2017.00198>
- [15] Dynamic Distribution and Clinical Value of Peripheral Lymphocyte Subsets in Children with Infectious Mononucleosis / L. Chen, X. Chen, W. Yao et al. *Indian journal of pediatrics*. 2021. Vol. 88, Iss. 2. P. 113-119. <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03319-7>
- [16] Brustolon M., Giamello E. *Electron paramagnetic resonance* / eds. M. Brustolon, E. Giamello. Hoboken, N.J : John Wiley & Sons, Inc, 2009. 560 p.
- [17] Arashiki N., Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Current opinion in hematology*. 2017. Vol. 24, Iss. 3. P. 167-172. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000326>
- [18] The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts / E. Sezgin, I. Levental, S. Mayor, C. Eggeling. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 2017. Vol. 18, Iss. 6. P. 361-374. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.16>
- [19] Tracking post-infectious fatigue in clinic using routine Lab tests / J. M. Harvey, G. Broderick, A. Bowie et al. *BMC pediatrics*. 2016. Vol. 16. P. 54. <https://doi.org/10.1186/s12887-016-0596-8>
- [20] Baxter A. A., Poon I. K., Hulett M. D. The lure of the lipids: how defensins exploit membrane phospholipids to induce cytolysis in target cells. *Cell death & disease*. 2017. Vol. 8, Iss. 3. P. e2712. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.69>
- [21] Lipid engineering reveals regulatory roles for membrane fluidity in yeast flocculation and oxygen-limited growth / D. Degreif, T. de Rond, A. Bertl et al. *Metabolic engineering*. 2017. Vol. 41. P. 46-56. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2017.03.002>
- [22] Chen M. R. Epstein-barr virus, the immune system, and associated diseases. *Frontiers in microbiology*. 2011. Vol. 2, P. 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00005>
- [23] The interplay between Epstein-Barr virus and the immune system: rationale for adoptive cell therapy of EBV-related disorders / A. Merlo, R. Turrini, R. Dolcetti et al. *Haematologica*. 2010. Vol. 95, Iss. 10. P. 1769-1777. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.023689>

- [24] NK-cell post-transplant lymphoproliferative disease with chronic active Epstein-Barr virus infection-like clinical findings / T. Iemura, T. Kondo, M. Hishizawa et al. *International journal of infectious diseases*. 2019. Vol. 88. P. 31-33. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.07.039>
- [25] Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection / H. Kimura, T. Morishima, H. Kanegame et al. *Journal of infectious diseases*. 2003. Vol. 187, Iss. 4. P. 527-533. <https://doi.org/10.1086/367988>
- [26] Fukuda M., Kawaguchi Y. Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein-Barr virus LMP2A-induced cell transformation. *Journal of virology*. 2014. Vol. 88, Iss. 9. P. 5189-5194. <https://doi.org/10.1128/JVI.03714-13>
- [27] Fish K., Chen J., Longnecker R. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A enhances MYC-driven cell cycle progression in a mouse model of B lymphoma. *Blood*. 2014. Vol. 123, Iss. 4. P. 530-540. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-07-517649>
- [28] Cen O., Longnecker R. Latent Membrane Protein 2 (LMP2). *Current topics in microbiology and immunology*. 2015. Vol. 391. P. 151-180. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22834-1_5
- [29] Clinical utility of measuring Epstein-Barr virus-specific cell-mediated immunity after HSCT in addition to virological monitoring: results from a prospective study / A. Chierighin, G. Piccirilli, T. Belotti et al. *Medical microbiology and immunology*. 2019. Vol. 208, Iss. 6. P. 825-834. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00629-2>
- [30] Tangye S. G., Palendira U., Edwards E. S. Human immunity against EBV-lessons from the clinic. *The Journal of experimental medicine*. 2017. Vol. 214, Iss. 2. P. 269-283. <https://doi.org/10.1084/jem.20161846>
- [14] Ko, Y. -H. (2018). Epstein-Barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative diseases in children and adolescents. *Precision and Future Medicine*, 2(1), 1-7. <https://doi.org/10.23838/pfm.2017.00198>
- [15] Chen, L., Chen, X., Yao, W., Wei, X., Jiang, Y., Guan, J., Liu, X., Xie, Y., Lu, H., Qian, J., Zhang, Z., Wu, L., & Lin, X. (2021). Dynamic Distribution and Clinical Value of Peripheral Lymphocyte Subsets in Children with Infectious Mononucleosis. *Indian journal of pediatrics*, 88(2), 113-119. <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03319-7>
- [16] Brustolon, M., & Giamello, E. (Eds.). (2009). *Electron paramagnetic resonance*. Hoboken, N. J: John Wiley & Sons, Inc.
- [17] Arashiki, N., & Takakuwa, Y. (2017). Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Current opinion in hematology*, 24(3), 167-172. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000326>
- [18] Sezgin, E., Levental, I., Mayor, S., & Eggeling, C. (2017). The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 18(6), 361-374. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.16>
- [19] Harvey, J. M., Broderick, G., Bowie, A., Barnes, Z. M., Katz, B. Z., O'Gorman, M., Vernon, S. D., Fletcher, M. A., Klimas, N. G., & Taylor, R. (2016). Tracking post-infectious fatigue in clinic using routine Lab tests. *BMC pediatrics*, 16, 54. <https://doi.org/10.1186/s12887-016-0596-8>
- [20] Baxter, A. A., Poon, I. K., & Hulet, M. D. (2017). The lure of the lipids: how defensins exploit membrane phospholipids to induce cytolysis in target cells. *Cell death & disease*, 8(3), e2712. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.69>
- [21] Degreif, D., de Rond, T., Bertl, A., Keasling, J. D., & Budin, I. (2017). Lipid engineering reveals regulatory roles for membrane fluidity in yeast flocculation and oxygen-limited growth. *Metabolic engineering*, 41, 46-56. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.03.002>
- [22] Chen M. R. (2011). Epstein-barr virus, the immune system, and associated diseases. *Frontiers in microbiology*, 2, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00005>
- [23] Merlo, A., Turrini, R., Dolcetti, R., Martorelli, D., Muraro, E., Comoli, P., & Rosato, A. (2010). The interplay between Epstein-Barr virus and the immune system: a rationale for adoptive cell therapy of EBV-related disorders. *Haematologica*, 95(10), 1769-1777. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.023689>
- [24] Iemura, T., Kondo, T., Hishizawa, M., Yamashita, K., Kimura, H., & Takaori-Kondo, A. (2019). NK-cell post-transplant lymphoproliferative disease with chronic active Epstein-Barr virus infection-like clinical findings. *International journal of infectious diseases*, 88, 31-33. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.07.039>
- [25] Kimura, H., Morishima, T., Kanegane, H., Ohga, S., Hoshino, Y., Maeda, A., Imai, S., Okano, M., Morio, T., Yokota, S., Tsuchiya, S., Yachie, A., Imashuku, S., Kawa, K., Wakiguchi, H., & Japanese Association for Research on Epstein-Barr Virus and Related Diseases (2003). Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *The Journal of infectious diseases*, 187(4), 527-533. <https://doi.org/10.1086/367988>
- [26] Fukuda, M., & Kawaguchi, Y. (2014). Role of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif of latent membrane protein 2A (LMP2A) in Epstein-Barr virus LMP2A-induced cell transformation. *Journal of virology*, 88(9), 5189-5194. <https://doi.org/10.1128/JVI.03714-13>
- [27] Fish, K., Chen, J., & Longnecker, R. (2014). Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A enhances MYC-driven cell cycle progression in a mouse model of B lymphoma. *Blood*, 123(4), 530-540. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-07-517649>
- [28] Cen, O., & Longnecker, R. (2015). Latent Membrane Protein 2 (LMP2). *Current topics in microbiology and immunology*, 391, 151-180. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22834-1_5
- [29] Chierighin, A., Piccirilli, G., Belotti, T., Prete, A., Bertuzzi, C., Gibertoni, D., Gabrielli, L., Turello, G., Borgatti, E. C., Barbato, F., Sessa, M., Arpinati, M., Bonifazi, F., & Lazzarotto, T. (2019). Clinical utility of measuring Epstein-Barr virus-specific cell-mediated immunity after HSCT in addition to virological monitoring: results from a prospective study. *Medical microbiology and immunology*, 208(6), 825-834. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00629-2>
- [30] Tangye, S. G., Palendira, U., & Edwards, E. S. (2017). Human immunity against EBV-lessons from the clinic. *The Journal of experimental medicine*, 214(2), 269-283. <https://doi.org/10.1084/jem.20161846>

References

Immunohistochemical analysis of GFAP expression in the experimental sepsis-associated encephalopathy

T. V. Shulyatnikova  *A,B,C,D, V. O. Tumanskyi  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

Pathophysiology of sepsis-associated encephalopathy (SAE) is linked to blood-brain barrier breakdown, neuroinflammation and neurotransmitter imbalance in the brain. Astroglia, the most abundant cell population within the brain, plays the critical role in control of all kinds of homeostatic processes, thereby regulating the adaptive reactions of the brain to various challenges. Astroglia are highly heterogenous across the brain regions, therefore, damaging factors stimulate heterogenous astroglial reactivity and response in different brain regions.

The aim of this study was determining immunohistochemical features of GFAP expression in various brain regions in the model of rodent experimental sepsis.

Materials and methods. The experiment was performed in Wistar rats: control group of 5 sham-operated rats and the main group of 20 rats subjected to cecum ligation and puncture (CLP) procedure. The immunohistochemical study of GFAP expression in the sensorimotor cortex, subcortical white matter, hippocampal, thalamic and caudate nucleus/putamen regions was performed from 20 to 48 hours of the postoperative period.

Results. Starting from the 12th hour after CLP, animals began display progressive increase in signs of periorbital exudation, piloerection, fever-/hypothermia, diarrhea, social isolation, lethargy, and respiratory impairment. In the period of 20–38 hours, 9 animals showed expressed previously listed symptoms and were euthanized (CLP-B – lethal group), 11 rats survived until 48 hours of the experiment (CLP-A – survived group). In the lethal group, starting from 20 to 38 hours after the CLP procedure, a significant (relative to control) regionally-specific dynamic increase in the level of GFAP expression was observed in the brain: in the cortex – by 465 %, in the subcortical white matter – by 198 %, in the hippocampus – by 250 %, from the 23rd hour – in the caudate nucleus/putamen by 18 %. In the thalamus, no significant changes in the level of GFAP expression were observed. In the cortex and hippocampus of survived animals, 48 h after CLP, higher values of GFAP expression were observed comparing to the group of non-survived animals.

Conclusions. Under conditions of the experimental SAE, an early dynamic increase in the astroglial reactivity was observed in the cortex, hippocampus, white matter, and caudate nucleus/putamen of the brain with the most significant increase of indicators in the cortex and hippocampus, which potentially indicates relatively more vulnerable areas of the brain to damaging factors, as well as places of the most active intercellular interaction in the condition of systemic inflammation. Higher values of GFAP expression in the cortex and hippocampus of survived animals at 48 hours of the experiment, compared with indicators of non-survived group, indicate increased astroglial reactivity in these brain regions at the noted time period, accompanied by relatively more favorable clinical course of the disease.

Key words:

sepsis-associated encephalopathy, astroglial reactivity, GFAP.

Pathologia

2021; 18 (3), 295-302

*E-mail:

shulyatnikova.tv@gmail.com

Імуногістохімічний аналіз експресії GFAP при експериментальній сепсис-асоційованій енцефалопатії

Т. В. Шулятнікова, В. О. Туманський

Патогенез сепсис-асоційованої енцефалопатії (САЕ) пов'язують із пошкодженням гематоенцефалічного бар'єра, нейрозапаленням і дисбалансом нейромедіаторів у мозковій тканині. Астроглія, найчисленніша популяція клітин у головному мозку, відіграє критичну роль у контролі всіх видів гомеостатичних процесів, регулюючи адаптивні реакції мозку у відповідь на різні фактори його пошкодження. Астроглія дуже неоднорідна в різних відділах мозку, тому фактори, що викликають пошкодження тканини, ініціюють гетерогенні клітинні реакції.

Мета роботи – визначення імуногістохімічних особливостей експресії GFAP у різних відділах мозку за умов експериментальної моделі сепсису в щурів.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на щурах лінії Вістар: контрольна група включала 5 хибнооперованих щурів; 20 тваринам виконали перев'язку та пункцію сліпої кишки (CLP). Здійснили імуногістохімічне дослідження експресії маркера GFAP у сенсомоторній корі, підкірковій білій речовині, гіпокампі, таламусі, хвостатому ядрі/лушпині в період з 20 до 48 години після CLP-процедури.

Результати. Починаючи з 12 години після CLP-процедури, у тварин почали прогресувати ознаки періорбітальної ескудації, пілоерекція, гіпер-/гіпотермія, діарея, соціальна ізоляція, летаргія та респіраторні порушення. У період з 20 до 38 години 9 тварин на тлі суттєвого погіршення стану були евтаназовані (підгрупа CLP-B – загиблі щури), 11 особин вижили до кінця експерименту, 48 годин (підгрупа CLP-A – тварини, які вижили). У підгрупі CLP-B у строк із 20 до 38 години після процедури CLP у головному мозку спостерігали вірогідне (щодо контролю) регіонально-специфічне динамічне

Ключові слова:

сепсис-асоційована енцефалопатія, астрогліальна реактивність, GFAP.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53).
С. 295-302

збільшення рівня експресії GFAP: у корі – на 465 %, підкірковій білій речовині – на 198 %, гіпокампі – на 250 %; з 23 години – на 18 % у хвостатому ядрі/лушпині. У таламусі не визначили вірогідну зміну рівня експресії GFAP. У корі та гіпокампі тварин, які вижили, через 48 годин після CLP встановили вищі значення експресії GFAP порівняно з групою загиблих щурів.

Висновки. В умовах експериментальної САЕ спостерігали раннє динамічне підвищення реактивності астроглії в корі, гіпокампі, білій речовині і хвостатому ядрі/лушпині головного мозку з найбільшим підвищенням показників у корі та гіпокампі. Це потенційно вказує на відносно вразливіші для факторів пошкодження ділянки мозку, а також на місця найактивнішої міжклітинної взаємодії під час системного запалення. Вищі значення експресії GFAP у корі та гіпокампі тварин, які вижили до 48 години експерименту, щодо показників групи загиблих щурів указують на посилення астрогліальної реактивності в названих ділянках мозку в цей період на тлі відносно сприятливішого клінічного перебігу захворювання.

Ключевые слова:

сепсис-ассоциированная энцефалопатия, астроглиальная реактивность, GFAP.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 295-302

Иммуногистохимический анализ экспрессии GFAP при экспериментальной сепсис-ассоциированной энцефалопатии

Т. В. Шулятникова, В. А. Туманский

Патогенез сепсис-ассоциированной энцефалопатии (САЭ) связывают с повреждением гематоэнцефалического барьера, нейровоспалением и дисбалансом нейромедиаторов в мозговой ткани. Астроглия, наиболее многочисленная популяция клеток в головном мозге, играет главенствующую роль в контроле всех видов гомеостатических процессов, регулируя адаптивные реакции ткани при воздействии различных повреждающих факторов. Астроглия очень неоднородна в разных отделах мозга, поэтому повреждающие факторы активируют гетерогенные клеточные реакции.

Цель работы – определение иммуногистохимических особенностей экспрессии GFAP в разных отделах мозга в условиях экспериментальной модели сепсиса у крыс.

Материалы и методы. Эксперимент проведён на крысах линии Вистар: контрольная группа включала 5 ложно-оперированных крыс; 20 животным выполнена перевязка и пункция слепой кишки (CLP). Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка GFAP проведено в материале коры, подкоркового белого вещества, гиппокампа, таламуса, хвостатого ядра/скорлупы в срок от 20 до 48 часов после CLP-процедуры.

Результаты. Начиная с 12 часов после CLP-процедуры, у животных начали прогрессировать признаки периорбитальной экссудации, пилорэрекция, гипер-/гипотермия, диарея, социальная изоляция, летаргия и респираторные нарушения. В период с 20 до 38 часа 9 животным на фоне значительного ухудшения состояния проведена эвтаназия (подгруппа CLP-B – погибшие крысы), 11 особей выжили до конца эксперимента, 48 часов (подгруппа CLP-A – выжившие животные). В подгруппе CLP-B в сроке с 20 до 38 часа после процедуры CLP в головном мозге наблюдали достоверное (относительно контроля) регионально-специфическое динамическое увеличение уровня экспрессии GFAP: в коре – на 465 %, подкорковым белом веществе – на 198 %, гиппокампе – на 250 %; с 23 часа – на 18 % в хвостатом ядре/скорлупе. В таламусе достоверное изменение уровня экспрессии GFAP не выявлено. В коре и гиппокампе выживших животных через 48 ч после CLP установлены более высокие значения экспрессии GFAP по сравнению с группой погибших крыс.

Выводы. В условиях экспериментальной САЭ отмечено раннее динамическое повышение реактивности астроглии в коре, гиппокампе, белом веществе и хвостатом ядре/скорлупе головного мозга с наиболее существенным повышением показателей в коре и гиппокампе. Это потенциально указывает на относительно более уязвимые для повреждающих факторов области мозга, а также на места наиболее активного межклеточного взаимодействия при системном воспалении. Более высокие значения экспрессии GFAP в коре и гиппокампе выживших животных к 48 часам эксперимента относительно показателей группы погибших крыс указывают на усиление астроглияльной реактивности в данных областях мозга в этот период на фоне относительно более благоприятного клинического течения заболевания.

Sepsis is one of the most common life-threatening states leading to intensive care units (ICU) admission and patient's death [1]. Sepsis-associated encephalopathy (SAE) – is a complex brain dysfunction on the background of sepsis with the incidence up to 70% of all septic ICU patients [2]. Clinical course of SAE ranges widely from sickness behavior to coma and associated with higher risks of lethal outcome and frequent development of long-term cognitive impairment [3,4].

Pathophysiology of SAE is linked to blood-brain barrier (BBB) breakdown, neuroinflammation, water and neurotransmitter disbalance, glial and neuronal dysfunction and death, meanwhile, these mechanistic components seem to be not universal but rather context-dependent in each case and region-specific for the brain.

Astrocytes, the most numerous cell population inside the central nervous system (CNS), constantly provide wide range of fundamental homeostatic functions inclu-

ding neurotransmitter and water balance, microcirculation, BBB permeability, synaptic function and plasticity etc. [5].

In conditions of SAE, as well as in the whole spectrum of neuropathologies, astrocytes become reactive but in case of loose homeostatic capacity (astrodegeneration with astroglial atrophy and pathological remodeling of astrocytes) might account to the failure of tissue homeostasis leading to diverse severe functional CNS disorders [6]. Astrogliosis combines remodelling of genetic, morphological and functional phenotype of cells leading to their hypertrophy, upregulation of glial fibrillary acidic protein (GFAP), changing in receptors function and secretome modification [7]. GFAP is one of the intermediate filament proteins of mostly matured astrocytes and its increased expression is considered as a key marker of astroglial reactivity and is the most commonly used as a hallmark of reactive astrocytes in both human and animal brain [8]. Animal models and tissue cultures studies provided

evidence of highly beneficial effects of increased GFAP expression during tissue damage in context of various pathologies suggesting protective potential of astroglial reactivity [9], although for many decades and still this mention is highly speculative [10].

The role of reactive astrogliosis and its specificity throughout the brain during SAE is still ambiguous and needs further clarification determining the relevance of presented study. Considering close interaction between neuroglial populations in healthy and diseased brain as well as the results of our previous study showing region-specific diversity of microglial reactivity during experimental SAE, it seems critical to reveal the level of astroglial reactivity in the same brain regions to assess compatibility of glial reactivity.

Aim

To determine immunohistochemical features of GFAP expression in the various regions of the brain in the model of rodent experimental sepsis.

Materials and methods

The study was performed in Wistar rats, 200–300 g (“Biomodelservice”, Kyiv, Ukraine). The animals were kept under standard conditions, with free access to food (standard food for rats, “Biomodelservice”, Kyiv, Ukraine) and water. All experimental procedures were ruled in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18 March 1986; ETS No. 123) and the Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes.

Experimental animals were subjected to the cecal ligation and puncture (CLP) septic model in rodents. Rats were divided into 2 groups: CLP group ($n = 20$) and sham-operated control group ($n = 5$). All further experimental stages were conducted by the way displayed in our previous paper [11]. Within 2 hours after CLP-procedure, rats were routinely observed every 30 min, further every 6 hours up to 48 h-time-point after operation. Starting from the 12th hour the following clinical signs gradually increased in animals as periorbital exudation, piloerection, diarrhea, fever/hypothermia, social isolation, deep lethargy and severe respiratory disorders. During the period of 20–38 h after CLP-procedure, in the main group of animals, 9 rats showed expressed mentioned clinical symptoms and were euthanized (CLP-B – non-survived/lethal), 11 animals survived until 48 hours – end-point of the experiment (CLP-A – survived). Sham-operated control rats (CLP-C) showed no lethal outcomes. Animals from CLP-A and CLP-C groups were sacrificed at 48 hours after CLP-procedure by intraperitoneal overdosing of sodium thiopental.

Transversal sections of the rat brain were fixed in 10 % buffered formalin, conventionally processed and embedded in paraffin. Histopathological analysis of samples was performed using hematoxylin-eosin stained sections. Immunohistochemical (IHC) study was run in accordance with the protocol of the antibody manufacturer using mouse monoclonal anti-GFAP primary antibody

Table 1. The level of GFAP expression in the various regions of the rat brain in different studied groups expressed in the percent of positive labels in standardized field of view of the microscope (S rel. (%)). Data are displayed as median (Me) and lower, upper quartiles (Q1; Q3)

Brain region	CLP-A	CLP-B	CLP-C
Cortex	16.32 (16.06; 17.51)**	14.75 (12.97; 15.36)**	2.61 (2.58; 3.20)
Subcortical white matter	30.47 (26.90; 32.92)*	30.01 (25.32; 30.60)*	10.04 (6.98; 11.27)
Hippocampus	19.44 (18.78; 20.60)**	15.49 (16.94; 18.21)**	4.43 (2.92; 5.04)
Thalamus	4.04 (3.78; 4.58)	3.92 (3.20; 4.46)	3.83 (3.20; 4.42)
Caudate/putamen	8.18 (7.56; 11.17)*	8.09 (6.27; 11.26)*	6.82 (5.66; 7.48)

*: statistically significant differences compared to control values ($P < 0.05$) are marked with an asterisk; †: significant differences between CLP-A and CLP-B groups ($P < 0.05$); **CLP-A**: survived; **CLP-B**: non-survived; **CLP-C**: control.

(clone ASTRO6, Thermo Scientific, USA) and Ultra Vision Quanto Detection system with DAB (Thermo Scientific Inc., USA). The products of the immunohistochemical reaction were evaluated at x200 in the standardized field of view (SFV) of the Scope. A1 “Carl Zeiss” (Germany), Jenoptik Progres Gryphax 60N-C1”1,0x426114 (Germany) photo-camera and Videotest-Morphology 5.2.0.158 (Video Test LLC, RF) program. The level of GFAP protein expression in the tissue section was analyzed as the relative area (S rel., %) of GFAP⁺-stained labels to the total area of an SFV. For the comparative analysis of the noted criterion, such brain regions as sensorimotor cortex, subcortical white matter, thalamic, hippocampal, and caudate nucleus/putamen regions were studied. We analyzed five SFVs of each listed brain region for each rat.

Statistical procedures were performed using Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., license No. JPZ8041382130ARCN10-J) with evaluation of the median (Me) and lower and upper quartiles (Q1; Q3). The comparison of the differences between studied groups was carried out using the Mann–Whitney U-test and Kruskal–Wallis test. The results were considered statistically significant at 95 % ($P < 0.05$).

Results

During conventional light optical histopathological analysis of the samples from different brain regions of all experimental groups, the shape and size of astrocytic bodies and nuclei did not show prominent changes. While immunohistochemical study revealed substantial morphological shifting of astroglia. Comparing different brain regions in control CLP-C sham-operated rats at 48 h of the experiment we noted significant nonequivalence of the GFAP expression with the highest level in the subcortical white matter – 10.04 (6.98; 11.27) % and the lowest one in the cortex – 2.61 (2.58; 3.20) % (Table 1). In control animals the morphology of conditionally intact astrocytes presented region-dependent diversity. Cortical GFAP⁺ astroglia were mostly represented by typical protoplasmic forms with relatively small nucleus and cell body with moderate branching of fine medium length processes forming small extensions in the pericapillary endfeet. GFAP-positive astrocytes of the white matter were characterized by morphology of fibrous forms – had slightly smaller cell body with lesser branching but more thick processes, which as well as cortical forms did not overlap processes of the nearest astrocytes. GFAP⁺

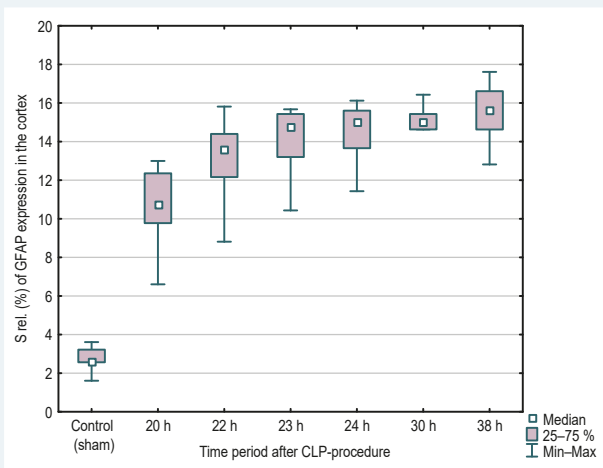


Fig. 1. The dynamics of GFAP⁺ expression after CLP-procedure in the cerebral cortex of animals in the lethal group.

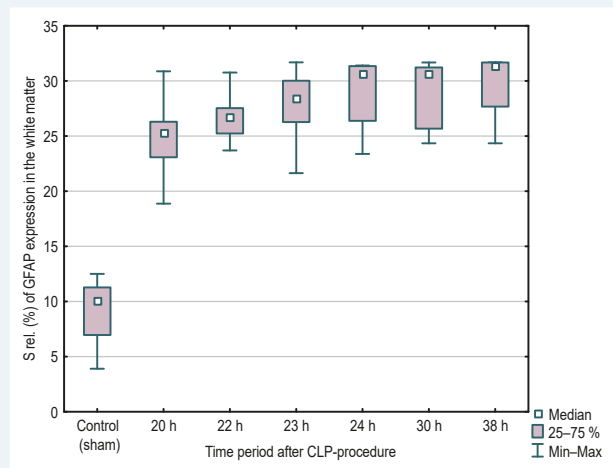


Fig. 2. The dynamics of GFAP⁺ expression after CLP-procedure in the subcortical white matter of animals in the lethal group.

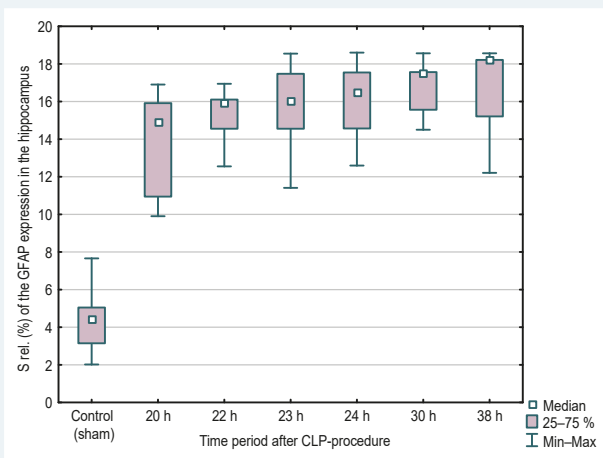


Fig. 3. The dynamics of GFAP⁺ expression after CLP-procedure in the hippocampus of animals in the lethal group.

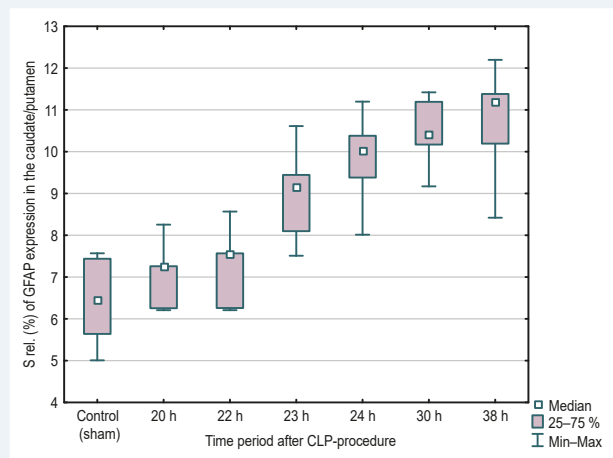


Fig. 4. The dynamics of GFAP⁺ expression after CLP-procedure in the caudate nucleus/putamen of animals in the lethal group.

astrocytic pool of the hippocampus, thalamus and caudate nucleus/putamen differed by relative morphological complexity and included the both mentioned morphological phenotypes with the prevalence of the fibrous one. In the vast majority of brain regions of sham-operated rats GFAP⁺ astroglia tended to localize in close contact with the vascular walls, forming a well-defined coupling (Figs. 5, 7, 9, 11).

Experimental CLP-A (survived) and CLP-B (non-survived) groups showed more serious difference both in the GFAP expression degree and in the time period of its increase during the experimental course.

As well as in control animals the highest numerical indicators of GFAP expression in rats after CLP were in subcortical white matter. Thus, in CLP-A group the relative area of GFAP⁺ labels had the highest data among all brain regions and experimental groups, and was equal to 30.47 (26.90; 32.92) %, $P < 0.05$ comparing to control, thereby exceeding control indicators by 3 times (by 203 %). In the CLP-B non-survived rats, elevation of GFAP S rel. (%) also displayed statistical validity and was equal to 30.01 (25.32; 30.60), exceeding control indicators by 198 %. Simultaneously, there was no statistically significant dif-

ference between indicators of CLP-A and CLP-B groups in this region (Table 1).

When comparing the reliable increment of GFAP level in relation to control values, it was found that the lowest one was typical for caudate nucleus/putamen region and was equal to 8.18 (7.56; 11.17), (exceed control indicators by 20 %) and 8.09 (6.27; 11.26), (exceed control indicators by 18 %) for CLP-A and CLP-B groups respectively, with no statistical difference between noted groups (Table 1).

In the hippocampus the reliable increment of the GFAP S rel. (%) comparing to control was even more expressed than in subcortical white matter and was equal to more than 4 times incrementation in the CLP-A group of survivors. Thus, the values of GFAP S rel. (%) in CLP-A and CLP-B groups were respectively: 19.44 (18.78; 20.60), (exceed control indicators by 339 %) and 15.49 (16.94; 18.21), (exceed control indicators by 250 %); (significant at $P < 0.05$ comparing to control and between each other) (Table 1).

The most substantive incrementation of the GFAP expression was noted in the cortex of CLP-A survival animals, where it was equal to more than 6 times compared

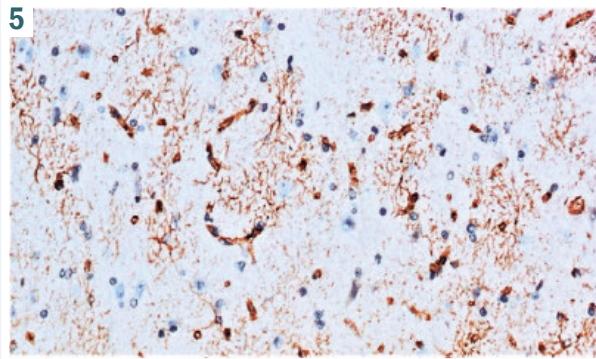


Fig. 5. Cortical expression of GFAP in the control rat 48 h after the sham procedure (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

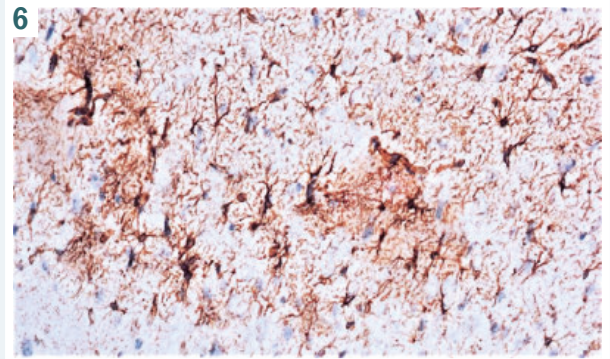


Fig. 6. Cortical expression of GFAP in the survived rat 48 h after the operation (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

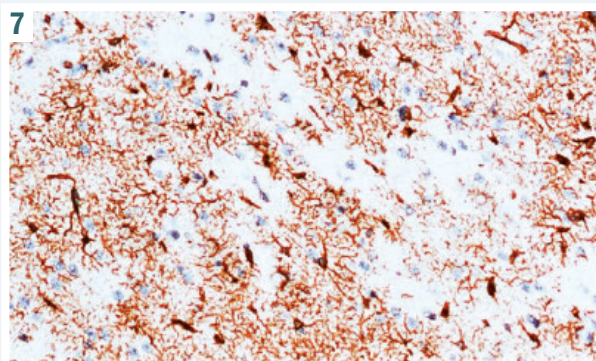


Fig. 7. White matter expression of GFAP in the control rat 48 h after the sham procedure (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

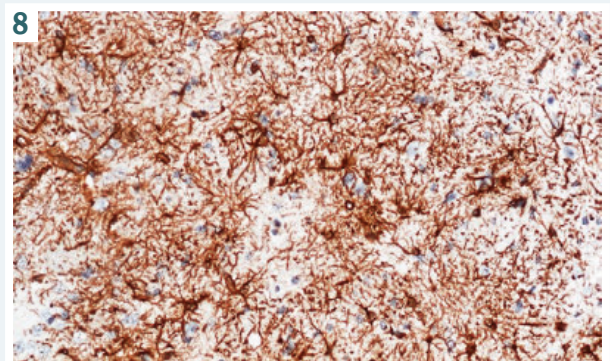


Fig. 8. White matter expression of GFAP in the survived rat 48 h after the operation (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

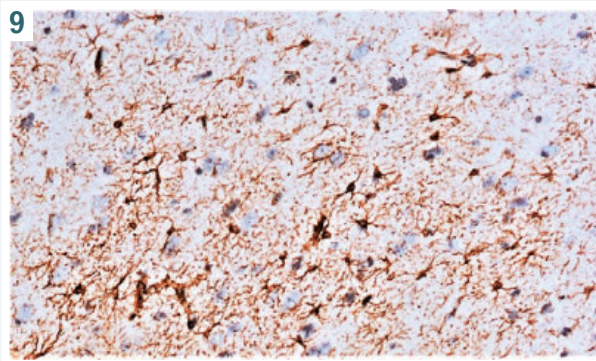


Fig. 9. Hippocampal expression of GFAP in the control rat 48 h after the sham procedure (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA) ×200.

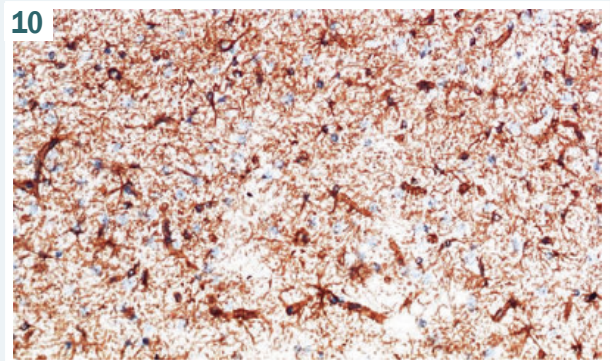


Fig. 10. Hippocampal expression of GFAP in the survived rat 48 h after the operation (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA) ×200.

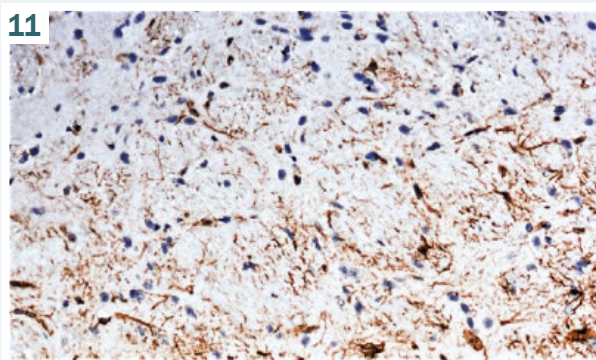


Fig. 11. Caudate nucleus/putamen expression of GFAP in the control rat 48 h after the sham procedure (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

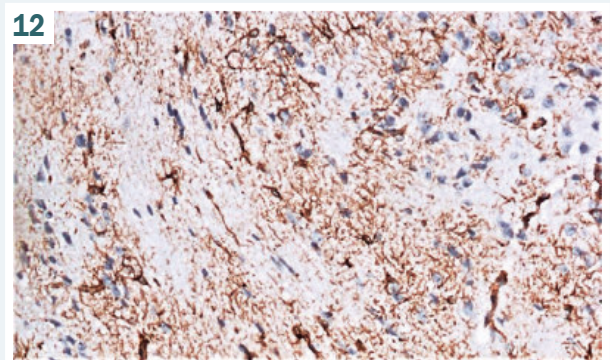


Fig. 12. Caudate nucleus/putamen expression of GFAP in the survived rat 48 h after the operation (anti-GFAP, Thermo Scientific, USA). ×200.

to control. In CLP-A the expression of the marker was substantially higher than in CLP-B group, respectively: 16.32 (16.06; 17.51), (exceeding control indicators by 525 %) and 14.75 (12.97; 15.36), (exceeding control indicators by 465 %); (significant at $P < 0.05$ comparing to control and between CLP-A and CLP-B) (Table 1).

Although the values of GFAP expression were increased comparing to sham-operated rats in the thalamus, the difference between all three groups for this region was not statistically reliable (Table 1).

Summarizing the above, the highest values of GFAP⁺ S rel. (%) in all studied regions were typical for the survived CLP-A animals with the most substantial increase in the cortex and hippocampus (comparing to control rates). The significant difference in values of GFAP expression between operated groups was revealed for the cortical and hippocampal regions with higher medians in survived animals 48 h after procedure compared to the medians of CLP-B indicators across all time-points.

In CLP-B group, during the postoperative period the elevation of GFAP indicators reflected the smooth dynamic curve (Figs. 1–4). Depending on the time period after CLP-procedure when animals of CLP-B group began displaying profound clinical signs of systemic decompensation and was sacrificed, the levels of GFAP expression both displayed specificities. The maximal significant values of the GFAP S rel. (%) was found 38 h after the operation in all the studied regions except thalamic, where increased indicators were not statistically reliable (Figs. 1–4). Unlike the cortical, white matter and hippocampal regions, where significant elevation of the GFAP expression was found at 20 h after CLP-procedure, in caudate nucleus/putamen region it was noted only at 23 h after CLP-procedure.

During histopathological study of ICH sections, the increased numbers of GFAP⁺ cells per SFV were immediately noted. The morphology of GFAP-positive astrocytes differed by appearance of territorial domain overlapping between neighboring cells when their cell bodies lay in close proximity to each other, and their numerous thickened processes crossed with each other, forming a kind of rough fibrous network. Capillary endfeet of such astrocytes thickened, clearly delineating the vascular walls over a large extent. The most expressed mentioned morphological shifting was typical for subcortical white matter and hippocampal regions (Figs. 6, 8, 10, 12).

Discussion

In the healthy mammal brain, a wide array subtypes of astrocytes were recognized according to their developmental lineage, genomics, proteomics, receptor expression, morphology and physiology [8, 12, 13]. Besides protoplasmic and fibrous glia there are other morpho-functional phenotypes as radial glia known as neuronal and glial progenitors during brain development, ependymal glia, perivascular glia, tanocytes, Bergmann cerebellar glia, Müller glia of retina and velate glia [12]. Within the human CNS astroglial population also includes special unique forms as interlaminal astrocytes and the varicose projection astrocytes [12, 14]. Molecular heterogeneity of astroglia seems much complex. Studies have revealed

that the same morphological phenotype can differ by expression of molecules involved in cell function either across different brain regions as well as within the same area. It is supposed that noted proteomic and functional heterogeneity of astroglia may determine the special vulnerability of distinct brain regions to specific inner and outer insults [14]. Regarding special astroglial markers, they were not exclusion. Among the most broadly used molecular markers for astroglial identification including GLT-1 (EAAT2), GLAST (EAAT1), aquaporin-4, S100 β , Aldh1L1, glutamine synthetase, connexins 30 and 43, GFAP takes a leading position. Even physiologically all mentioned markers are not equally expressed by all subpopulations of astrocytes across the brain and display substantial diversity, allowing to assume that mentioned heterogenous phenotypes do not shape the whole extension of suggested diversity and the latter might be greatly specified by the brain region, age, physiological state of the brain and the kind of pathological stimuli.

Due to GFAP molecule has eight different isoforms, there is increased possibility of its diverse expression by different subpopulations of astrocytes [15, 16]. It has been estimated that astrocytic volume is much bigger than their GFAP⁺ profiles display, as their fine processes are mainly GFAP- and although currently GFAP considered as the optimal marker for astroglial detection, it can reveal only up to 15 % of total cell volume in rodent brain [12]. Upregulation of GFAP is a sign of the most reactive astrocytes, however, not all variety, therefore does not decode the function and heterogeneity of the population studied with this marker.

It was evidenced that during aging in rodents the expression of GFAP increased regionally including such areas as basal ganglia, hippocampus and corpus callosum [14] and may vary even across different areas of hippocampus [17]. Results of the recent study have demonstrated the higher GFAP expression in the adult spinal cord compared to the whole brain in health and after focal demyelinating injury [18].

Neuroinflammation is one of the principal processes involved in the pathophysiology of SAE as well as excitotoxicity due to neurotransmitter dysfunction, and ischemic lesions. Astrocytes are considered as critical players of neuroinflammatory CNS response. They involved in engaging and retaining leukocytes at damaged brain regions, produce both anti-inflammatory and proinflammatory cytokines, anti-oxidants, free radicals etc., thus controlling inflammatory response magnitude. In case of systemic inflammatory challenge, astrocytes tend to increase secretion of pro-inflammatory cytokines acquiring neurotoxic properties and persist longer in pro-inflammatory phenotype in relation to microglial counterparts [7].

In our recent study linked to microglial phagocytic activity in the experimental SAE, we have revealed the brain regions where glial reactivity was the most intense in the white matter and caudate/putamen which was suggested as indication of the regions with the most profound tissue damage and active neuroinflammatory response to systemic inflammation [19]. The current study has evidenced that astroglial reactivity generally showed a similar trend in timing and localization of the most active events in comparison to microglial reactions in the same

pathologic conditions. In all studied cases of non-survived CLP-B group of animals there was early (starting from the 20 h) increase in GFAP expression in the sensorimotor cortex, subcortical white matter and hippocampus and in caudate nucleus/putamen region at the 23rd h after CLP-procedure. This results almost completely reflect the behavior of microglia within noted brain regions except only caudate/putamen region where astroglial reactivity was belated compared to microglial one. Thalamic area in both our studies displayed absence of statistically significant increase in GFAP expression which likely may indicate this region or astroglial population of it as the least susceptible to the toxic influence of aggressive factors that arise in the brain medium under conditions of systemic inflammation. The most pronounced enhancement of the GFAP expression compared to control showed cortical and hippocampal regions of survived animals (6-fold and 4-fold, respectively) which potentially indicate the most vulnerable brain regions for incoming systemic aggressive molecules and/or local damaging factors, as well as locations of the most active glia-glia/glia-neuron interactions in response local homeostatic failure. These regions should receive more attention in further studies on SAE pathophysiology as zones of highly up-regulated glial reactivity, which per se might serve as a marker of tissue processes of particular importance in pathogenesis of any kind of brain pathology. The higher values of GFAP expression in the cortex and hippocampus of survived CLP-A animals in respect to CLP-B levels in the same areas may indicate the principal role of reactive astrogliosis in the mechanisms of tissue adaptation in the noted regions to the arisen pathologic condition and may suggest the particular significance of mentioned regions in the mechanisms of SAE.

Conclusions

1. Starting from the 20th hour after CLP-operation (from the 23rd h in caudate nucleus/putamen), the reliable (relative to control) region-specific dynamic increase in GFAP expression was observed in the cortex, subcortical white matter, hippocampus, caudate nucleus/putamen of the rat brain (except the thalamus) and the most substantive increase of indicators in cortex and hippocampus. The latter potentially may indicate the most vulnerable brain regions affected by damaging factors, as well as locations of the most active intercellular communication in response to systemic inflammatory challenge.

2. Higher values of GFAP expression in the cortex and hippocampus of survived animals at 48 hours of the experiment, compared with indicators of non-survived group, indicate increased astroglial reactivity in these brain regions at the noted time period, accompanied by relatively more favorable clinical course of the disease.

Prospects for further research. Given the mechanisms of SAE are still to be elucidated and suggesting special role of glial reactivity in these processes, it would be reasonable to proceed further studies in the field of brain intercellular communication in response to systemic inflammation.

Funding

This study was conducted in the framework of the scientific research work of Zaporizhzhia State Medical University "The morphogenesis of destructive-reparative processes of the brain in the diseases of vascular and toxic-metabolic origin", state registration No. 0118U004253.

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

Надійшла до редакції / Received: 20.09.2021

Після доопрацювання / Revised: 21.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2021

Information about authors:

Shulyatnikova T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-0196-9935](https://orcid.org/0000-0002-0196-9935)

Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Vice-Rector for Research, Zaporizhzhia State Medical University, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-8267-2350](https://orcid.org/0000-0001-8267-2350)

Відомості про авторів:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

Сведения об авторах:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.






Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

References

- [1] Singer, M., Deutschman, C. S., Seymour, C. W., Shankar-Hari, M., Annane, D., Bauer, M., Bellomo, R., Bernard, G. R., Chiche, J. D., Cooper-Smith, C. M., Hotchkiss, R. S., Levy, M. M., Marshall, J. C., Martin, G. S., Opal, S. M., Rubenfeld, G. D., van der Poll, T., Vincent, J. L., & Angus, D. C. (2016). The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, *315*(8), 801-810. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>
- [2] Mazeraud, A., Righy, C., Bouchereau, E., Benghanem, S., Bozza, F. A., & Sharshar, T. (2020). Septic-Associated Encephalopathy: a Comprehensive Review. *Neurotherapeutics*, *17*(2), 392-403. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00862-1>
- [3] Mazeraud, A., Pascal, Q., Verdonk, F., Heming, N., Chrétien, F., & Sharshar, T. (2016). Neuroanatomy and Physiology of Brain Dysfunction in Sepsis. *Clinics in chest medicine*, *37*(2), 333-345. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.01.013>
- [4] Chung, H. Y., Wickel, J., Brunkhorst, F. M., & Geis, C. (2020). Sepsis-Associated Encephalopathy: From Delirium to Dementia? *Journal of clinical medicine*, *9*(3), 703. <https://doi.org/10.3390/jcm9030703>
- [5] Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of astroglia. *Physiological Reviews*, *98*, 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- [6] Zorec, R., Županc, T. A., & Verkhatsky, A. (2019). Astroglipathology in the infectious insults of the brain. *Neuroscience letters*, *689*, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.003>
- [7] Shulyatnikova, T., & Verkhatsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical research*, *45*(1), 83-99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
- [8] Verkhatsky, A., Ho, M. S., Vardjan, N., Zorec, R., & Parpura, V. (2019). General Pathophysiology of Astroglia. *Advances in experimental*

- medicine and biology*, 1175, 149-179. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_7
- [9] Zhang, S., Wu, M., Peng, C., Zhao, G., & Gu, R. (2017). GFAP expression in injured astrocytes in rats. *Experimental and therapeutic medicine*, 14(3), 1905-1908. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4760>
- [10] Zhou, Y., Shao, A., Yao, Y., Tu, S., Deng, Y., & Zhang, J. (2020). Dual roles of astrocytes in plasticity and reconstruction after traumatic brain injury. *Cell Communication And Signaling*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12964-020-00549-2>
- [11] Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Mobilisation and redistribution of multivesicular bodies to the endfeet of reactive astrocytes in acute endogenous toxic encephalopathies. *Brain research*, 1751, 147174. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147174>
- [12] Oberheim, N. A., Goldman, S. A., & Nedergaard, M. (2012). Heterogeneity of astrocytic form and function. *Methods in molecular biology*, 874, 23-45. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-452-0_3
- [13] Batiuk, M. Y., Martirosyan, A., Wahis, J., de Vin, F., Marneffe, C., Kusse-row, C., Koeppen, J., Viana, J. F., Oliveira, J. F., Voet, T., Ponting, C. P., Belgard, T. G., & Holt, M. G. (2020). Identification of region-specific astrocyte subtypes at single cell resolution. *Nature communications*, 11(1), 1220. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14198-8>
- [14] Matias, I., Morgado, J., & Gomes, F. (2019). Astrocyte Heterogeneity: Impact to Brain Aging and Disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 11, 59. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00059>
- [15] Hol, E. M., & Pekny, M. (2015). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Current opinion in cell biology*, 32, 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.004>
- [16] Chai, H., Diaz-Castro, B., Shigetomi, E., Monte, E., Oceau, J. C., Yu, X., Cohn, W., Rajendran, P. S., Vondriska, T. M., Whitelegge, J. P., Coppola, G., & Khakh, B. S. (2017). Neural Circuit-Specialized Astrocytes: Transcriptomic, Proteomic, Morphological, and Functional Evidence. *Neuron*, 95(3), 531-549.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.029>
- [17] Bondi, H., Bortolotto, V., Canonico, P. L., & Grilli, M. (2021). Complex and regional-specific changes in the morphological complexity of GFAP+ astrocytes in middle-aged mice. *Neurobiology of aging*, 100, 59-71. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.12.018>
- [18] Yoon, H., Walters, G., Paulsen, A. R., & Scarisbrick, I. A. (2017). Astrocyte heterogeneity across the brain and spinal cord occurs developmentally, in adulthood and in response to demyelination. *PLoS one*, 12(7), e0180697. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180697>
- [19] Shulyatnikova, T., & Shavrin, V. (2021). Regional-specific activation of phagocytosis in the rat brain in the conditions of sepsis-associated encephalopathy. *Zaporozhye medical journal*, 23(1), 111-119. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224921>

Особливості складу мікробіоти кишечника у хворих на артеріальну гіпертензію з абдомінальним ожирінням

С. М. Коваль *^{A,E,F}, І. О. Снігурська ^{B,C,D}, К. О. Юшко ^{B,C,D}, О. В. Мисниченко ^{B,C,D},
В. Ю. Гальчинська ^B

ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків

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 особливості складу мікробіоти кишечника (МК) у хворих на артеріальну гіпертензію (АГ), яка перебігає на тлі абдомінального ожиріння (АО).

Матеріали та методи. Наведено результати обстеження 70 хворих на АГ 2–3 ступенів (46 пацієнтів з АО, 24 без ожиріння – з нормальною масою тіла (НМТ)). Група контролю включала 20 практично здорових осіб із НМТ. Хворим здійснили детальне клінічне, лабораторне й інструментальне обстеження. Кількісний склад МК визначали методом полімеразної ланцюгової реакції з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією результатів у режимі реального часу з використанням тест-системи «КОЛОНОФЛОР-16 (біоценоз)» («АЛЬФА-ЛАБ»). Статистичний аналіз результатів виконали за допомогою Microsoft Excel 17.0, використали стандартні методи.

Результати. Встановили суттєві зміни складу МК у пацієнтів з АГ, що перебігає на тлі АО, порівняно з практично здоровими особами та хворими на АГ без ожиріння (з НМТ). У групі хворих на АГ з АО виявили вірогідне зменшення кількості *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* і *Akkermansia muciniphila* порівняно з практично здоровими особами. Кількість *Faecalibacterium prausnitzii* і *Akkermansia muciniphila* у цих пацієнтів також вірогідно нижча, ніж у хворих на АГ із НМТ. Співвідношення *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* вірогідно вище, ніж у групі контролю та групі хворих з АГ без ожиріння (з НМТ).

Висновки. Результати дослідження вказують на можливу роль дефіциту таких представників МК, як *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* та підвищення показника співвідношення *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* в патогенезі АГ, що перебігає на тлі АО.

Ключові слова:

мікробіота кишечника, артеріальна гіпертензія, абдомінальне ожиріння.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53).
С. 303-310

*E-mail:

sergekovalmd@gmail.com

The features of the composition of the gut microbiota in patients with hypertension and abdominal obesity

S. M. Koval, I. O. Snihurska, K. O. Yushko, O. V. Mysnychenko, V. Yu. Halchynska

The aim of this work was to study the features of the composition of the gut microbiota (GM) in patients with arterial hypertension (AH), which occurs against the background of abdominal obesity (AO).

Materials and methods. The paper presents the data on examination of 70 patients with AH of 2–3 degrees (46 patients with AO and 24 patients without obesity – with normal body weight (NBW)). The control group included 20 apparently healthy individuals with NBW. The patients underwent detailed standard clinical, laboratory and instrumental examination. Determination of the quantitative composition of GM was carried out by the method of polymerase chain reaction with hybridization-fluorescence detection of results in real time using the test system “COLONOFLO-16 (biocenosis)” (“ALFA-LAB”). In this work, a statistical analysis of the obtained data was carried out using standard methods and Microsoft Excel 17.0.

Results. A significant change in the composition of GM were found in patients with AH, which proceeds against the background of AO, in comparison with apparently healthy individuals and with patients with AH without obesity (with NBW). In the group of AH patients with the presence of AO, significant decrease in the number of *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* and *Akkermansia muciniphila* was found in comparison with apparently healthy individuals. The number of *Faecalibacterium prausnitzii* and *Akkermansia muciniphila* in these patients was also significantly lower than in hypertensive patients with NBW. At the same time, the ratio of *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* was significantly higher than in the control group and the group of hypertensive patients without obesity – with NBW.

Conclusions. The results of the study indicate a possible role for the deficiency of such representatives of GM as *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* and *Akkermansia muciniphila* and an increase in the ratio of *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* in the pathogenesis of AH, which occurs against the background of AO.

Key words:

gut microbiota, arterial hypertension, abdominal obesity.

Pathologia

2021; 18 (3), 303-310

Особенности состава микробиоты кишечника у больных артериальной гипертензией с абдоминальным ожирением

С. Н. Коваль, И. А. Снегурская, К. А. Юшко, О. В. Мысниченко, В. Ю. Гальчинская

Цель работы – изучить особенности состава микробиоты кишечника (МК) у больных артериальной гипертензией (АГ), которая протекает на фоне абдоминального ожирения (АО).

Ключевые слова:

микробиота кишечника, артериальная гипертензия, абдоминальное ожирение.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 303-310

Материалы и методы. Представлены данные обследования 70 больных АГ 2–3 степени (46 пациентов с наличием АО, 24 без ожирения – с нормальной массой тела (НМТ)). Группа контроля включала 20 практически здоровых лиц с НМТ. Больным проведено детальное клиническое, лабораторное и инструментальное обследование. Количественный состав МК определяли методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени с использованием тест-системы «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)» («АЛЬФА-ЛАБ»). Статистический анализ результатов выполнили с помощью Microsoft Excel 17.0, использовали стандартные методы.

Результаты. Установлены существенные изменения состава МК у больных АГ, которая протекает на фоне АО, в сравнении с практически здоровыми лицами и с пациентами с АГ без ожирения (с НМТ).

В группе больных АГ с наличием АО установлено достоверное снижение количества *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* в сравнении с практически здоровыми лицами. Количество *Faecalibacterium prausnitzii* и *Akkermansia muciniphila* у этих пациентов также достоверно ниже, чем у больных АГ с НМТ. Соотношение *Bacteroides fragilis*/*Faecalibacterium prausnitzii* достоверно выше, чем в группе контроля и в группе больных АГ без ожирения (с НМТ).

Выводы. Результаты исследования указывают на возможную роль дефицита таких представителей МК, как *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* и повышения показателя соотношения *Bacteroides fragilis*/*Faecalibacterium prausnitzii* в патогенезе АГ, которая протекает на фоне АО.

Вивченню артеріальної гіпертензії (АГ) у хворих з ожирінням, передусім абдоминальним, приділяють чималу увагу [1,2]. Як показують дослідження, АГ здебільшого перебігає на тлі абдоминального ожиріння (АО), і це значно частіше призводить до розвитку тяжких серцево-судинних і ниркових ускладнень, передчасної втрати працездатності та смертності населення [2,3].

АГ та АО мають низку спільних патогенетичних механізмів, що спричиняють їхнє прогресування та прискорення розвитку тяжких ускладнень АГ [3,4]. Такими механізмами нині вважають активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової та симпато-адреналової систем, гіперінсулінемію, інсулінорезистентність (ІР), підвищення реабсорбції натрію нирками, затримку рідини та збільшення об'єму циркулюючої плазми [3,5,6]. За умов коморбідного перебігу гіпертензії та ожиріння у хворих набагато раніше формується комплекс метаболічних порушень, який призводить до раннього розвитку атерогенних уражень, ішемічної хвороби серця, серцевої недостатності (СН), хронічної хвороби нирок (ХХН) [3,4,7].

Отже, вкрай необхідне поглиблене вивчення патогенетичних ланок АГ у хворих з ожирінням для розроблення нових підходів до лікування, профілактики цих захворювань.

В останнє десятиріччя актуальними є дослідження ролі мікробиоти кишечника (МК) у патогенезі серцево-судинних і метаболічних захворювань, як-от АГ та ожиріння [8,9].

Так, опубліковано відомості про певні відмінності кількісного та якісного складу МК у хворих на АГ і пацієнтів з ожирінням [10–12], про участь окремих компонентів МК у складних процесах регуляції артеріального тиску (АТ) та маси тіла [13–15], в розвитку первинної АГ та АО [9,12]. Однак нині немає єдиного погляду на те, які саме бактерії асоціюються з розвитком гіпертензії в пацієнтів з АО.

Мета роботи

Вивчити особливості складу МК у хворих на АГ, що перебігає на тлі АО.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 70 хворих на АГ, яка перебігала в межах 2–3 ступеня та II стадії: 45 чоловіків і 25 жінок віком 40–65 років. Обстеження здійснили у відділенні гіпертензії та захворювань нирок ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України».

Критерії залучення в дослідження – наявність письмової згоди хворого на участь, вік 40–65 років, діагностована АГ 2–3 ступеня (II стадії) на тлі АО або нормальної маси тіла (НМТ).

У дослідження не залучали хворих на вторинну АГ, стабільну стенокардію вище ніж II функціональний клас (ФК), пацієнтів із гострим коронарним синдромом та інфарктом міокарда в анамнезі, з фібриляцією передсердь, СН II–IV ФК (за NYHA), вадами серця (вродженними або набутими), цукровим діабетом (ЦД) та іншими ендокринними захворюваннями, ХХН вище ніж III стадія, осіб із тяжкими коморбідними захворюваннями (онкологічними, бронхолегеневими, шлунково-кишковими; захворюваннями печінки), а також хворих, котрі в останні 3 місяці отримували антибактеріальні препарати.

Пацієнтам здійснили детальне клінічне, лабораторне й інструментальне обстеження для діагностики ступеня тяжкості АГ та АО, визначення ризику ускладнень за рекомендаціями Європейського товариства кардіологів і Європейського товариства гіпертензії [2]. Діагностику ожиріння здійснювали згідно з рекомендаціями ВООЗ [16], враховуючи названі рекомендації Європейського товариства кардіологів, Європейського товариства гіпертензії щодо визначення абдоминального типу ожиріння: показник обводу талії ≥ 102 см для чоловіків і ≥ 88 см для жінок [2].

Молекулярно-генетичні дослідження здійснили в лабораторії імунобіохімічних і молекулярно-генетичних досліджень (свідectво про відповідність системи вимірювань вимогам ДСТУ ISO 10012:2005 № 01-0175/2018, чинне до 21.12.2021 р.).

Для дослідження МК свіжозібрані у стерильні контейнери зразки калу заморожували та зберігали до екстракції за температури -20 °С. ДНК екстрагували з 400 мг калу з використанням набору реактивів «Ribo-prep nucleic acid extraction kit» (AmpliSens, РФ) згідно з інструкцією виробника.

Кількісний склад МК визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із гібридизаційно-флуоресцентною детекцією результатів у режимі реального часу з використанням тест-системи «КОЛОНОФЛОР-16 (біоценоз)» виробництва «АЛЬФА-ЛАБ» (РФ) згідно з інструкцією. ПЛР виконали за допомогою системи детекції продуктів ПЛР у режимі реального часу – CFX96 Touch (Bio-Rad) (№ СТ 014010, 785 BR11304). Дослідження складу мікробної флори у фекальних зразках передбачало 2 етапи: 1) екстракція ДНК; 2) ампліфікація специфічних ділянок ДНК методом ПЛР із гібридизаційно-флуоресцентною детекцією продуктів ампліфікації в режимі реального часу. Для реакції використовували специфічні олігонуклеотидні праймери та мічені олігонуклеотидні зонди Taqman.

Результати проаналізували, використавши файл для кількісного опрацювання даних, що входить до складу набору (KolonoFlor_17_10.exe). Розрахунок для кожного показника виконали, застосувавши формулу, що описує залежність величини порогового циклу (Ct) від вихідної концентрації фрагмента ДНК. Перерахунок значень порогового циклу (Ct) у кількість копій на 1 мл здійснили на основі методу Пфаффла з поправкою на ефективність ампліфікації. Одержані значення (копій/мл) перераховували в колонієутворювальні одиниці/мл (КУО/мл), враховували копійність гена.

Перелік показників МК та їхні референтні значення наведені в інструкції до тест-системи «КОЛОНОФЛОР-16 (біоценоз)», галузь її застосування – клінічна лабораторна діагностика, наукові дослідження (табл. 1).

Оскільки отримані значення наведені як 10^x , де X – ступінь, то для статистичного аналізу результати перерахували в десяткові логарифми – \lg /КУО/мл.

Пацієнтів поділили на 2 групи залежно від наявності АО: основна – 46 хворих на АГ з АО; група порівняння – 24 особи з АГ та НМТ. Контрольна група – 20 практично здорових осіб із НМТ, в яких не діагностували АГ та інші хронічні захворювання.

Клінічна характеристика груп хворих наведена в попередній статті, де розглядали зміни філотипів МК [10]. Хворі на АГ з АО та з НМТ зіставні за статтю, віком і тривалістю гіпертензії ($p > 0,05$), але у групі пацієнтів з АГ, що перебігала на тлі АО, рівні систолічного АТ, показники глюкози крові натще, індекс інсулінорезистентності (IP) – НОМА-індекс, а також рівні загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів низької щільності та тригліцеридів вірогідно ($p < 0,05$) перевищували такі у хворих на АГ без ожиріння (з НМТ) [10].

Виконали статистичний аналіз результатів, використавши стандартні методи, за допомогою Microsoft Excel 17.0. Характер розподілу за вибірковими даними визначили, застосувавши тести Шапіро–Вілка та Колмогорова–Смирнова. Оскільки розподіл даних відрізнявся від нормального, результати наведено як медіану (Me) та інтерквартильний розмах (25 і 75 процентиля). Вірогідність відмінностей для незв'язаних вибірок із розподілом даних, що відрізнявся від нормального, визначали за допомогою U-критерію Манна–Вітні. Для всіх перевірених у роботі статистичних гіпотез як критичний рівень значущості взяли $p < 0,05$. Для встановлення взаємозв'язків кількісних ознак

Таблиця 1. Спектр показників МК, що досліджували, та їхні референтні значення

№	Показники	Референтні значення
1	Загальна бактеріальна маса, КУО/мл	10^{11} – 10^{13}
2	<i>Lactobacillus spp.</i> , КУО/мл	10^7 – 10^8
3	<i>Bifidobacterium spp.</i> , КУО/мл	10^9 – 10^{10}
4	<i>Escherichia coli</i> , КУО/мл	10^6 – 10^8
5	<i>Bacteroides fragilis group</i> , КУО/мл	10^9 – 10^{12}
6	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , КУО/мл	10^8 – 10^{11}
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
8	<i>Klebsiella oxytoca</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
9	<i>Candida spp.</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
10	<i>Staphylococcus aureus</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
11	<i>Escherichia coli enteropathogenic</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
12	<i>Enterococcus spp.</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
13	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , КУО/мл	Допустима будь-яка кількість
14	<i>Clostridium difficile</i> , КУО/мл	Відсутній
15	<i>Clostridium perfringens</i> , КУО/мл	Відсутній
16	<i>Proteus spp.</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
17	<i>Enterobacter spp./Citrobacter spp.</i> , КУО/мл	Не більше ніж 10^4
18	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , КУО/мл	Відсутній
19	<i>Parvimonas micra</i> , КУО/мл	Відсутній
20	<i>Salmonella spp.</i> , КУО/мл	Відсутній
21	<i>Shigella spp.</i> , КУО/мл	Відсутній
22	<i>Akkermansia muciniphila</i> , КУО/мл	Допустима будь-яка кількість до 10^{11}
23	Відношення <i>Bacteroides fragilis group/Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,01–100

застосували кореляційний аналіз із використанням рангового коефіцієнта кореляції Спірмена (R).

Результати

Дослідження кількісного складу МК у групах хворих на АГ з АО та АГ із НМТ здійснили у два етапи. На першому етапі порівняли кількість представників МК у пацієнтів із груп дослідження та практично здорових осіб контрольної групи з референтними значеннями.

У результаті аналізу особливостей кількісного складу МК у групах хворих на АГ з АО та без ожиріння (з НМТ), порівнюючи з референтними значеннями, виявили зміни низки показників МК: підвищення загальної бактеріальної маси (у 24 % хворих на АГ з АО й 17 % пацієнтів з АГ і НМТ), зменшення кількості *Lactobacillus spp.* (у 100 % обстежених з АГ та АО, НМТ) і *Bifidobacterium spp.* (у 100 % хворих на АГ з АО та 83 % пацієнтів з АГ і НМТ), зменшення кількості *Escherichia coli* (у 13 % хворих на АГ з АО, 17 % пацієнтів з АГ і НМТ), збільшення кількості *Bacteroides fragilis group* (у 18 % осіб з АГ й АО та 17 % хворих на АГ з НМТ), зниження кількості *Faecalibacterium prausnitzii* (у 41 % пацієнтів з АГ та АО, 42 % обстежених з АГ і НМТ), а також підвищення співвідношення *Bacteroides fragilis group/Faecalibacterium prausnitzii* (у 59 % хворих на АГ з АО, 8 % пацієнтів з АГ і НМТ).

У деяких хворих виявили *Staphylococcus aureus* у кількості 10^5 КУО/мл (2 % пацієнтів з АГ та АО), *Clostridium perfringens* і *Parvimonas micra* (4 % обстежених з АГ та АО).

Кількість *Enterobacter spp./Citrobacter spp.* у переважної більшості хворих (у 76 % осіб з АГ та АО, 83 % пацієнтів з АГ і НМТ) відповідала референтним значенням, тільки у 24 % хворих на АГ з АО та 17 %

Таблиця 2. Особливості кількісних зміни показників МК у групах хворих на АГ з АО, пацієнтів з АГ без ожиріння (з НМТ), осіб контрольної групи, Ме [25 %; 75 %]

Показники, одиниці вимірювання	Хворі на АГ з АО, n = 46	Хворі на АГ із НМТ, n = 24	Група контролю, n = 20
Загальна бактеріальна маса, Іг/КУО/мл	10,95 [10,30; 11,70]	11,30 [10,30; 11,78]	11,10 [10,45; 11,60]
<i>Lactobacillus spp.</i> , Іг/КУО/мл	4,73 [4,70; 4,85]*	4,70 [4,48; 4,76]*	7,74 [7,39; 7,90]
<i>Bifidobacterium spp.</i> , Іг/КУО/мл	7,48 [7,30; 7,95]*	7,95 [7,48; 8,45]*	9,65 [9,39; 9,74]
<i>Escherichia coli</i> , Іг/КУО/мл	6,38 [5,68; 6,98]	6,60 [5,78; 7,30]	7,87 [7,81; 7,95]
<i>Bacteroides fragilis group</i> , Іг/КУО/мл	10,70 [10,00; 11,48]	10,00 [8,89; 10,90]	10,85 [9,90; 11,30]
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , Іг/КУО/мл	7,48 [5,90; 9,00]*#	9,00 [7,48; 9,48]*	10,40 [9,90; 10,78]
<i>Akkermansia muciniphila</i> , Іг/КУО/мл	4,48 [4,00; 4,85]*#	8,54 [7,34; 10,10]	9,30 [6,75; 10,90]
Відношення <i>Bacteroides fragilis group</i> / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	300,00 [33,30; 667,00]*#	82,50 [25,00; 100,00]	25,00 [17,50; 82,50]

*: різниця вірогідна щодо групи контролю, $p < 0,05$; #: різниця вірогідна щодо групи порівняння, $p < 0,05$.

обстежених з АГ і НМТ перевищувала такі. *Bacteroides thetaiotaomicron*, для якої референтною нормою вважають будь-яку кількість, не виявлено в 52 % хворих на АГ з АО та 83 % пацієнтів з АГ і НМТ.

В основній групі та групі порівняння не визначили *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium difficile*, *Fusobacterium nucleatum*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*

Референтним значенням відповідала кількість таких представників МК: *Candida spp.*, *Escherichia coli enteropathogenic*, *Proteus spp.*, *Akkermansia muciniphila*.

Щодо такого представника МК, як *Akkermansia muciniphila* зазначимо: формальна норма виявлення цієї бактерії, за даними виробника, – будь-яка кількість, але не більше ніж 10^{11} КУО/мл, але у фаховій літературі норма для цього представника МК не визначена [12].

Порівнюючи кількісний склад МК в осіб контрольної групи з референтними значеннями, встановили незначущі відхилення (в межах 5–10 %), що стосувалися тільки кількості загальної бактеріальної маси, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Escherichia coli* та *Bacteroides thetaiotaomicron*.

Інші показники МК у практично здорових осіб контрольної групи не виявляли або відповідали референтним значенням. Показники МК, що не виявили: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* Показники МК, що відповідали референтним значенням: *Bacteroides fragilis group*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Candida spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli enteropathogenic*, *Clostridium perfringens*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp./Citrobacter spp.*, *Akkermansia muciniphila*, а також співвідношення *Bacteroides fragilis group*/*Faecalibacterium prausnitzii*.

Отже, показники хворих на АГ з АО та з НМТ за низкою представників МК суттєво відрізнялись від референтних значень складу МК, які рекомендовані виробником. Відхилення показників МК в осіб контрольної групи від референтних значень було мінімальним.

Наступний етап дослідження – порівняння кількості виявлених представників МК у хворих на АГ з АО та з НМТ з відповідними показниками практично здорових осіб контрольної групи.

Враховуючи, що низку показників МК не виявили ні у хворих на АГ з АО, ні в пацієнтів з АГ і НМТ та

в осіб контрольної групи або визначили тільки в поодиноких випадках, для наступного порівняльного аналізу особливостей кількісного складу МК у групах дослідження та контрольній групі обрали тільки ті показники МК, що виявляли в достатній кількості: загальна бактеріальна маса, кількість *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis group*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* та співвідношення *Bacteroides fragilis group*/*Faecalibacterium prausnitzii*. Результати порівняння кількісних змін цих показників МК у хворих на АГ з АО, пацієнтів з АГ і НМТ, осіб контрольної групи наведені в таблиці 2.

У результаті аналізу встановили вірогідне зменшення кількості *Lactobacillus spp.* ($p < 0,05$) та *Bifidobacterium spp.* ($p < 0,05$) у хворих на АГ з АО, та пацієнтів з АГ і НМТ порівняно з групою контролю. Але не виявили вірогідну різницю за кількістю цих бактерій між групами хворих на АГ та АО, АГ і НМТ ($p > 0,05$).

Кількість *Faecalibacterium prausnitzii* також вірогідно менша у хворих на АГ з АО ($p < 0,05$) та з НМТ ($p < 0,05$), ніж у групі контролю. У групі пацієнтів з АГ та АО визначили більш виражене зменшення кількості *Faecalibacterium prausnitzii* порівняно з таким у групі хворих на АГ із НМТ ($p < 0,05$).

Кількість *Akkermansia muciniphila* у хворих на АГ із НМТ не відрізнялася від такої у групі контролю ($p > 0,05$), але в пацієнтів з АГ та АО виявили вірогідне зменшення кількості *Akkermansia muciniphila* порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0,05$) та хворих на АГ із НМТ ($p < 0,05$).

Виявили також, що показник співвідношення *Bacteroides fragilis group*/*Faecalibacterium prausnitzii* у групі хворих на АГ без ожиріння (з НМТ) не відрізнявся від такого у групі контролю ($p > 0,05$). У групі хворих на АГ у поєднанні з АО співвідношення *Bacteroides fragilis group*/*Faecalibacterium prausnitzii* вірогідно вище порівняно і з групою контролю ($p < 0,05$), і з групою пацієнтів з АГ без ожиріння (з НМТ) ($p < 0,05$).

Загальна бактеріальна маса, кількість *Escherichia coli* та *Bacteroides fragilis group* у групах хворих на АГ з АО та з НМТ вірогідно відрізнялися від таких у групі практично здорових осіб ($p > 0,05$).

У результаті кореляційного аналізу встановили: в загальній групі хворих на АГ (пацієнти з АГ та АО, АГ і НМТ) кількість *Faecalibacterium prausnitzii* вірогідно зворотно корелювала з ІМТ ($R = -0,43$, $p < 0,05$). Виявили вірогідні зворотні кореляції між кількістю *Akkermansia muciniphila* та ІМТ ($R = -0,47$, $p < 0,05$),

рівнем систолічного АТ ($R = -0,41, p < 0,05$) і рівнем тригліцеридів крові ($R = -0,43, p < 0,05$). Інші вірогідні кореляційні взаємозв'язки представників МК із факторами кардіоваскулярного ризику в обстежених загальної групи, а також у групах хворих на АГ з АО, АГ із НМТ не встановили ($p > 0,05$).

Обговорення

Результати дослідження викликають чималий науковий інтерес. Так, виявлене у хворих на АГ з АО, АГ без ожиріння (з НМТ) вірогідне зменшення кількості *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* порівняно і з групою контролю, і з референтними значеннями є проявом негативних змін МК загалом і може відігравати певну роль у розвитку гіпертензії та ожиріння.

Це припущення базується на даних наукової літератури, що свідчать: *Lactobacillus spp.* мають важливе значення для підтримання нормального складу МК і запобігають розвитку патогенної флори шляхом вироблення лактату і збереження кислого середовища товстого кишечника [8,12,17]; *Bifidobacterium spp.* поліпшують бар'єрну функцію кишечника та запобігають потраплянню ліпополісахаридів (ендотоксинів) у кров'яне русло [18]. Ба більше, у нещодавньому метааналізі показано: вживання *Lactobacillus* у формі капсул призводить до зниження АТ у хворих на ЦД 2 типу та в осіб із пограничною гіпертензією [19].

В аспекті патогенезу АГ привертають увагу дані про вірогідне зменшення у хворих на АГ із НМТ кількості *Faecalibacterium prausnitzii* порівняно з групою контролю та референтними значеннями. Дефіцит *Faecalibacterium prausnitzii* посилюється у хворих на АГ, що поєднана АО, вірогідно зворотно корелює з ІМТ. Цей дефіцит може відігравати важливу патогенетичну роль у розвитку та прогресуванні АГ, особливо в пацієнтів з АО, в яких він найбільш виражений.

Faecalibacterium prausnitzii – одні з основних компонентів МК, продукують у товстій кишці людини коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК), як-от бутират, що відіграють важливу кардіо- та васкулопротекторну роль [8,9,20]. В експерименті показано, що КЛЖК шляхом зв'язування з рецепторами GPR41, що розташовані на ендотелії, призводять до зниження АТ у мишей, а у тварин, які позбавлені цих рецепторів, розвивається АГ [14]. КЛЖК бутират чинить також протизапальний ефект, додатково сприяючи зниженню АТ [8]. Завдяки здатності проникати через гематоенцефалічний бар'єр бутират може також впливати на центральні механізми регуляції АТ, що підтверджено в експерименті [21]. У спонтанно гіпертензивних щурів показано зниження рівня бутирату у крові та зменшення кількості бутират-чутливих рецепторів у гіпоталамусі [22]. Позитивний вплив бутирату на рівні АТ спостерігали й у людей – у вагітних з ожирінням. Зниження бутират-продукувальних мікроорганізмів і, відповідно, зниження рівня бутирату в цих пацієнток асоціювалося з підвищенням АТ [23].

Важливу роль у розвитку АО і АГ саме в пацієнтів з АО може відігравати вірогідне зменшення кількості *Akkermansia muciniphila*, що виявили в дослідженні у хворих на АГ з АО порівняно з групою контролю та обстеженими з АГ і НМТ. У групі хворих на АГ без

ожиріння (з НМТ) кількість *Akkermansia muciniphila* вірогідно не відрізнялася від показника групи контролю. За даними фахової літератури, *Akkermansia muciniphila* розщеплює муцин, бере участь у регуляції вуглеводного та жирового обмінів, характеризується протизапальною та антиатерогенною діями, сприяє зниженню ІР, загального холестерину, тригліцеридів і маси тіла [24,25]. Визначили зв'язок між зменшенням кількості *Akkermansia muciniphila* у складі МК осіб з ожирінням, високим рівнем тригліцеридів у крові, ЦД 2 типу та АГ [25–27]. Результати кореляційного аналізу в нашому дослідженні підтверджують асоціацію зниження кількості *Akkermansia muciniphila* з вираженістю ожиріння, гіпертригліцеридемії та підвищенням рівня систолічного АТ.

Маркером дисбіозу й анаеробного дисбалансу кишечника прозапального типу може бути підвищення співвідношення *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* [9,12,28]. Вірогідне підвищення названого показника в пацієнтів з АГ в поєднанні з АО, що встановили в нашому дослідженні, вказує на наявність анаеробного дисбалансу МК у цих обстежених, на відміну від групи контролю та пацієнтів із НМТ; це може спричиняти активацію субклінічного запалення та робити внесок у патогенез АГ та АО.

Отже, результати дослідження вказують на можливу роль нестачі окремих представників МК, як-от *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii* та *Akkermansia muciniphila*, а також підвищення показника співвідношення *Bacteroides fragilis/Faecalibacterium prausnitzii* в механізмах патогенезу АГ, особливо в разі її перебігу на тлі АО.

Висновки

1. У хворих на АГ (незалежно від наявності АО) порівняно з практично здоровими особами виявили вірогідне зниження кількості *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, що відіграють важливу роль у підтриманні нормального складу МК, поліпшенні бар'єрної функції кишечника та протидії розвитку патогенної мікрофлори.

2. Встановили вірогідне зниження у хворих на АГ, особливо за наявності АО, кількості *Faecalibacterium prausnitzii* порівняно з практично здоровими особами. Це може бути причиною дефіциту КЛЖК, зокрема бутирату, що чинить суттєві кардіо-васкулопротективні та антигіпертензивні ефекти.

3. У хворих на АГ з АО виявили вірогідне зменшення кількості *Akkermansia muciniphila* порівняно з групою контролю та пацієнтами з АГ і НМТ. Асоціації між зменшенням кількості *Akkermansia muciniphila* й посиленням вираженості ожиріння, гіпертригліцеридемії та підвищенням рівня систолічного АТ, виявлені в дослідженні, свідчать про можливе важливе значення дефіциту *Akkermansia muciniphila* в патогенезі ожиріння та гіпертензії.

4. Вірогідне підвищення співвідношення *Bacteroides fragilis group/Faecalibacterium prausnitzii* у групі хворих на АГ та АО порівняно з групою контролю та пацієнтами з АГ і НМТ свідчить про наявність в обстежених з ожирінням анаеробного дисбалансу МК,

який призводить до активації субклінічного запалення, зумовлює розвиток і прогресування АГ, АО.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є продовження детального дослідження особливостей змін МК у хворих на АГ із порушеннями вуглеводного та пуринового обмінів, а також із різними ступенями вираженості уражень органів-мішеней; це дасть змогу розробити нові підходи до лікування АГ і профілактики розвитку її ускладнень.

Фінансування

Дослідження здійснене у рамках НДР ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України»: «Розробити методи оптимізації лікування хворих на артеріальну гіпертензію з ожирінням на підставі вивчення гуморальних і епігенетичних факторів та параметрів мікробиоти кишечника», № держреєстрації 0120U000070.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 12.07.2021

Після доопрацювання / Revised: 06.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 21.10.2021

Відомості про авторів:

Коваль С. М., д-р мед. наук, професор, зав. відділу артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-8699-2324](https://orcid.org/0000-0002-8699-2324)

Снігурська І. О., канд. мед. наук, старший науковий співробітник, відділ артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-9273-8907](https://orcid.org/0000-0001-9273-8907)

Юшко К. О., канд. мед. наук, науковий співробітник, відділ артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-9186-4784](https://orcid.org/0000-0001-9186-4784)

Мисниченко О. В., канд. мед. наук, науковий співробітник, відділ артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-7577-2545](https://orcid.org/0000-0002-7577-2545)

Гальчинська В. Ю., канд. біол. наук, зав. лабораторії імунобіохімічних і молекулярно-генетичних досліджень, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-0024-131X](https://orcid.org/0000-0002-0024-131X)

Information about authors:

Koval S. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Arterial Hypertension and Prevention of Its Complications, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Snihurska I. O., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Arterial Hypertension and Prevention of Its Complications, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Yushko K. O., MD, PhD, Researcher of the Department of Arterial Hypertension and Prevention of Its Complications, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Mysnychenko O. V., MD, PhD, Researcher of the Department of Hypertension and Prevention of Its Complications, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Halchynska V. U., PhD in Biology, Head of Laboratory of Immuno-Biochemical and Molecular Genetic Research, GI "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Сведения об авторах:

Коваль С. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. отделом артериальной гипертензии и профилактики ее осложнений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малої НАМН Украины», г. Харьков.

Снегурская И. А., канд. мед. наук, старший научный сотрудник, отдел артериальной гипертензии и профилактики ее осложнений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малої НАМН Украины», г. Харьков.

Юшко К. А., канд. мед. наук, научный сотрудник, отдел артериальной гипертензии и профилактики ее осложнений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малої НАМН Украины», г. Харьков.

Мисниченко О. В., канд. мед. наук, научный сотрудник, отдел артериальной гипертензии и профилактики ее осложнений, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малої НАМН Украины», г. Харьков.

Гальчинская В. Ю., канд. биол. наук, зав. лабораторией иммунобиохимических и молекулярно-генетических исследований, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малої НАМН Украины», г. Харьков.

Список літератури

- Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years / A. Afshin, M. H. Forouzanfar, M. B. Reitsma et al. *The New England Journal of Medicine*. 2017. Vol. 377, Iss. 1. P. 13-27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614362>
- 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension / B. Williams, G. Mancia, W. Spiering et al. *European Heart Journal*. 2018. Vol. 39, Iss. 33. P. 3021-3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- Shariq O. A., McKenzie T. J. Obesity-related hypertension: a review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery. *Gland surgery*. 2020. Vol. 9, Iss. 1. P. 80-93. <https://doi.org/10.21037/gs.2019.12.03>
- Мустафаева А. Г. Механизмы развития артериальной гипертензии у лиц молодого возраста с избыточным весом. *Проблемы эндокринологии*. 2019. Т. 65. № 3. С. 191-196. <https://doi.org/10.14341/probl9651>
- The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance / L. Ramalingam, K. Menikdiwela, M. LeMieux et al. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*. 2017. Vol. 1863, Iss. 5. P. 1106-1114. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2016.07.019>
- The association of T344C single nucleotide polymorphism of aldosterone synthase gene CYP11B2 (RS179998) with clinical, hemodynamic and metabolic features of patients with arterial hypertension and abdominal obesity / S. Koval, D. K. Miloslavsky, I. A. Snegurska et al. *Проблеми ендокринної патології*. 2020. № 2. С. 44-50. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2020.2.05>
- Prognosis of essential hypertension progression in patients with abdominal obesity / S. M. Koval, I. O. Snihurska, O. Vysotska et al. *Information Technology in Medical Diagnostics II* / eds.: W. Wójcik, S. Pavlov, M. Kalimoldayev. London: Taylor & Francis Group, 2019. P. 275-288. <https://doi.org/10.1201/9780429057618-32>
- Лизогуб В. Г., Крамарьова В. Н., Мельничук І. О. Роль змін мікробиоти кишківника в патогенезі серцево-судинних захворювань (огляд літератури). *Запорозький медичний журнал*. 2019. Т. 21, № 5. С. 672-678. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.5.179462>
- Драпкина О. М., Широких О. Е. Роль кишечной микробиоты в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2018. Т. 14. № 4. С. 567-574. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-4-567-574>
- Коваль С. М., Снігурська І. О., Юшко К. О. Філотипи мікробиоти кишечника у хворих на артеріальну гіпертензію з абдоминальним ожирінням. *Патологія*. 2020. Т. 17, № 3. С. 313-318. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.3.221771>
- Gut Microbiota Composition and Blood Pressure / S. Sun, A. Lulla, M. Sioda et al. *Hypertension*. 2019. Vol. 73, Iss. 5. P. 998-1006. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12109>
- Коваль С. М., Юшко К. О., Снігурська І. О. Кишкова мікробиота та артеріальна гіпертензія (огляд літератури). *Запорозький медичний журнал*. 2020. Т. 22, № 4. С. 561-567. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.4.208409>

- [13] Gut microbiota and fecal levels of short-chain fatty acids differ upon 24-hour blood pressure levels in men / J. Huart, J. Leenders, B. Taminiau et al. *Hypertension*. 2019. Vol. 74, Iss. 4. P. 1005–1013. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12588>
- [14] Pluznick J. L. Microbial Short-Chain Fatty Acids and Blood Pressure Regulation. *Current hypertension reports*. 2017. Vol. 19, Iss. 4. P. 25. <https://doi.org/10.1007/s11906-017-0722-5>
- [15] Покровская Е. В., Шамхалова М. Ш., Шестакова М. В. Новые взгляды на состояние кишечной микробиоты при ожирении и сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2019. Т. 22, № 3. С. 253–262. <https://doi.org/10.14341/DM10194>
- [16] Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation / World Health Organization. Geneva : WHO, 2000. 252 p.
- [17] Heeney D. D., Gareau M. G., Marco M. L. Intestinal Lactobacillus in health and disease, a driver or just along for the ride? *Current opinion in biotechnology*. 2018. Vol. 49. P. 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.004>
- [18] Protective Effects of Bifidobacterium on Intestinal Barrier Function in LPS-Induced Enterocyte Barrier Injury of Caco-2 Monolayers and in a Rat NEC Model / X. Ling, P. Linglong, D. Weixia, W. Hong. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, Iss. 8. P. e0161635. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161635>
- [19] The Effect of Lactobacillus Consumption on Human Blood Pressure: a Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials / J. Liu, D. Zhang, Y. Guo et al. *Complementary therapies in medicine*. 2020. Vol. 54. P. 102547. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102547>
- [20] Ferreira-Halder C. V., Faria A., Andrade S. S. Action and function of Faecalibacterium prausnitzii in health and disease. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*. 2017. Vol. 31, Iss. 6. P. 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.09.011>
- [21] Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? / H. Liu, J. Wang, T. He et al. *Advances in nutrition*. 2018. Vol. 9, Iss. 1. P. 21–29. <https://doi.org/10.1093/advances/nmx009>
- [22] Impaired butyrate absorption in the proximal colon, low serum butyrate and diminished central effects of butyrate on blood pressure in spontaneously hypertensive rats / T. Yang, K. L. Magee, L. M. Colon-Perez et al. *Acta physiologica*. 2019. Vol. 226, Iss. 2. P. 13256. <https://doi.org/10.1111/apha.13256>
- [23] Increased Systolic and Diastolic Blood Pressure Is Associated With Altered Gut Microbiota Composition and Butyrate Production in Early Pregnancy / L. F. Gomez-Arango, H. L. Barrett, H. D. McIntyre et al. *Hypertension*. 2016. Vol. 68, Iss. 4. P. 974–981. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07910>
- [24] Фадєєнко Г. Д., Гріднев О. Е. Akkermansia muciniphila – роль у порушенні метаболізму. *Український терапевтичний журнал*. 2020. № 4. С. 55–62. <https://doi.org/10.30978/UTJ2020-4-55>
- [25] The Gut Microbiome Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids / J. Fu, M. J. Bonder, M. C. Cenit et al. *Circulation research*. 2015. Vol. 117, Iss. 9. P. 817–824. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306807>
- [26] Akkermansia muciniphila in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How? / S. Y. Geerlings, I. Kostopoulos, W. M. de Vos, C. Belzer. *Microorganisms*. 2018. Vol. 6, Iss. 3. P. 75. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030075>
- [27] Beneficial Effects of Newly Isolated Akkermansia muciniphila Strains from the Human Gut on Obesity and Metabolic Dysregulation / M. Yang, S. Bose, S. Lim et al. *Microorganisms*. 2020. Vol. 8, Iss. 9. P. 1413. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091413>
- [28] Ситкин С. И., Вахитов Т. Я., Демьянова Е. В. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии. *Альманах клинической медицины*. 2018. Т. 46, № 5. С. 396–425. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-5-396-425>
- [4] Mustafayeva, A. G. (2019). Mekhanizmy razvitiya arterial'noi gipertenzii u lits molodogo vozrasta s izbytochnym vesom [Mechanisms for the development of arterial hypertension in overweight adolescents and young adults]. *Problems of Endocrinology*, 65(3), 191–196. [in Russian]. <https://doi.org/10.14341/probl9651>
- [5] Ramalingam, L., Menikdiwela, K., LeMieux, M., Dufour, J. M., Kaur, G., Kalupahana, N., & Moustaid-Moussa, N. (2017). The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1863(5), 1106–1114. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.07.019>
- [6] Koval, S. M., Miloslavsky, D. K., Snegurska, I. A., Mysnychenko, O. V., Penkova, M. Yu., & Schenyavskaya, E. N. (2020). The association of T344C single nucleotide polymorphism of aldosterone synthase gene CYP11B2 (RS1799998) with clinical, hemodynamic and metabolic features of patients with arterial hypertension and abdominal obesity. *Problemy endokrynnoi patologii*, (2), 44–50. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2020.2.05>
- [7] Koval, S. M., Snihurska, I. O., Vysotska, O., Strashnenko, H. M., Wójcik, W., & Dassibekov, K. (2019). Prognosis of essential hypertension progression in patients with abdominal obesity. In W. Wójcik, S. Pavlov, M. Kalimoldayev (Eds.) *Information Technology in Medical Diagnostics II*. Taylor & Francis Group. <https://doi.org/10.1201/9780429057618-32>
- [8] Lyzohub, V. H., Kramarova, V. N., & Melnychuk, I. O. (2019). Rol zmin mikrobioty kyshechnyky v patohenezi sertevo-sudynnykh zakhvoriuvan (ohliad literatury) [Role of intestinal microbiota changes in cardiovascular diseases pathogenesis]. *Zaporozhye medical journal*, 21(5), 672–678. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.5.179462>
- [9] Drapkina, O. M., & Shirobokikh, O. E. (2018). Rol' kishhechnoi mikrobioty v patogeneze serdechno-sosudistykh zabolevanii i metabolicheskogo sindroma [Role of Gut Microbiota in the Pathogenesis of Cardiovascular Diseases and Metabolic Syndrome]. *Ratsional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii*, 14(4), 567–574. [in Russian]. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-4-567-574>
- [10] Koval, S. M., Snihurska, I. O., & Yushko, K. O. (2020). Filotypy mikrobioty kyshechnyky u khvorykh na arterialnu hipertenziiu z abdominalnym ozhyrinniam [Phlotypes of intestinal microbiotes in patients with arterial hypertension and abdominal obesity]. *Pathologia*, 17(3), 313–318. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.3.221771>
- [11] Sun, S., Lulla, A., Sioda, M., Winglee, K., Wu, M. C., Jacobs, D. R., Jr, Shikany, J. M., Lloyd-Jones, D. M., Launer, L. J., Fodor, A. A., & Meyer, K. A. (2019). Gut Microbiota Composition and Blood Pressure. *Hypertension*, 73(5), 998–1006. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12109>
- [12] Koval, S. M., Yushko, K. O., & Snihurska, I. O. (2020). Kyshechna mikrobiota ta arterialna hipertenzia (ohliad literatury) [Gut microbiota and hypertension (a literature review)]. *Zaporozhye medical journal*, 22(4), 561–567. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.4.208409>
- [13] Huart, J., Leenders, J., Taminiau, B., Descy, J., Saint-Remy, A., Daube, G., Krzesinski, J. M., Melin, P., de Tullio, P., & Jouret, F. (2019). Gut Microbiota and Fecal Levels of Short-Chain Fatty Acids Differ Upon 24-Hour Blood Pressure Levels in Men. *Hypertension*, 74(4), 1005–1013. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12588>
- [14] Pluznick J. L. (2017). Microbial Short-Chain Fatty Acids and Blood Pressure Regulation. *Current hypertension reports*, 19(4), 25. <https://doi.org/10.1007/s11906-017-0722-5>
- [15] Pokrovskaya, E. V., Shamhalova, M. S., & Shestakova, M. V. (2019). Novye vzglyady na sostoyanie kishhechnoi mikrobioty pri ozhyrenii i sakharnom diabete 2 tipa [The new views on the state of the gut microbiota in obesity and diabetes mellitus type 2]. *Sakharni Diabet*, 22(3), 253–262. [in Russian]. <https://doi.org/10.14341/DM10194>
- [16] Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. (2000). *World Health Organization technical report series*, 894, i-253.
- [17] Heeney, D. D., Gareau, M. G., & Marco, M. L. (2018). Intestinal Lactobacillus in health and disease, a driver or just along for the ride?. *Current opinion in biotechnology*, 49, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.004>
- [18] Ling, X., Linglong, P., Weixia, D., & Hong, W. (2016). Protective Effects of Bifidobacterium on Intestinal Barrier Function in LPS-Induced Enterocyte Barrier Injury of Caco-2 Monolayers and in a Rat NEC Model. *PLoS one*, 11(8), e0161635. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161635>
- [19] Liu, J., Zhang, D., Guo, Y., Cai, H., Liu, K., He, Y., Liu, Y., & Guo, L. (2020). The Effect of Lactobacillus Consumption on Human Blood Pressure: a Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Complementary therapies in medicine*, 54, 102547. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102547>
- [20] Ferreira-Halder, C. V., Faria, A., & Andrade, S. S. (2017). Action and function of Faecalibacterium prausnitzii in health and disease. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*, 31(6), 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.09.011>

References

- [1] GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin, A., Forouzanfar, M. H., Reitsma, M. B., Sur, P., Estep, K., Lee, A., Marczak, L., Mokdad, A. H., Moradi-Lakeh, M., Naghavi, M., Salama, J. S., Vos, T., Abate, K. H., Abbafati, C., Ahmed, M. B., Al-Aly, Z., Alkerwi, A., Al-Raddadi, R., Amare, A. T., ... Murray, C. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *The New England journal of medicine*, 377(1), 13–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa16.14362>
- [2] Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., de Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G., ... ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European heart journal*, 39(33), 3021–3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- [3] Shariq, O. A., & McKenzie, T. J. (2020). Obesity-related hypertension: a review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery. *Gland surgery*, 9(1), 80–93. <https://doi.org/10.21037/gs.2019.12.03>

- [21] Liu, H., Wang, J., He, T., Becker, S., Zhang, G., Li, D., & Ma, X. (2018). Butyrate: A Double-Edged Sword for Health?. *Advances in nutrition*, 9(1), 21-29. <https://doi.org/10.1093/advances/nmx009>
- [22] Yang, T., Magee, K. L., Colon-Perez, L. M., Larkin, R., Liao, Y. S., Balazic, E., Cowart, J. R., Arocha, R., Redler, T., Febo, M., Vickroy, T., Martyniuk, C. J., Reznikov, L. R., & Zubcevic, J. (2019). Impaired butyrate absorption in the proximal colon, low serum butyrate and diminished central effects of butyrate on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Acta physiologica*, 226(2), e13256. <https://doi.org/10.1111/apha.13256>
- [23] Gomez-Arango, L. F., Barrett, H. L., McIntyre, H. D., Callaway, L. K., Morrison, M., Dekker Nitert, M., & SPRING Trial Group (2016). Increased Systolic and Diastolic Blood Pressure Is Associated With Altered Gut Microbiota Composition and Butyrate Production in Early Pregnancy. *Hypertension*, 68(4), 974-981. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07910>
- [24] Fadiieienko, G. D., & Gridnyev, O. Y. (2020). Akkermansia muciniphila – rol u porushenni metabolizmu [Akkermansia mucinifila and the part that it plays in metabolic disturbance]. *Ukrainskyi terapevtychnyi zhurnal*, (4), 55-62. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.30978/UTJ2020-4-55>
- [25] Fu, J., Bonder, M. J., Ceni, M. C., Tigchelaar, E. F., Maatman, A., Dekens, J. A., Brandsma, E., Marczyńska, J., Imhann, F., Weersma, R. K., Franke, L., Poon, T. W., Xavier, R. J., Gevers, D., Hofker, M. H., Wijmenga, C., & Zhernakova, A. (2015). The Gut Microbiome Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids. *Circulation research*, 117(9), 817-824. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306807>
- [26] Geerlings, S. Y., Kostopoulos, I., de Vos, W. M., & Belzer, C. (2018). *Akkermansia muciniphila* in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How?. *Microorganisms*, 6(3), 75. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030075>
- [27] Yang, M., Bose, S., Lim, S., Seo, J., Shin, J., Lee, D., Chung, W. H., Song, E. J., Nam, Y. D., & Kim, H. (2020). Beneficial Effects of Newly Isolated *Akkermansia muciniphila* Strains from the Human Gut on Obesity and Metabolic Dysregulation. *Microorganisms*, 8(9), 1413. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091413>
- [28] Sitkin, S. I., Vakhitov, T. Ya., & Demyanova, E. V. Microbiome, gut dysbiosis and inflammatory bowel disease: That moment when the function is more important than taxonomy. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018, 46(5), 396-425. [in Russian]. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-5-396-425>

Біліарний рефлюкс після лапароскопічного модифікованого антирефлюксного моноанастомозного шунтування шлунка

М. В. Ніколаєв *

Запорізький державний медичний університет, Україна

Мета роботи – визначення біліарного рефлюксу в пацієнтів із морбідним ожирінням після операції моноанастомозного шунтування шлунка в модифікації клініки та за класичною методикою Roux-en-Y, розроблення діагностичних критеріїв жовчного рефлюксу.

Матеріали та методи. Вивчили результати лікування 36 пацієнтів із морбідним ожирінням, яким здійснили шунтувальні операції. Хворих поділили на дві групи: 25 пацієнтам (основна група) виконали модифіковане у клініці лапароскопічне моноанастомозне шунтування шлунка; контрольна група включала 11 осіб після стандартної методики лапароскопічного шунтування шлунка за Roux-en-Y. У дослідження залучали чоловіків і жінок віком 18–60 років, які хворі на морбідне ожиріння з індексом маси тіла 40 кг/м² і більше, а також 35 кг/м² і більше за наявності коморбідних захворювань (цукровий діабет 2 типу, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, синдром сонного апное). В обох групах виконали рН-імпедансометрію в післяопераційному періоді. Статистично результати опрацювали за допомогою програмного пакета Statistica 13.0, використали параметричні та непараметричні методи статистики.

Результати. Клінічні прояви ентерогастрального біліарного рефлюксу виявили в обох групах, на клінічні прояви відповідних симптомів скаржилися пацієнти також обох груп. Аналіз показників добової рН-метрії у групах дослідження показав, що у стравоході час із рН <4 в основній групі становив 2,83 (1,55; 3,95) %, у контрольній – 3,00 (2,30; 3,50) %; час із рН 4,0–6,9 (фізіологічний для стравоходу) – 92,40 (90,65; 94,20) % та 94,10 (89,80; 95,50) % відповідно; час із рН >7 (слаболужний) – 4,80 (3,45; 5,85) % і 2,90 (1,20; 7,20) % відповідно. Статистично значущу різницю за цими показниками не встановили ($p > 0,05$).

Висновки. Моноанастомозне шунтування шлунка в модифікації клініки має такі самі позитивні властивості, як і методика Roux-en-Y, дає змогу запобігти ризикам, що пов'язані з можливим патологічним рефлюксом жовчі у стравохід. Пацієнти, яким виконали операцію моноанастомозного шунтування, потребують ретельного обстеження з виконанням фіброгастроскопії в комбінації з рН імпедансометрією щонайменше один раз на рік для визначення біліарного рефлюксу та морфологічних змін у просвіті стравоходу та культі шлунка. Рівень якості життя хворих після операції основної та контрольної груп вірогідно не відрізнявся, що підтверджує результат анкетування за опитувальником GERD-Q. Це вказує на ефективність і безпечність модифікованого у клініці лапароскопічного моноанастомозного шунтування шлунка.

Ключові слова:
морбідне ожиріння,
шунтування
шлунка, хірургічне
лікування,
біліарний рефлюкс.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 311-320

***E-mail:**
nikolaevm.v.zp@gmail.com

Biliary reflux after laparoscopic modified antireflux monoanastomotic gastric bypass surgery

M. V. Nikolaiev

Aim. Determination of biliary reflux in patients with morbid obesity after a single-anastomotic gastric bypass operation performed in the clinic's modification and according to the classical Roux-en-Y gastric bypass technique, and diagnostic criteria for biliary reflux development.

Materials and methods. The results of treatment of 36 patients with morbid obesity who had undergone bypass surgery were studied. The patients were divided into two groups. Clinically modified laparoscopic monoanastomotic gastric bypass surgery was performed in 25 patients (main group). The control group included 11 patients after the standard technique of Roux-en-Y laparoscopic gastric bypass. Inclusion criteria were: persons of both sexes aged 18–60 years with morbid obesity and a body mass index of 40 or more, as well as 35 or more in the presence of comorbid diseases (type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension, dyslipidemia, sleep apnea syndrome). Impedance pH measurements were performed in the postoperative period in both groups. Statistical processing was performed using the Statistica 13.0 software package using parametric and nonparametric statistical methods.

Results. Clinical manifestations of the enterogastric biliary reflux were found in both groups; in addition, clinical manifestations of the corresponding symptoms were noted by patients of both groups. The analysis of daily pH measurement in the studied groups showed that in the esophagus the time with pH <4 in the main group was 2.83 (1.55; 3.95) % and 3.00 (2.30; 3.50) % in the control group, time with pH 4.0–6.9 (physiological for the esophagus) was 92.40 (90.65; 94.20) % and 94.10 (89.80; 95.50) %, respectively, time with pH >7 (weak alkaline) was 4.80 (3.45; 5.85) % and in the control group 2.90 (1.20; 7.20) %. There was no statistically significant difference in these indicators ($P > 0.05$).

Conclusions. Monoanastomotic gastric bypass surgery in the modification of the clinic has the same positive properties as the Roux-en-Y technique, allowing to avoid the risks associated with possible pathological reflux of bile into the esophagus. Patients who underwent monoanastomotic gastric bypass surgery require a thorough examination with fibrogastroscopy in combination with impedance pH measurement at least once a year in order to determine biliary reflux and morphological changes both in the lumen of the esophagus and in the gastric stump. The level of quality of life of the patients after surgery in the control group and the main group does not significantly differ, as evidenced by the results of the survey using the GerdQ questionnaire, which indicates the effectiveness and safety of modified in the clinic laparoscopic monoanastomotic gastric bypass surgery.

Key words:
morbid obesity,
gastric bypass,
surgical treatment,
biliary reflux.

Pathologia
2021; 18 (3), 311-320

Ключевые слова:

морбидное ожирение, шунтирование желудка, хирургическое лечение, билиарный рефлюкс.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 311-320

Билиарный рефлюкс после лапароскопического модифицированного антирефлюксного моноанастомозного шунтирования желудка

М. В. Николаев

Цель работы – определение билиарного рефлюкса у пациентов с морбидным ожирением после операции моноанастомозного шунтирования желудка в модификации клиники и по классической методике Roux-en-Y, разработка диагностических критериев жёлчного рефлюкса.

Материалы и методы. Изучены результаты лечения 36 пациентов с морбидным ожирением, перенесших шунтирующую операцию. Больных поделили на две группы: 25 пациентам (основная группа) выполнено модифицированное в клинике лапароскопическое моноанастомозное шунтирование желудка; контрольная группа включала 11 больных после стандартной методики лапароскопического шунтирования желудка по Roux-en-Y. В исследование включали мужчин и женщин в возрасте 18–60 лет с морбидным ожирением и индексом массы тела 40 кг/м^2 и более, а также 35 кг/м^2 и более при наличии коморбидных заболеваний (сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, дислипидемия, синдром сонного апноэ). В обеих группах проведена рН-импедансометрия в послеоперационном периоде. Статистические результаты обработали с помощью программного пакета Statistica 13.0, использовали параметрические и непараметрические методы статистики.

Результаты. Клинические проявления энтерогастрального билиарного рефлюкса отмечены в обеих группах, на клинические проявления соответствующих симптомов имели жалобы пациенты также обеих групп. Анализ суточной рН-метрии в исследуемых группах показал: в пищеводе время с рН <4 в основной группе составило 2,83 (1,55; 3,95) %, в контрольной – 3,00 (2,30; 3,50) %; с рН 4,0–6,9 (физиологический для пищевода) – 92,40 (90,65; 94,20) % и 94,10 (89,80; 95,50) % соответственно; с рН >7 (слабощелочной) – 4,80 (3,45; 5,85) % и 2,90 (1,20; 7,20) % соответственно. Статистически значимая разница по этим показателям не установлена ($p > 0,05$).

Выводы. Моноанастомозное шунтирование желудка в модификации клиники характеризуется такими же положительными свойствами, как и методика Roux-en-Y, позволяет избежать рисков, связанных с возможным патологическим рефлюксом желчи в пищевод. Пациенты, перенесшие операцию моноанастомозного шунтирования желудка, требуют тщательного обследования с выполнением фиброгастроскопии в сочетании с рН-импедансометрией как минимум один раз в год для определения билиарного рефлюкса и морфологических изменений слизистой оболочки пищевода и культи желудка. Уровень качества жизни больных основной и контрольной группы после операции достоверно не отличался, о чём свидетельствует результат анкетирования по опроснику GERD-Q. Это указывает на эффективность и безопасность модифицированной в клинике методики лапароскопического моноанастомозного шунтирования желудка.

Моноанастомозне шунтування шлунка – група операцій, що виконують при морбідному ожирінні; ці втручання об'єднані ідеєю накладання одного анастомозу (One Anastomosis Gastric Bypass, OAGB) – гастроентероанастомозу, що дає змогу змінити метаболізм, знизити й утримувати масу тіла в межах норми [1,2]. За даними Товариства бариатричних хірургів, в останні роки спостерігають поширення моноанастомозного шунтування шлунка. Так, з 2016 року OAGB – третя за частотою бариатрична операція, що становить 4,8 % від усіх первинних операцій після рукавної резекції (53,6 %) та шунтування шлунка за Roux-en-Y (30,1 %) [11]. Згідно з 5 звітом-реєстром IFSO за 2019 рік, OAGB становили 3,7 % від усіх первинних бариатричних процедур. У багатьох наукових працях показано відмінні результати зниження маси тіла після OAGB, але протягом більш ніж 20-річної історії OAGB було чимало суперечок про безпеку цієї методики, що пов'язані з негативним впливом жовчі на слизову оболонку стравоходу [3,10,12].

Оригінальна методика мінішунтування шлунка – mini gastric bypass (MGB). Це різновид OAGB, який виконують із накладанням одного анастомозу між кулкою шлунка та тонкою кишкою. Методика є результатом розвитку класичного шунтування шлунка під впливом робіт R. Rutledge та інших авторів у 1997 році [3,4]. Вважають, що MGB – краща альтернатива гастроєнтерошунтуванню за Roux-en-Y через меншу тривалість оперативного часу, меншу кількість можливих ускладнень, що пов'язані з неспроможністю лінії анастомозу, розвитком інтраабдомінальних гриж, простотою

ревізійних і реверсивних втручань, з еквівалентними чи навіть кращими результатами щодо зниження маси тіла й корекції супутніх захворювань [5–7]. Методика mini-gastric bypass не виключає проблем, що пов'язані з жовчним рефлюксом у стравохід і розвитком надалі лужного рефлюкс-езофагіту, дисплазії та асоційованого з ним раку стравоходу. Ці ризики виникають унаслідок формування довгої кулки шлунка, коли зберігається гастрин-продукувальна зона шлунка, та створення анастомозу з тонкою кишкою на відстані понад 200 см від зв'язки Трейца [8,10]. Утім вона показана хворим із грижею стравохідного отвору діафрагми, має позитивні результати при гастроєзофагеальному рефлюксі [9].

Ми розробили та впровадили у практику патент на корисну модель «Спосіб хірургічного лапароскопічного лікування морбідного ожиріння» (№ 141842). Ця методика дає змогу ефективно знизити надлишкову масу тіла, позитивно впливає на супутні захворювання [14]. Розроблена методика потребує оцінювання не тільки динаміки зниження маси тіла пацієнта, супутніх захворювань, але й визначення якості життя, наявності жовчного рефлюксу, езофагіту й інших можливих ускладнень. Необхідність детальнішого дослідження біліарного рефлюксу зумовлена збільшенням популярності моноанастомозних шунтувальних операцій у світовій бариатричній спільноті [13].

Мета роботи

Визначення біліарного рефлюксу в пацієнтів із морбідним ожирінням після операції моноанастомозного

шунтування шлунка в модифікації клініки та за класичною методикою Roux-en-Y, розроблення діагностичних критеріїв жовчного рефлюксу.

Матеріали і методи дослідження

Проаналізували найближчі та віддалені результати лікування 36 пацієнтів із морбідним ожирінням, яким здійснили шунтувальні операції. Хворих поділили на дві групи: 25 пацієнтам (основна група) виконали модифіковане у клініці лапароскопічне моноанастомозне шунтування шлунка (ЛМШШ); контрольна група – 11 хворих після стандартної методики лапароскопічного шунтування шлунка за Roux-en-Y. Пацієнтів прооперували у 2011–2021 рр., їх порівнювали за основними показниками: індексом маси тіла, наявністю коморбідної патології, статтю та віком. В основній групі 24 (96,0 %) жінки, 1 (4,0 %) чоловік; у контрольній – 10 (91,0 %) жінок, 1 (9,0 %) чоловік. Середній вік в основній групі становив $37,28 \pm 2,38$ року, групі контролю – $37,36 \pm 3,65$ року ($p > 0,05$). Маса тіла пацієнтів – від 90 до 173 кг. Середній індекс маси тіла (ІМТ) в основній групі до операції становив $42,75 \text{ кг/м}^2$, через 6 місяців після операції – $32,18 \text{ кг/м}^2$ (зменшення на 24,7 %), у 24/25 пацієнтів через 12 місяців середній ІМТ дорівнював $27,17 \text{ кг/м}^2$ (зменшення на 36,4 %). Середній ІМТ у контрольній групі до операції – $42,44 \text{ кг/м}^2$, а через 12 місяців після операції – $26,01 \text{ кг/м}^2$ (зменшення на 38,7 %).

Коморбідну патологію діагностували в 72,0 % (у 40,0 % із них виявили поєднані захворювання) хворих основної, у 72,7 % (у 36,3 % із них – поєднані захворювання) контрольної груп. Усі пацієнти з ІМТ менше ніж 40 кг/м^2 мали прояви метаболічного синдрому та синдрому сонного апное.

У дослідження залучали чоловіків і жінок віком 18–60 років, які хворі на морбідне ожиріння з ІМТ $\geq 40 \text{ кг/м}^2$, а також $\geq 35 \text{ кг/м}^2$ за наявності коморбідних захворювань (цукровий діабет 2 типу, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, синдром сонного апное тощо)

У дослідження не включали осіб із тяжкими декомпенсованими захворюваннями, онкозахворюваннями; якщо були протипоказання до лапароскопічного методу операції (загальні, місцеві).

Усіх хворих обстежили до операції, а також у термін 3, 6 і 12 місяців після операції, далі – щороку. Здійснили стандартні клініко-біохімічні обстеження, визначали ліпідограму, досліджували С-пептид, інсулін, індекс НОМА, лептин. Хворим виконали рентгеноскопію верхнього відділу шлунково-кишкового тракту з барієм, УЗД органів черевної порожнини. Відеоезофагогастроуденоскопію виконали до та після операції з біопсією слизової оболонки стравоходу та куки шлунка для виключення дисплазії.

Для отримання даних після операції про гастро-езофагеальний рефлюкс, зміни рН у нижній третині стравоходу, тривалість і кількість рефлюксів, зміни рН у культі шлунка виконали добову рН-імпедансометрію. Це дослідження здійснили одноразово кожному пацієнту з вересня 2020 року до серпня 2021 року – 10/11 хворим контрольної та 20/25 (80 %) особам основної групи, 6 пацієнтів відмовилися від обстеження. Пацієн-

ту вводили зонд діаметром 1,8 мм натще через нижній носовий хід до рівня культі шлунка, де розташовували перший (рН-1) датчик, на 5 см вище від нижнього стравохідного сфінктера розташовували другий (рН-2) датчик; датчики імпедансу (Z) розміщували на 3 см, 5 см, 9 см, 11 см та 15 см вище за нижній стравохідний сфінктер (рис. 1).

Як накопичувач інформації використовували комп'ютерну систему рН-моніторингу Ацидогастрограф АГ-4рН-7Z (ТОВ «Старт», Вінниця, Україна). Результати вводили в персональний комп'ютер і візуалізували за допомогою графічного інтерфейсу програми. Проаналізували записи каналів (2 рН і 5 сегментів імпедансу) та події, зареєстровані на графіках. Пацієнтам рекомендували під час обстеження вести нормальний спосіб життя та дотримуватися звичного режиму харчування, а також вести щоденник страв, симптомів і періодів горизонтального положення та сну.

Для виявлення симптомів гастро-езофагеального рефлюксу (ГЕР) використовували анкету-опитувальник GERD-Q [19]. Дослідження DIAMOND показало, що чутливість опитувальника GERD-Q становить 65 %, специфічність – 71 % [20]. Опитувальник включає 6 запитань, поділені на три групи:

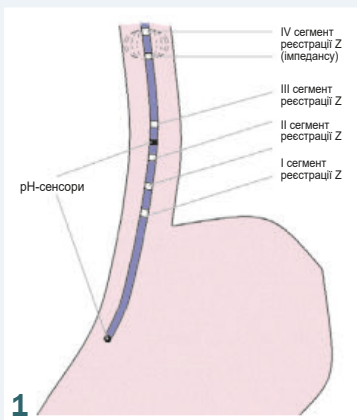
– група А – запитання про наявність симптомів, що свідчать про наявність діагнозу ГЕР: печія, регургітація;

– група В – запитання про симптоми, часта поява яких ставить діагноз ГЕР під сумнів: нудота, біль в епігастрії;

– група С – запитання про вплив захворювання на якість життя, що свідчать про наявність діагнозу ГЕР: порушення сну, приймання додаткових лікарських препаратів через симптоми ГЕР.

Кожен із 6 пунктів шкали оцінюють від 0 до 3 балів; у групі запитань А 0 балів свідчить про відсутність симптому, 3 – його виникнення 4–7 разів на тиждень, а у групі В 3 бали – відсутність симптомів, 0 – поява протягом 4–7 днів на тиждень. Здійснили опитування пацієнта про його самопочуття та пов'язані з цим відчуття за останній тиждень. На кожне питання хворий міг відповісти одним із чотирьох варіантів. Якщо сума балів становила ≥ 8 , встановлювали діагноз гастро-езофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ). Окремо оцінюють суму балів у групі С (розлади сну і необхідність приймання додаткових медикаментів у зв'язку з симптомами ГЕРХ): якщо сума балів становить менше ніж 3 бали, діагностують помірну ГЕРХ, понад 3 бали – виражену ГЕРХ (табл. 1). Максимально можлива сума балів за шкалою GERD-Q – 18.

Статистично результати опрацювали за допомогою спеціалізованого пакета Statistica 13, ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J. Дані перевіряли на нормальність розподілу за допомогою критерію Шапіро–Вілкі. Якщо розподіл даних відповідав нормальному закону, їх наводили як середнє \pm стандартна похибка ($M \pm m$); якщо визначили відхилення від закону нормального розподілу, – медіана та міжквартильний розмах, Me (Q25; Q75). Аналіз відмінностей між групою дослідження та контрольною виконали за допомогою критерію Стьюдента для незалежних вибірок при



1

Рис. 1. Схема розташування датчиків багатоканального імпеданс-рН-метричного зонда.

Рис. 2. Частота клінічних симптомів гастроезофагеального рефлюксу впродовж тижня після операції (за опитувальником GERD-Q).

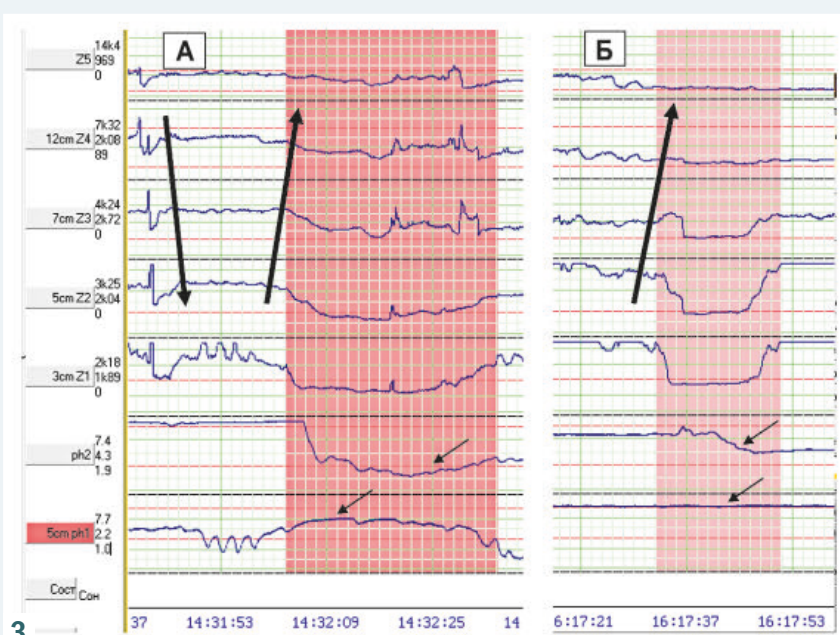
Рис. 3. Приклади епізодів рефлюксу під час моніторингу рН-імпедансу. Стрілка, спрямована вниз, показує фізіологічний ковток, стрілки вгору вказують на епізоди рефлюксу.

3А: Епізод кислотного рефлюксу під час моніторингу рН-імпедансу. Електрод рН-1 розташований у шлунку, рН-2 розташований на 5 см над нижнім стравохідним сфінктером (НСС), а електроди імпедансу (Z) – на 3 см, 5 см, 9 см, 11 см, 15 см над НСС. Привертає увагу різке зниження показників рН-2 з 4,3 до 3,1, зниження записів імпедансу Z (стрілки) – кислотний рефлюкс; рН-1 у культі шлунка підвищується з 2,2 до 5,8 (слабокислий рефлюкс).

3Б: привертає увагу зниження рівня лише рН-2 (стрілка) та імпедансу з 6,3 до 4,9, що не є кислим; рН-1 у культі шлунка не змінився, вказує на рН 7,0. Цей показник може вказувати на наявність жовчі у просвіті культі шлунка.



2



3

відповідності закону нормального розподілу, при відхиленні використовували критерій Манна-Вітні. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Для оцінювання зв'язку між показниками використовували коефіцієнт кореляції Спірмена.

Результати

Клінічні прояви ентерогастрального біліарного рефлюксу визначили в обох групах, на клінічні прояви відповідних симптомів мали скарги пацієнти обох груп, але загальна кількість балів за опитувальником GERD-Q недостатня для проявів ГЕР. Кількість балів дещо більша в основній групі пацієнтів (рис. 2).

Ендоскопічне дослідження здійснили до операції та в період 1–76 місяців після операції, в середньому $36,1 \pm 5,6$ місяця в основній групі; в період 70–112 місяців після операції, в середньому $89,5 \pm 3,0$ місяця в контрольній групі.

Під час фіброгастроскопії (табл. 2), яку виконали до операції, у 3 (12%) пацієнтів основної групи виявили дуоденогастральний рефлюкс, у 1 (4%) – гастроезофагеальний рефлюкс, у 7 (28%) – недостатність кардії.

У 6 (24%) хворих виявили ознаки грижі стравохідного отвору діафрагми, що підтверджено рентгенологічно.

У контрольній групі дуоденогастральний рефлюкс виявили в 1 (9%) пацієнта, гастроезофагеальний рефлюкс – у 1 (9%), недостатність кардії – у 3 (27,3%). У 3 (27,3%) хворих є ознаки грижі стравохідного отвору діафрагми.

У післяопераційному періоді під час планового обстеження пацієнтів основної групи виявили гастрит культі шлунка у 2 (8%) осіб, гістологічна структура відповідала фовеолярній гіперплазії, але макроскопічна структура нормальна, стеноз гастроентероанастомозу – 1 (4%), виразка гастроентероанастомозу – в 1 (4%) хворого, ентерогастральний рефлюкс або наявність жовчі у просвіті шлунка – в 5 (20%), гастроезофагеальний рефлюкс – у 1 (4%), недостатність кардії – в 1 (4%) випадку.

У контрольній групі активний гастрит культі шлунка виявили в 1 (9%) пацієнта, стеноз гастроентероанастомозу – в 1 (9%) пацієнта, виразки гастроентероанастомозу не встановлені, ентерогастральний рефлюкс – 1 (9%) випадок, гастроезофагеальний рефлюкс не визначили. Ознаки грижі стравохідного

Таблиця 1. Анкета-опитувальник при ГЕРХ (GERD-Q)

Питання	0 днів	1 день	2–3 дні	4–7 днів
А Як часто у Вас виникає печія?	0	1	2	3
Як часто Ви відчуваєте закид їжі (рідини) зі шлунка до глотки або ротової порожнини (реургітація)?	0	1	2	3
В Як часто у Вас виникає біль у верхній частині живота?	3	2	1	0
Як часто у Вас виникає нудота?	3	2	1	0
С Як часто у Вас виникають порушення сну, що пов'язані з печією чи реургітацією?	0	1	2	3
Як часто Ви застосовуєте ліки для лікування печії чи реургітації (антациди чи препарати, що порекомендував лікар)?	0	1	2	3

Таблиця 2. Ендоскопічне оцінювання стану слизової оболонки стравоходу, культі шлунка та гастроентероанастомозу у віддаленому післяопераційному періоді, n (%)

Ендоскопічна знахідка	Основна група, n = 25		Контрольна група, n = 11	
	До операції	Після операції	До операції	Після операції
Гастрит культі шлунка	–	2 (8,0)	–	1 (9,0)
Стеноз гастроентероанастомозу (анастомозит)	–	1 (4,0)	–	1 (9,0)
Виразка гастроентероанастомозу	–	1 (4,0)	–	не виявлено
Дуодено/ентерогастральний рефлюкс, наявність жовчі у просвіті шлунка	3 (12,0)	5 (20,0)	1 (9,0)	1 (9,0)
Гастроєзофагеальний рефлюкс, наявність жовчі у просвіті стравоходу	1 (4,0)	1 (4,0)	1 (9,0)	не виявлено
Недостатність кардії	7 (28,0)	1 (4,0)	3 (27,3)	не виявлено
Грижа стравохідного отвору діафрагми	6 (24,0)	не виявлено	3 (27,3)	не виявлено

Таблиця 3. Показники рН імпедансометрії у просвіті стравоходу та шлунка

Показники	Норма	Основна група, n = 20	Контрольна група, n = 10	p-level	
Показники рН імпедансометрії у просвіті стравоходу	Час із рН <4 загальний, % (АЕТ)	4,5	2,83 (1,55; 3,95)	3,00 (2,30; 3,50)	0,97
	Час із рН 4,0–6,9, загальний, %	базальний рівень рН	92,40 (90,65; 94,20)	94,10 (89,80; 95,50)	0,29
	Час з рН >7, загальний, %	≤16,54	4,80 (3,45; 5,85)	2,90 (1,20; 7,20)	0,17
	Кількість ГЕР із рН <4	46,9	7,9 ± 0,9	6,8 ± 0,9	0,45
	Кількість ГЕР із рН 4,0–6,9	базальний рівень рН	16,3 ± 1,4	22,5 ± 2,2	0,02
	Кількість ГЕР із рН >7	<27	3,6 ± 0,7	1,3 ± 0,4	0,03
	Загальна кількість ГЕР	≤60	27,7 ± 1,5	30,6 ± 2,5	0,30
	Кількість ГЕР тривалістю понад 5 хв	3,5	1 (0; 2)	1 (0; 2)	0,83
	Найтриваліший ГЕР, хв		5,7 (3,5; 9,3)	7,3 (4,1; 9,6)	0,44
Показники рН імпедансометрії у просвіті шлунка	Показник DeMeester	<14,7	6,2 ± 0,6	5,8 ± 0,6	0,73
	Час із рН <4, загальний, %	базальний рівень рН	19,95 (17,90; 22,00)	38,50 (30,00; 53,60)	<0,001
	Час із рН 4,0–6,9, загальний, %	<10	48,90 (42,10; 56,40)	48,90 (40,00; 56,60)	0,98
	Час із рН >7, загальний, %	<6	31,00 (26,30; 37,30)	8,10 (3,50; 14,50)	<0,001

отвору діафрагми не виявили в обох групах ані під час ендоскопії, ні під час рентгеноскопії з контрастом.

Аналіз показників добової рН-метрії у групах дослідження показав (табл. 3): у стравоході час із рН <4 в основній групі становив 2,83 (1,55; 3,95) %, у контрольній – 3,00 (2,30; 3,50) %; час із рН 4,0–6,9 (фізіологічний для стравоходу) – 92,40 (90,65; 94,20) % та 94,10 (89,80; 95,50) % відповідно; час із рН >7 (слаболужний) – 4,80 (3,45; 5,85) % і 2,90 (1,20; 7,20) % відповідно. Статистично значущу різницю за цими показниками не виявили ($p > 0,05$). Наведені результати не перевищують нормальні фізіологічні показники. Кількість епізодів і тривалість рефлюксів, показник DeMeester також не підвищені. Але привертає увагу зниження експозиції кислого болюса (рН <4) та збільшення часу експозиції болюса з рН >4 до 50 % часу дослідження в обох групах, а фізіологічний рН у шлунку – від 1,2 до 2,0 (рис. 3). Встановили, що в пацієнтів основної групи медіана експозиції болюса в культі шлунка з рН >7 майже вчетверо вища, ніж той самий показник у групі контролю ($p < 0,001$).

Обговорення

Починаючи з 1997 р., операція моноанастомозного шунтування шлунка стає все популярнішою внаслідок її простоти, меншої тривалості оперативного часу, а також через меншу кількість ускладнень і відмінні результати втрати зайвої маси тіла. Тривалий час цю методику критикували баріатричні хірурги через теоретично високий потенційний ризик розвитку гастроєзофагеального раку внаслідок жовчного рефлюксу. Відомості фахової літератури показують: резекція шлунка за Billroth II вірогідно не пов'язана зі збільшенням частоти раку шлунка [18,20,21]. Після всіх баріатричних операцій зареєстрували понад 40 випадків раку шлунка та стравоходу, а після MGB не виявили жодного випадку раку кулки шлунка або стравоходу [22–25]. Однак суперечки з приводу розвитку біліарного рефлюксу після мінішлункового шунтування та пов'язаного з цим ризику розвитку раку шлунка та стравоходу не припиняються. Діагностування біліарного рефлюксу після MGB – непросте завдання, крім випадків, коли в пацієнта відбувається

регургітація біліопанкреатичного секрету та/або блювота жовцю, особливо вночі. Діагностика і біліарного, і кислотного рефлюксу потребує не тільки відповідних симптомів, але й об'єктивізації даних [17]. Ба більше, майже неможливо відрізнити жовчний рефлюкс від кислотного за симптомами [18].

Відомо, що дуоденогастральний рефлюкс – фізіологічне явище у здорових людей. Утім надмірний біліарний рефлюкс може призводити до рефлюкс-гастриту та/або езофагіту, кишкової метаплазії, виразкового ураження слизової оболонки шлунка та стравоходу, стравоходу Барретта та врешті до раку шлунка або стравоходу [16].

У поєднанні з названими й очікуваними позитивними якістьями MGB, розробили модифікацію моноанастомозного шунтування, що передбачає створення вертикальної кукси шлунка рестриктивного типу завдовжки 6–8 см, як при класичній Roux-en-Y, що вимикає його гастрин-продукувальну зону, але з накладенням ручного інвагінаційного антирефлюксного анастомозу діаметром 1,5 см і фіксацією привідного коліна анастомозу вздовж шва кукси шлунка як антирефлюксної шпори [14].

Нині немає єдиного підходу до інструментальних діагностичних методів, що дають змогу повністю оцінити наявність і вплив біліарного рефлюксу на стан слизової оболонки кукси шлунка та стравоходу [15].

Фіброгастроскопія – головний інструментальний метод обстеження пацієнтів, в яких є клінічні ознаки біліарного рефлюксу. Вона дає змогу візуально документувати наявність жовчі у просвіті кукси шлунка та/або стравоході, крім того, можна оцінити макроскопічні зміни, що є в слизовій оболонці шлунка та стравоходу. Фіброоптична спектроскопія разом із моніторингом pH, на думку деяких авторів, – найточніший метод діагностики жовчного рефлюксу. Однак через методологічні обмеження спектрометричний метод не набув достатнього розвитку та замінений pH-імпедансометрією, яку експерти вважають надійнішим і відповідним методом [26–32]. Моніторинг за допомогою багатоканального імпедансу дає змогу аналізувати зміни електричного опору з виявленням усіх видів рефлюксу (рідини, газу). pH-імпедансометрія також може використовуватися для характеристики кислих, лужних і нейтральних різновидів рефлюксу [33].

Ендоскопія верхніх відділів шлунково-кишкового тракту в поєднанні з pH-імпедансометрією має вищу чутливість і специфічність для виявлення кислотних і лужних рефлюксів [13].

У доступній фаховій літературі виявили тільки одне дослідження з використанням систематичного моніторингу pH імпедансу, манометрії та ендоскопії [8]. Дослідження S. Tolone et al. [8] включало 15 пацієнтів із передопераційною симптоматикою рефлюксу, яким виконали мінігастрошунтування. Через 1 рік після операції MGB не зафіксували випадки порушення функції стравохідно-шлункового переходу, але виявили суттєве зменшення внутрішньошлункового тиску – з 5,0 до 9,5 ($p < 0,01$), градієнт гастроєзофагеального тиску знизився з 10,3 до 6, 4 ($p < 0,01$), а кількість подій рефлюксу зменшилася з 41 до 7 ($p < 0,01$). Ендоскопічні ознаки ураження сли-

зової оболонки шлунка та/або стравоходу, вторинні щодо можливого біліарного рефлюксу, не виявили. Втім невелика кількість пацієнтів, які взяли участь у дослідженні, а також короткі терміни спостереження не дають змоги робити остаточні висновки.

Подібні дані встановили в пацієнтів обох груп у нашому дослідженні. Кількість виявлених після операції випадків гастроєзофагеального рефлюксу, недостатність кардіального сфінктера чи ознаки грижі стравохідного отвору діафрагми статистично зменшилися в основній групі, ці епізоди не зафіксовані в контрольній групі.

За даними T. M. S. Salama et al., зберігаються ризики щодо хронічного або симптоматичного жовчного рефлюкс-гастриту та рефлюкс-езофагіту, а отже раку шлунка та стравоходу [34, 38]. За даними дослідження 50 випадків MGB, через 18 місяців після операції з використанням фіброгастроскопії з біопсією і 24-годинною pH-метрією рефлюкс-езофагіт встановили у 3 (6 %) випадках: у 2 (4 %) пацієнтів пов'язаний із кислим рефлюксом, у 1 (2 %) – з лужним гастроєзофагеальним біліарним рефлюксом. Ендоскопічні ознаки дисплазії та метаплазії не виявили.

Нині опубліковано два проспективних рандомізованих контрольованих дослідження, де порівнюють OAGB і RYGB [35, 36]. Lee et al. зробили висновок, що полеміка про рефлюкс жовчі доцільна після тривалішого спостереження [37]. Докази канцерогенної дії рефлюксу жовчі після OAGB відсутні, але симптоми рефлюксу після OAGB доволі поширені [39].

Saariinen T. et al. вивчали жовчний рефлюкс скінтиграфічним методом у 2017–2020 рр. Автори визначали вплив біліарного рефлюксу за допомогою гепатобіліарної скінтиграфії. Встановили: 55,5 % пацієнтів, яким виконали одноанастомозне шунтування, мали транзиторний жовчний рефлюкс, котрий визначили в культурі шлунка [40, 41]. Автори цих досліджень почали проспективне вивчення рефлюксу жовчі скінтиграфічним методом та ендоскопії в межах рандомізованого контрольованого дослідження, що порівнює OAGB і RYGB (дослідження RYSA).

Протилежні дані наведені в роботі D. Sifrim та M. F. Vaezi, J. E. Richter [18, 21]. Повідомляють, що рефлюкс як ускладнення виявляють у 0,5–4,0 %. Необхідність хірургічної ревізії після одноанастомозного шунтування через клінічно виражений рефлюкс жовчі становить від 0,0 % до 0,7 % [41]. Пацієнтів повторно оперували, виконували конверсію за Roux-en-Y, після якої пацієнти визначали поліпшення.

У цьому дослідженні ми виконали порівняльний аналіз стандартного способу шунтування шлунка за Roux-en-Y і мінігастрошунтування в модифікації клініки. Залучали пацієнтів із клінічними, ендоскопічними ознаками біліарного дуоденогастрального рефлюксу та гастроєзофагеального рефлюксу, ознаками недостатності кардії та грижі стравохідного отвору діафрагми. Ці дані вважали додатковими показаннями для шунтувальної операції. Вивчення безпосередніх результатів у двох групах дослідження показало: накладання ручного інвагінаційного гастроентероанастомозу вірогідно не призводить до збільшення ризиків гастроєзофагеального рефлюксу й ускладнень, що з

ним пов'язані.

Аналіз опитування пацієнтів за допомогою анкети GERD-Q, специфічної для ГЕРХ, показав: загальна кількість балів в основній групі більша, ніж у контрольній. Але це опитування не виявило клінічних проявів стравохідного рефлюксу. Цей опитувальник показує прояви рефлюксу за тиждень, інколи пацієнти описували прояви стравохідного рефлюксу до двох разів на місяць, пов'язуючи їх із порушенням дієтичних рекомендацій, переїданням. Названі прояви зменшувалися на тлі дотримання дієти.

Аналізуючи частоту виникнення ендоскопічних ознак біліарного рефлюксу після операції, виявили виразку в однієї пацієнтки через 6 місяців після операції. Хвора пов'язує це з самостійним припиненням приймання інгібіторів протонної помпи (ІПП) у післяопераційному періоді. Стеноз гастроентероанастомозу виявили в одного пацієнта з кожної групи, тому їм виконали балонну дилатацію з уведенням глюкокортикостероїдів у зону стенозу. Гістологічне дослідження вказує на фіброзні зміни в зоні анастомозу. Гастрит культі шлунка виявили в одного пацієнта основної та двох хворих контрольної групи; вони перебувають під спостереженням.

У 5 (20 %) пацієнтів основної групи визначили ентерогастральний рефлюкс, у групі контролю – 1 (9 %) випадок.

Під час рН імпедансометрії підтверджено зниження кислотності культі шлунка; це може вказувати на наявність і слини, що містить бікарбонати (рН 5,8–6,2), і жовчі (рН 8,0–8,5). На рис. 3 показано фізіологічний ковток (стрілка вниз), після якого рН не змінився; під час рефлюксу (стрілка вгору) є ознаки кислотного рефлюксу у стравоході та слабокислого у шлунку, рН у культі шлунка становив ≥ 7 . Це вказує на болюс жовчі, який під час закиду до культі шлунка провокує закид кислоти у стравохід.

Основний показник будь-якого дослідження рН-імпедансу – час експозиції кислоти у стравоході (рН болюса < 4) або acid exposure time (AET) протягом доби. Час приймання їжі виключають, запис візуально сканують для виявлення артефактів, що можуть вплинути на розрахунки. Загальний AET вважають фізіологічним при експозиції у стравоході < 4 % впродовж усього часу спостереження, патологічний – при результаті > 6 %. AET вважають статистично вірогіднішим, ніж індекс DeMeester, який також показує експозицію болюса.

В обох групах пацієнтів після обстеження не виявили ознаки ГЕР, але час експозиції болюса в просвіті культі шлунка з рН < 4 знижений в обох групах, в основній він вдвічі менший, ніж у контрольній. Це може вказувати на швидке скидання вмісту зі шлунка в тонку кишку та водночас пов'язано з видаленням кислотопродукувальної зони шлунка. Час експозиції болюса в просвіті культі шлунка з рН ≥ 7 збільшений, в основній групі цей показник утричі вищий за результат досліджень у контрольній групі.

Результати дослідження свідчать про статистично доведену відсутність ознак біліарного та кислотного гастроєзофагеального рефлюксу в основній і контрольній групах. Це підтверджує ефективність і

доцільність застосування ручного інвагінаційного гастроентероанастомозу, що забезпечує рестриктивний компонент і достатній антирефлюксний захист.

Враховуючи наведені зміни рН шлунка та нові суперечливі відомості досліджень останніх років щодо віддалених результатів після моноанастомозного шунтування шлунка, необхідне продовження спостереження за хворими обох груп у віддалені терміни після операції з всебічним оцінюванням морфофункціональних параметрів анастомозу.

Висновки

1. Моноанастомозне шунтування шлунка в модифікації клініки має такі самі позитивні властивості, як і методика Roux-en-Y, дає змогу запобігти ризикам, що пов'язані з можливим патологічним рефлюксом жовчі у стравохід.

2. Пацієнти, яким виконали операцію моноанастомозного шунтування, потребують ретельного обстеження з виконанням фіброгастроскопії в комбінації з рН імпедансометрією щонайменше один раз на рік для визначення біліарного рефлюксу та морфологічних змін у просвіті стравоходу та культі шлунка.

3. Рівень якості життя хворих після операції основної та контрольної груп вірогідно не відрізнявся, що підтверджує результат анкетування за опитувальником GERD-Q. Це вказує на ефективність і безпечність модифікованого у клініці лапароскопічного моноанастомозного шунтування шлунка.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Хірургічні (відкриті, лапароскопічні втручання) та ендоскопічні методи лікування захворювань органів черевної порожнини, стравоходу з розробкою і впровадженням нових способів та використанням ендосонаграфічних, ендоваскулярних технологій з оцінкою якості життя», № держреєстрації 0117U006964.

Конфлікт інтересів: відсутній

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

Надійшла до редакції / Received: 13.09.2021

Після доопрацювання / Revised: 20.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2021

Відомості про автора:

Николаев М. В., аспірант каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.
ORCID ID: [0000-0002-0223-9977](https://orcid.org/0000-0002-0223-9977)

Information about author:

Nikolaiev M. V., Postgraduate Student of the Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторе:

Николаев М. В., аспирант каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.



Список літератури

- [1] Interdisciplinary European Guidelines on metabolic and bariatric surgery / M. Fried, V. Yumuk, J. M. Oppert et al. *Obesity facts*. 2013. Vol. 6, Iss. 5. P. 449-468. <https://doi.org/10.1159/000355480>
- [2] Bariatric procedures in adolescents are safe in accredited centers / M. S. Altieri, A. Pryor, A. Bates et al. *Surgery for obesity and related diseases*. 2018. Vol. 14, Iss. 9. P. 1368-1372. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2018.04.004>
- [3] Rutledge R. The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. *Obesity surgery*. 2001. Vol. 11, Iss. 3. P. 276-280. <https://doi.org/10.1381/096089201321336584>
- [4] Deitel M., Hargroder D. Peraglie C. Mini-Gastric Bypass for Bariatric Surgery Increasing Worldwide. *Austin Journal of Surgery*. 2016. Vol. 3, Iss. 3. P. 1092-1096. <https://doi.org/10.26420/austinsurg.2016.1092>
- [5] Controversy surrounding 'mini' gastric bypass / K. K. Mahawar, W. R. Carr, S. Balupuri, P. K. Small. *Obesity surgery*. 2014. Vol. 24, Iss. 2. P. 324-333. <https://doi.org/10.1007/s11695-013-1090-0>
- [6] Efficacy and safety of laparoscopic mini gastric bypass. A systematic review / D. Georgiadou, T. N. Sergentanis, A. Nixon et al. *Surgery for obesity and related diseases*. 2014. Vol. 10, Iss. 5. P. 984-991. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2014.02.009>
- [7] Current status of mini-gastric bypass / Mahawar K. K., P. Kumar, W. R. Carr et al. *Journal of minimal access surgery*. 2016. Vol. 12, Iss. 4. P. 305-310. <https://doi.org/10.4103/0972-9941.181352>
- [8] Effects of omega-loop bypass on esophago-gastric junction function / S. Tolone, S. Cristiano, E. Savarino et al. *Surgery for obesity and related diseases*. 2016. Vol. 12, Iss. 1. P. 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2015.03.011>
- [9] High-resolution Impedance Manometry after Sleeve Gastrectomy: Increased Intra-gastric Pressure and Reflux are Frequent Events / F. Mion, S. Tolone, A. Garros et al. *Obesity surgery*. 2016. Vol. 26, Iss. 10. P. 2449-2456. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2127-y>
- [10] Commentary: Cancer after the OAGB-MGB / R. Rutledge, M. Deitel, M. A. Carbajo et al. *Obesity surgery*, 2020. Vol. 30, Iss. 2. P. 755-758. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04313-5>
- [11] IFSO Worldwide Survey 2016: Primary, Endoluminal, and Revisional Procedures / L. Angrisani, A. Santonicola, P. Iovino et al. *Obesity surgery*. 2018. Vol. 28, Iss. 12. P. 3783-3794. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3450-2>
- [12] Parmar C. D., Mahawar K. K. One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass Is Now an Established Bariatric Procedure: a Systematic Review of 12,807 Patients. *Obesity surgery*. 2018. Vol. 28, Iss. 9. P. 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3382-x>
- [13] Bruzzi M., Chevallier J. M., Czernichow S. One-Anastomosis Gastric Bypass: Why Biliary Reflux Remains Controversial?. *Obesity surgery*. 2017. Vol. 27, Iss. 2. P. 545-547. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2480-x>
- [14] Модифицированное антирефлюксное моноанастомозное лапароскопическое шунтирование желудка в хирургии морбидного ожирения / А. В. Клименко, В. Н. Клименко, А. И. Белай, М. В. Николаев. *Запорожский медицинский журнал*. 2020. Т. 22, № 5. С. 676-681. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214741>
- [15] Bile reflux after one anastomosis gastric bypass surgery: A review study / B. Kelelidari, M. M. Dehkordi, M. S. Shahraiki et al. *Annals of medicine and surgery*. 2021. Vol. 64. P. 102248. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102248>
- [16] Bile Reflux Scintigraphy After Mini-Gastric Bypass / T. Saarinen, J. Räsänen, J. Salo et al. *Obesity surgery*. 2017. Vol. 27, Iss. 8. P. 2083-2089. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2608-7>
- [17] Utilization of wireless pH monitoring technologies: a summary of the proceedings from the esophageal diagnostic working group / J. E. Richter, Pandolfino J. E., M. F. Vela et al. *Diseases of the esophagus*. 2013. Vol. 26, Iss. 8. P. 755-765. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2050.2012.01384.x>
- [18] Sifrim D. Management of bile reflux. *Gastroenterology & hepatology*, 2013. Vol. 9, Iss. 3. P. 179-180.
- [19] Development of the GERdQ, a tool for the diagnosis and management of gastro-oesophageal reflux disease in primary care / R. Jones, O. Junghard, J. Dent et al. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2009. Vol. 30, Iss. 10. P. 1030-1038. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04142.x>
- [20] Complications Following the Mini/One Anastomosis Gastric Bypass (MGB/OAGB): a Multi-institutional Survey on 2678 Patients with a Mid-term (5 Years) Follow-up / M. Musella, A. Susa, E. Manno et al. *Obesity surgery*. 2017. Vol. 27, Iss. 11. P. 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2726-2>
- [21] Vaezi M. F., Richter J. E. Duodenogastroesophageal reflux and methods to monitor nonacidic reflux. *The American journal of medicine*. 2001. Vol. 111, Suppl. 8A. P. 160S-168S. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00827-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00827-0)
- [22] Esophago-gastric cancer after bariatric surgery: systematic review of the literature / G. Scozzari, R. Trapani, M. Toppino, M. Morino. *Surgery for obesity and related diseases*. 2013. Vol. 9, Iss. 1. P. 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2012.10.002>
- [23] Nau P., Rattner D. W., Meireles O. Linitis plastica presenting two years after elective Roux-en-Y gastric bypass for treatment of morbid obesity: a case report and review of the literature. *Surgery for obesity and related diseases*. 2014. Vol. 10, Iss. 2. P. e15-e17. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2013.06.015>
- [24] Scheepers A. F., Schoon E. J., Nienhuijs S. W. Esophageal carcinoma after sleeve gastrectomy. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 2011. Vol. 7, Iss. 4. P. 11-12. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2010.09.019>
- [25] Angrisani L., Santonicola A., Iovino P. Gastric cancer: a de novo diagnosis after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Surgery for obesity and related diseases*. 2014. Vol. 10, Iss. 1. P. 186-187. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2013.09.009>
- [26] Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux / D. Sifrim, D. Castell, J. Dent, P. J. Kahrlas. *Gut*. 2004. Vol. 53, Iss. 7. P. 1024-1031. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.033290>
- [27] Oropharyngeal pH Testing Does Not Predict Response to Proton Pump Inhibitor Therapy in Patients with Laryngeal Symptoms / R. Yadlapati, J. E. Pandolfino, A. K. Lidder et al. *The American journal of gastroenterology*. 2016. Vol. 111, Iss. 11. P. 1517-1524. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.145>
- [28] A study with pharyngeal and esophageal 24-hour pH-impedance monitoring in patients with laryngopharyngeal symptoms refractory to proton pump inhibitors / C. Dulery, A. Lechot, S. Roman et al. *Neurogastroenterology and motility*. 2017. Vol. 29, Iss. 1. P. 10.1111/nmo.12909. <https://doi.org/10.1111/nmo.12909>
- [29] Analyses of the Post-reflux Swallow-induced Peristaltic Wave Index and Nocturnal Baseline Impedance Parameters Increase the Diagnostic Yield of Impedance-pH Monitoring of Patients With Reflux Disease / M. Frazzoni, E. Savarino, N. de Bortoli et al. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2016. Vol. 14, Iss. 1. P. 40-46. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.06.026>
- [30] Distal mean nocturnal baseline impedance on pH-impedance monitoring predicts reflux burden and symptomatic outcome in gastro-oesophageal reflux disease / A. Patel, D. Wang, N. Sainani et al. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2016. Vol. 44, Iss. 8. P. 890-898. <https://doi.org/10.1111/apt.13777>
- [31] Impairment of chemical clearance and mucosal integrity distinguishes hypersensitive esophagus from functional heartburn / M. Frazzoni, N. de Bortoli, L. Frazzoni et al. *Journal of gastroenterology*. 2017. Vol. 52, Iss. 4. P. 444-451. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1226-9>
- [32] The added diagnostic value of postreflux swallow-induced peristaltic wave index and nocturnal baseline impedance in refractory reflux disease studied with on-therapy impedance-pH monitoring / M. Frazzoni, N. de Bortoli, L. Frazzoni et al. *Neurogastroenterology and motility*. 2017. Vol. 29, Iss. 3. P. 10.1111/nmo.12947. <https://doi.org/10.1111/nmo.12947>
- [33] Диагностика гастроэзофагеальных рефлюксов при помощи системы комбинированного pH-мониторинга пищевода и желудка высокого разрешения / В. Н. Чернобровый, С. Г. Мелашенко, О. А. Ксенчин, Е. В. Залужная. Матер. XXI Объед. Рос. Гастроэнтели. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2015. Т. 25, № 5, прил. 46. С. 14.
- [34] Salama T., Hassan M. I. Incidence of Biliary Reflux Esophagitis After Laparoscopic Omega Loop Gastric Bypass in Morbidly Obese Patients. *Journal of laparoendoscopic & advanced surgical techniques. Part A*. 2017. Vol. 27, Iss. 6. P. 618-622. <https://doi.org/10.1089/lap.2016.0401>
- [35] Efficacy and safety of one anastomosis gastric bypass versus Roux-en-Y gastric bypass for obesity (YOMEGA): a multicentre, randomised, open-label, non-inferiority trial / M. Robert, P. Espalieu, E. Pelascini et al. *Lancet*. 2019. Vol. 393, Iss. 10178. P. 1299-1309. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30475-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30475-1)
- [36] Laparoscopic Roux-en-Y versus mini-gastric bypass for the treatment of morbid obesity: a prospective randomized controlled clinical trial / W. J. Lee, P. J. Yu, W. Wang et al. *Annals of surgery*. 2005. Vol. 242, Iss. 1. P. 20-28. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000167762.46568.98>
- [37] Randomized Controlled Trial of One Anastomosis Gastric Bypass Versus Roux-En-Y Gastric Bypass for Obesity: Comparison of the YOMEGA and Taiwan Studies / W. J. Lee, O. M. Almalki, K. H. Ser et al. *Obesity surgery*. 2019. Vol. 29, Iss. 9. P. 3047-3053. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04065-2>
- [38] Understanding Objections to One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass: A Survey of 417 Surgeons Not Performing this Procedure / K. K. Mahawar, C. M. Borg, Kular K. S. et al. *Obesity surgery*. 2017. Vol. 27, Iss. 9. P. 2222-2228. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2663-0>
- [39] Parmar C. D., Mahawar K. K. One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass Is Now an Established Bariatric Procedure: a Systematic Review of 12,807 Patients. *Obesity surgery*. 2018. Vol. 28, Iss. 9. P. 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3382-x>

- [40] Bile Reflux Scintigraphy After Mini-Gastric Bypass / T. Saarinen, J. Räsänen, J. Salo et al. *Obesity surgery*. 2017. Vol. 27, Iss. 8. P. 2083-2089. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2608-7>
- [41] Bile Reflux is a Common Finding in the Gastric Pouch After One Anastomosis Gastric Bypass / T. Saarinen, K. H. Pietiläinen, A. Loimaala et al. *Obesity surgery*. 2020. Vol. 30, Iss. 3. P. 875-881. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04353-x>
- ### References
- [1] Fried, M., Yumuk, V., Opper, J. M., Scopinaro, N., Torres, A. J., Weiner, R., Yashkov, Y., Frühbeck, G., European Association for the Study of Obesity, & International Federation for the Surgery of Obesity – European Chapter (2013). Interdisciplinary European Guidelines on metabolic and bariatric surgery. *Obesity facts*, 6(5), 449-468. <https://doi.org/10.1159/000355480>
- [2] Altieri, M. S., Pryor, A., Bates, A., Docimo, S., Talamini, M., & Spaniolas, K. (2018). Bariatric procedures in adolescents are safe in accredited centers. *Surgery for obesity and related diseases*, 14(9), 1368-1372. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2018.04.004>
- [3] Rutledge R. (2001). The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. *Obesity surgery*, 11(3), 276-280. <https://doi.org/10.1381/096089201321336584>
- [4] Deitel, M., Hargroder, D. & Peraglie, C. (2016). Mini-Gastric Bypass for Bariatric Surgery Increasing Worldwide. *Austin Journal of Surgery*, 3(3), 1092-1096. <https://doi.org/10.26420/austinjnsurg.2016.1092>
- [5] Mahawar, K. K., Carr, W. R., Balupuri, S., & Small, P. K. (2014). Controversy surrounding 'mini' gastric bypass. *Obesity surgery*, 24(2), 324-333. <https://doi.org/10.1007/s11695-013-1090-0>
- [6] Georgiadou, D., Sergentanis, T. N., Nixon, A., Diamantis, T., Tsigris, C., & Psaltopoulou, T. (2014). Efficacy and safety of laparoscopic mini gastric bypass. A systematic review. *Surgery for obesity and related diseases*, 10(5), 984-991. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2014.02.009>
- [7] Mahawar, K. K., Kumar, P., Carr, W. R., Jennings, N., Schroeder, N., Balupuri, S., & Small, P. K. (2016). Current status of mini-gastric bypass. *Journal of minimal access surgery*, 12(4), 305-310. <https://doi.org/10.4103/0972-9941.181352>
- [8] Tolone, S., Cristiano, S., Savarino, E., Lucido, F. S., Fico, D. I., & Docimo, L. (2016). Effects of omega-loop bypass on esophago-gastric junction function. *Surgery for obesity and related diseases*, 12(1), 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2015.03.011>
- [9] Mion, F., Tolone, S., Garros, A., Savarino, E., Pelascini, E., Robert, M., Poncet, G., Valette, P. J., Marjoux, S., Docimo, L., & Roman, S. (2016). High-resolution Impedance Manometry after Sleeve Gastrectomy: Increased Intra-gastric Pressure and Reflux are Frequent Events. *Obesity surgery*, 26(10), 2449-2456. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2127-y>
- [10] Rutledge, R., Deitel, M., Carbajo, M. A., Luque-de-Leon, E., Chiappetta, S., Inam, A., Rheinwald, K., Prasad, A., Hargroder, D. E., Samoylov, V., Ozmen, M. M., Parmar, C., Albuquerque, A., Jammu, G., Ustun, M., Sakran, N., Aktimur, R., Khan, A., Hamza, Y., Rotundo, A., ... Abbas, I. (2020). Commentary: Cancer after the OAGB-MGB. *Obesity surgery*, 30(2), 755-758. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04313-5>
- [11] Angrisani, L., Santonicola, A., Iovino, P., Vitiello, A., Higa, K., Himpen, J., Buchwald, H., & Scopinaro, N. (2018). IFSO Worldwide Survey 2016: Primary, Endoluminal, and Revisional Procedures. *Obesity surgery*, 28(12), 3783-3794. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3450-2>
- [12] Parmar, C. D., & Mahawar, K. K. (2018). One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass Is Now an Established Bariatric Procedure: a Systematic Review of 12,807 Patients. *Obesity surgery*, 28(9), 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3382-x>
- [13] Bruzzi, M., Chevallier, J. M., & Czernichow, S. (2017). One-Anastomosis Gastric Bypass: Why Biliary Reflux Remains Controversial?. *Obesity surgery*, 27(2), 545-547. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2480-x>
- [14] Klymenko, A. V., Klymenko, V. M., Bilai, A. I., & Nikolaiev, M. V. (2020). Modifitsirovannoe antireflyuknoe monoanastomoznoe laparoskopicheskoe shuntirovanie zheludka v khirurgii morbidnogo ozhireniya [Modified antireflux monoanastomotic laparoscopic gastric bypass in morbid obesity surgery]. *Zaporozhye medical journal*, 22(5), 676-681. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.5.214741>
- [15] Keleidar, B., Dehkordi, M. M., Shahraki, M. S., Ahmadi, Z. S., Heidari, M., Hajian, A., & Nasaj, H. T. (2021). Bile reflux after one anastomosis gastric bypass surgery: A review study. *Annals of medicine and surgery*, 64, 102248. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102248>
- [16] Saarinen, T., Räsänen, J., Salo, J., Loimaala, A., Pitkonen, M., Leivonen, M., & Juuti, A. (2017). Bile Reflux Scintigraphy After Mini-Gastric Bypass. *Obesity surgery*, 27(8), 2083-2089. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2608-7>
- [17] Richter, J. E., Pandolfino, J. E., Vela, M. F., Kahrilas, P. J., Lacy, B. E., Ganz, R., Dengler, W., Oelschläger, B. K., Peters, J., DeVault, K. R., Fass, R., Gyawali, C. P., Conklin, J., DeMeester, T., & Esophageal Diagnostic Working Group (2013). Utilization of wireless pH monitoring technologies: a summary of the proceedings from the esophageal diagnostic working group. *Diseases of the esophagus*, 26(8), 755-765. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2050.2012.01384.x>
- [18] Sifrim D. (2013). Management of bile reflux. *Gastroenterology & hepatology*, 9(3), 179-180.
- [19] Jones, R., Junghard, O., Dent, J., Vakli, N., Halling, K., Wernersson, B., & Lind, T. (2009). Development of the GerdQ, a tool for the diagnosis and management of gastro-oesophageal reflux disease in primary care. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 30(10), 1030-1038. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04142.x>
- [20] Musella, M., Susa, A., Manno, E., De Luca, M., Greco, F., Raffaelli, M., Cristiano, S., Milone, M., Bianco, P., Vilardi, A., Damiano, I., Segato, G., Pedretti, L., Giustacchini, P., Fico, D., Veroux, G., & Piazza, L. (2017). Complications Following the Mini/One Anastomosis Gastric Bypass (MGB/OAGB): a Multi-institutional Survey on 2678 Patients with a Mid-term (5 Years) Follow-up. *Obesity surgery*, 27(11), 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2726-2>
- [21] Vaezi, M. F., & Richter, J. E. (2001). Duodenogastroesophageal reflux and methods to monitor nonacidic reflux. *The American journal of medicine*, 111 Suppl 8A, 160S-168S. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00827-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00827-0)
- [22] Scozzari, G., Trapani, R., Toppino, M., & Morino, M. (2013). Esophago-gastric cancer after bariatric surgery: systematic review of the literature. *Surgery for obesity and related diseases*, 9(1), 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2012.10.002>
- [23] Nau, P., Rattner, D. W., & Meireles, O. (2014). Linitis plastica presenting two years after elective Roux-en-Y gastric bypass for treatment of morbid obesity: a case report and review of the literature. *Surgery for obesity and related diseases*, 10(2), e15-e17. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2013.06.015>
- [24] Scheepers, A. F., Schoon, E. J., & Nienhuijs, S. W. (2011). Esophageal carcinoma after sleeve gastrectomy. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 7(4), 11-12. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2010.09.019>
- [25] Angrisani, L., Santonicola, A., & Iovino, P. (2014). Gastric cancer: a de novo diagnosis after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Surgery for obesity and related diseases*, 10(1), 186-187. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2013.09.009>
- [26] Sifrim, D., Castell, D., Dent, J., & Kahrilas, P. J. (2004). Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux. *Gut*, 53(7), 1024-1031. <https://doi.org/10.1136/gut.2003.033290>
- [27] Yadlapati, R., Pandolfino, J. E., Lidder, A. K., Shabeeb, N., Jayeola, D. M., Adkins, C., Agrawal, N., Cooper, A., Price, C. P., Ciolino, J. D., Gawron, A. J., Smith, S. S., Bove, M., & Tan, B. K. (2016). Oropharyngeal pH Testing Does Not Predict Response to Proton Pump Inhibitor Therapy in Patients with Laryngeal Symptoms. *The American journal of gastroenterology*, 111(11), 1517-1524. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.145>
- [28] Dulery, C., Lechot, A., Roman, S., Bastier, P. L., Stoll, D., de Gabory, L., & Zerbib, F. (2017). A study with pharyngeal and esophageal 24-hour pH-impedance monitoring in patients with laryngopharyngeal symptoms refractory to proton pump inhibitors. *Neurogastroenterology and motility*, 29(1), 10.1111/nmo.12909. <https://doi.org/10.1111/nmo.12909>
- [29] Frazzoni, M., Savarino, E., de Bortoli, N., Martinucci, I., Furnari, M., Frazzoni, L., Mirante, V. G., Bertani, H., Marchi, S., Conigliaro, R., & Savarino, V. (2016). Analyses of the Post-reflux Swallow-Induced Peristaltic Wave Index and Nocturnal Baseline Impedance Parameters Increase the Diagnostic Yield of Impedance-pH Monitoring of Patients With Reflux Disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 14(1), 40-46. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.06.026>
- [30] Patel, A., Wang, D., Sainani, N., Sayuk, G. S., & Gyawali, C. P. (2016). Distal mean nocturnal baseline impedance on pH-impedance monitoring predicts reflux burden and symptomatic outcome in gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 44(8), 890-898. <https://doi.org/10.1111/apt.13777>
- [31] Frazzoni, M., de Bortoli, N., Frazzoni, L., Furnari, M., Martinucci, I., Tolone, S., Farioli, A., Marchi, S., Fuccio, L., Savarino, V., & Savarino, E. (2017). Impairment of chemical clearance and mucosal integrity distinguishes hypersensitive esophagus from functional heartburn. *Journal of gastroenterology*, 52(4), 444-451. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1226-9>
- [32] Frazzoni, M., de Bortoli, N., Frazzoni, L., Tolone, S., Furnari, M., Martinucci, I., Mirante, V. G., Marchi, S., Savarino, V., & Savarino, E. (2017). The added diagnostic value of postreflux swallow-induced peristaltic wave index and nocturnal baseline impedance in refractory reflux disease studied with on-therapy impedance-pH monitoring. *Neurogastroenterology and motility*, 29(3), 10.1111/nmo.12947. <https://doi.org/10.1111/nmo.12947>
- [33] Chemobrovyy, V. N., Melashchenko, S. G., Ksenchin, O. A., & Zalu-zhnaya, E. V. (2015). Diagnostika gastroezofageal'nykh reflyuksov pri pomoshchi sistemy kombinirovannogo rN-monitoringa pishchevoda i zheludka vysokogo razresheniya [Diagnostics of gastroesophageal refluxes using the system of combined pH-monitoring of the esophagus and stomach high resolution]. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii*,

- gepatologii, koloproktologii*, 25(5, Suppl 4), 14. [in Russian].
- [34] Salama, T., & Hassan, M. I. (2017). Incidence of Biliary Reflux Esophagitis After Laparoscopic Omega Loop Gastric Bypass in Morbidly Obese Patients. *Journal of laparoendoscopic & advanced surgical techniques. Part A*, 27(6), 618-622. <https://doi.org/10.1089/lap.2016.0401>
- [35] Robert, M., Espalieu, P., Pelascini, E., Caiazzo, R., Sterkers, A., Khamphommala, L., Poghosyan, T., Chevallier, J. M., Malherbe, V., Chouillard, E., Reche, F., Torcivia, A., Maucourt-Boulch, D., Bin-Dorel, S., Langlois-Jacques, C., Delaunay, D., Pattou, F., & Disse, E. (2019). Efficacy and safety of one anastomosis gastric bypass versus Roux-en-Y gastric bypass for obesity (YOMEGA): a multicentre, randomised, open-label, non-inferiority trial. *Lancet (London, England)*, 393(10178), 1299-1309. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30475-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30475-1)
- [36] Lee, W. J., Yu, P. J., Wang, W., Chen, T. C., Wei, P. L., & Huang, M. T. (2005). Laparoscopic Roux-en-Y versus mini-gastric bypass for the treatment of morbid obesity: a prospective randomized controlled clinical trial. *Annals of surgery*, 242(1), 20-28. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000167762.46568.9b>
- [37] Lee, W. J., Almalki, O. M., Ser, K. H., Chen, J. C., & Lee, Y. C. (2019). Randomized Controlled Trial of One Anastomosis Gastric Bypass Versus Roux-En-Y Gastric Bypass for Obesity: Comparison of the YOMEGA and Taiwan Studies. *Obesity surgery*, 29(9), 3047-3053. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04065-2>
- [38] Mahawar, K. K., Borg, C. M., Kular, K. S., Courtney, M. J., Sillah, K., Carr, W., Jennings, N., Madhok, B., Singhal, R., & Small, P. K. (2017). Understanding Objections to One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass: A Survey of 417 Surgeons Not Performing this Procedure. *Obesity surgery*, 27(9), 2222-2228. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2663-0>
- [39] Parmar, C. D., & Mahawar, K. K. (2018). One Anastomosis (Mini) Gastric Bypass Is Now an Established Bariatric Procedure: a Systematic Review of 12,807 Patients. *Obesity surgery*, 28(9), 2956-2967. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3382-x>
- [40] Saarinen, T., Räsänen, J., Salo, J., Loimaala, A., Pitkonen, M., Leivonen, M., & Juuti, A. (2017). Bile Reflux Scintigraphy After Mini-Gastric Bypass. *Obesity surgery*, 27(8), 2083-2089. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2608-7>
- [41] Saarinen, T., Pietiläinen, K. H., Loimaala, A., Ihalainen, T., Sammalkorpi, H., Penttilä, A., & Juuti, A. (2020). Bile Reflux is a Common Finding in the Gastric Pouch After One Anastomosis Gastric Bypass. *Obesity surgery*, 30(3), 875-881. <https://doi.org/10.1007/s11695-019-04353-x>

Періопераційний метаболізм у хворих на вторинний гіперпаратиреоз і способи його корекції

А. І. Денисенко *A,B,C,D, В. І. Черній C,D,E,F

Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, м. Київ, Україна

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

Актуальним є вивчення змін метаболізму у хворих на вторинний гіперпаратиреоз (ВГПТ) при паратиреоїдних хірургічних втручаннях (ПТХВ) і пошуки способів їхньої корекції.

Мета роботи – вивчити метаболізм у хворих на ВГПТ при ПТХВ, оцінити можливості його корекції.

Матеріали та методи. Виконали проспективне нерандомізоване дослідження. Обстежили 135 хворих на ВГПТ із термінальною стадією хронічної ниркової недостатності, яким виконали ПТХВ (72 чоловіки, 63 жінки віком 19–73 роки). Передопераційний ризик ASA – III–IV. Здійснили загальне знеболювання з використанням інгаляційного анестетика севофлурану та наркотичного анальгетика фентанілу в умовах низькопоточної штучної вентиляції легень. Операційний моніторинг доповнений непрямю калориметрією. У I групі (n = 70) визначали поточний (ПМ) і базальний метаболізм (БМ) на тлі стандартної інтенсивної терапії. У II групі (n = 65) додатково визначали цільовий метаболізм (ЦМ) і ступінь порушення метаболізму (СПМ = $(\text{ЦМ} - \text{ПМ})/\text{ЦМ} \times 100\%$), а до інтенсивної терапії додано глюкокортикоїди.

Результати. Вихідні значення метаболізму в обох групах низькі, близькі до базального рівня. Метаболізм пацієнтів групи I залишався низьким протягом усього ПТХВ (p < 0,05). У групі II з етапу видалення паращитоподібних залоз спостерігали стійке зростання поточного метаболізму з суттєвим перевищенням вихідного та базального рівнів (p < 0,05). Цільовий метаболізм знижувався, але перевищував рівень поточного метаболізму (p < 0,05). Пацієнти групи II швидше прокидалися, їх швидше переводили в палату порівняно з I групою, а нудота та блювота у них були у 2,5 раза рідше (9,2 % у групі II, 22,9 % у групі I, p < 0,05). Через 12 годин після ПТХВ відчуття болю за шкалою ВАШ у II групі було нижчим, ніж у I групі (p < 0,05).

Упродовж доби після ПТХВ кислотно-лужний стан венозної крові пацієнтів обох груп суттєво не змінювався, а рівень іонізованого кальцію знижувався (p < 0,05); це зумовило необхідність додаткового внутрішньовенного введення 10 % глюконату кальцію.

Висновки. Періопераційний енергомоніторинг робить безпечнішим виконання ПТХВ у пацієнтів із ВГПТ. Додаткове визначення цільового метаболізму та ступеня порушення метаболізму дає змогу ефективніше будувати інтенсивну терапію.

Ключові слова: періопераційний енергомоніторинг, поточний метаболізм, базальний метаболізм, цільовий метаболізм, порушення метаболізму.

Патологія. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 321-327

*E-mail: anatomyden@gmail.com

Perioperative metabolism in patients with secondary hyperparathyroidism and methods of its correction

A. I. Denysenko, V. I. Cherniy

It is important to study changes in metabolism in patients with secondary hyperparathyroidism (SHPT) during parathyroid surgical interventions (PTSI), as well as to search for ways to correct them.

Aim. To study metabolism in patients with SHPT with PTSI and assess the possibilities of its correction.

Materials and methods. The study was prospective, not randomized. We studied 135 patients with SHPT with end-stage chronic renal failure who underwent PTSI (72 men and 63 women, aged from 19 to 73 years). Preoperative risk ASA III–IV. General anesthesia using the inhalation anesthetic sevoflurane and the narcotic analgesic fentanyl in low-flow mechanical ventilation. Operational monitoring was complemented by the use of indirect calorimetry. In group I (n = 70), the metabolic rate (MR) and basal metabolism rate (BMR) were determined against the background of standard intensive therapy. In group II (n = 65) – target metabolic rate (TMR) and the metabolic disorders (MD) were additionally determined, and intensive therapy was supplemented with glucocorticoids.

Results. The baseline MR in both groups were low, close to BMR. The MR of patients in group I remained low during the entire PTSI (P < 0.05). In group II, from the stage of removal of the parathyroid glands, a steady increase in the MR, with a significant excess of the baseline MR and BMR (P < 0.05), was noted. TMR decreased while exceeding the MR. Group II patients woke up and were transferred to the ward faster compared to group I, and nausea and vomiting were 2.5 times less frequent (9.2 % in group II, 22.9 % in group I). 12 hours after PTSI, feeling of pain, according to the VAS scale, was lower than in group I (P < 0.05). During the day after PTSI, the indicators of the acid-base state of the venous blood of both groups did not change significantly, and the level of ionized calcium decreased (P < 0.05), which required additional intravenous administration of 10 % calcium gluconate.

Conclusions. Perioperative energy monitoring makes it safer to carry out PTSI in patients with SHPT. Additional definition of the TMR and the MD allows for more efficient construction of intensive therapy.

Key words: perioperative energy monitoring, metabolism, basal metabolic rate, metabolic disorders.

Pathologia 2021; 18 (3), 321-327

Ключевые слова: периперационный энергомониторинг, текущий метаболизм, базальный метаболизм, целевой метаболизм, нарушения метаболизма.

Патология. 2021. Т. 18, № 3(53). С. 321-327

Периоперационный метаболизм у больных вторичным гиперпаратиреозом и способы его коррекции

А. И. Денисенко, В. И. Черний

Актуально изучение изменений метаболизма у больных вторичным гиперпаратиреозом (ВГПТ) при паратиреоидных хирургических вмешательствах (ПТХВ), а также поиск способов их коррекции.

Цель работы – изучить метаболизм у больных ВГПТ при ПТХВ, оценить возможности его коррекции.

Материалы и методы. Провели проспективное нерандомизированное исследование. Обследовали 135 больных ВГПТ с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, которым выполнено ПТХВ (72 мужчины, 63 женщины в возрасте 19–73 года). Предоперационный риск ASA – III–IV. Провели общее обезболивание с использованием ингаляционного анестетика севофлурана и наркотического анальгетика фентанила в условиях низкотоочной искусственной вентиляции лёгких. Операционный мониторинг дополнен непрямой калориметрией. В I группе (n = 70) определяли текущий (ТМ) и базальный метаболизм (БМ) на фоне стандартной интенсивной терапии. В II группе (n = 65) дополнительно устанавливали целевой метаболизм (ЦМ) и степень нарушения метаболизма (СНМ = (ЦМ – ТМ)/ЦМ × 100 %), а интенсивная терапия дополнена глюкокортикоидами.

Результаты. Исходные значения метаболизма в обеих группах низкие, близки к базальному уровню. Метаболизм пациентов группы I оставался низким в течение всего ПТХВ (p < 0,05). В II группе с этапа удаления паращитовидных желез наблюдали устойчивый рост текущего метаболизма с существенным превышением исходного и базального уровней (p < 0,05). Целевой метаболизм снижался, но превышал уровень текущего. Пациенты II группы быстрее просыпались, их быстрее переводили в палату по сравнению с I группой, а тошнота и рвота у них была в 2,5 раза реже (9,2 % в группе II, 22,9 % в группе I). Через 12 часов после ПТХВ ощущение боли по шкале ВАШ было ниже, чем в I группе (p < 0,05). На протяжении суток после ПТХВ показатели кислотно-щелочного состояния венозной крови пациентов обеих групп существенно не менялись, а уровень ионизированного кальция снижался (p < 0,05), что потребовало дополнительного внутривенного введения 10 % глюконата кальция.

Выводы. Периоперационный энергомониторинг делает более безопасным проведение ПТХВ у пациентов ВГПТ. Дополнительное определение целевого метаболизма и степени нарушения метаболизма позволяет эффективнее строить интенсивную терапию.

У світі сучасних технологій Fast Track хірургії, що стали більш малоінвазивними, кровозберігальними та суттєво зменшили додаткові до нозогенних неминучі анатомічні ураження та об'єм операційної крововтрати, анестезіологічне забезпечення та періопераційна інтенсивна терапія стали відігравати важливішу роль [1–3]. Це дає змогу зменшувати наркотичний потенціал анестезіологічних забезпечень та обмежувати об'єм інфузійно-трансфузійної терапії під час оперативних втручань [4,5]. Але зниження модальності основних періопераційних стресорів може тільки мінімізувати операційні ризики та безпосередні фінансові витрати на хірургічне лікування, суттєво не впливаючи на нешокогенні стрес-уражальні фактори, основний із них – порушення періопераційного енергокисневого забезпечення та метаболізму [6,7]. Оpubліковано низку робіт, де показано: періопераційний моніторинг поточної енергопродукції та її енергозабезпечення – дуже важлива складова безпеки періопераційних анестезіологічних технологій [6–9].

Пацієнтів із хронічною хворобою нирок (ХХН) та проявами хронічної ниркової недостатності (ХНН), особливо в її термінальній стадії, вважають найнебезпечнішими щодо розвитку гіпометаболізму [10]. Це, як правило, тяжкі «інвалідизовані» пацієнти з ураженнями багатьох органів і систем, яким здійснюють програмний гемодіаліз [11,12].

У низці робіт наведено: в пацієнтів із ХНН, які отримують тривале (понад 50 місяців) лікування програмним гемодіалізом, спостерігають пригнічення функції надниркових залоз, порушення метаболізму, діагностують метаболічний ацидоз, що потребує відповідної корекції та посилення інтенсивності гемодіалізу

[10,13–15]. Паратиреоїдні хірургічні втручання (ПТХВ) при ХХН застосовують уже давно, вони схвалені як концепція лікування вторинного гіперпаратиреозу (ВГПТ). Більшість пацієнтів, яким виконують ПТХВ при ВГПТ, перебувають на діалізі (76 % у США у 2002–2011 рр.) [10].

Раніше опублікували клінічний матеріал щодо анестезіологічного забезпечення в нашій клініці під час 237 операцій у 214 пацієнтів із ВГПТ унаслідок ХХН у термінальній стадії ХНН, які перебували на програмному гемодіалізі [10]. У цих умовах виконання операцій на паращитоподібних залозах – складне завдання для анестезіолога, потребує досконалого вивчення періопераційних змін метаболізму та його корекції за необхідності.

Мета роботи

Вивчити метаболізм у хворих на ВГПТ при ПТХВ, оцінити можливості його корекції.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на базі хірургічного центру Державної наукової установи «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами (м. Київ, Україна) відповідно до стандартів належної клінічної практики (Good Clinical Practice) і принципів Гельсінської декларації, використали лабораторно-технічні можливості установи. Усі пацієнти підписували добровільну інформовану згоду на обстеження, виконання аналізів, лікування, здійснення операції, знеболювання та опрацювання

результатів. Дозвіл на виконання дослідження та протокол дослідження схвалений комісією з питань біоетики установи.

Здійснили проспективне нерандомізоване дослідження. У групу дослідження ($n = 135$) залучили пацієнтів із проявами ВГПТ тяжкого ступеня (зумовлений термінальною стадією ХНН унаслідок ХХН), котрим виконали ПТХВ. Вік хворих – 19–73 роки, функціональний клас за ASA – III–IV, 72 (53,3 %) чоловіки, 63 (46,7 %) жінки. Пацієнтів до операції обстежили, вони отримували лікування, що передбачало програмований гемодіаліз тричі на тиждень, двічі щоденно безпосередньо перед операцією. Основні причини виникнення ХХН – вади нирок, полікістоз, хронічний гломерулонефрит, сечокам'яна хвороба, хронічний пієлонефрит. У 28 (22,1 %) пацієнтів фіксували прояви порушення обміну сечовою кислотою (подагра). Рівень паратгормона крові становив 850–5000 пг/мл, креатиніну – 720–1580 мкмоль/л. У групу дослідження не включали пацієнтів із тяжкою цереброваскулярною патологією, які мали органічну неврологічну симптоматику, а також хворих на дилатаційну кардіоміопатію та ішемічну хворобу серця IV функціонального класу, з фракцією викиду серця менше ніж 35 %. Під час передопераційного обстеження, підготовки до оперативного втручання, анестезіологічного забезпечення та періопераційної інтенсивної терапії вживали всіх заходів, що передбачені протоколом лікування хворих на ВГПТ, схваленим у лікувальному закладі [10].

Усім хворим виконали субтотальні паратиреоїдектомії під загальним знеболюванням, використавши інгаляційний анестетик севофлуран і наркотичний анальгетик фентаніл в умовах низькопоточної штучної вентиляції легень наркозно-дихальним апаратом Dräger Fabius Tiro (Dräger, Germany) згідно з Міжнародними стандартами безпечної анестезіологічної практики WFSA (World Federation Of Societies of Anesthesiologists, 2010). Моніторинг вентиляційних показників, газового складу дихальної суміші, показників серцево-судинної системи, температури тіла, нервово-м'язової провідності та глибини наркозу виконали вбудованим монітором наркозно-дихального апарата та біомонітором Infinity Delta (Dräger, Germany). Газовий склад і кислотно-лужний стан крові визначали аналізатором Cobas b 221 (Roche Diagnostics GmbH, Germany, Austria). Показники центральної гемодинаміки – способом, що ґрунтується на формулі Starr у модифікації І. Б. Заболотських і співавт. (патент № 2186520 (РФ) А61В5/029, 2002), який є високоточним і дає змогу отримувати дані, максимально наближені до дійсних, у режимі реального часу.

Усім пацієнтам, крім загальноприйнятого періопераційного моніторингу, додатково виконали енергомоніторинг, застосували непряму калориметрію та визначили індекс поточного метаболізму (MRI, $\text{кал} \times \text{хв}^{-1} \times \text{м}^2$), який порівнювали з вихідними значеннями та базальним рівнем метаболізму (BMRI, $\text{кал} \times \text{хв}^{-1} \times \text{м}^2$) [8].

Пацієнтів поділили на дві групи. У першій ($n = 70$) періопераційна інтенсивна терапія спрямована на підтримку та корекцію основних показників життєво важливих функцій згідно з Міжнародними стандартами

безпечної анестезіологічної практики (WFSA, 2010). Основний напрям періопераційної інтенсивної терапії у II групі ($n = 65$) – корекція метаболізму шляхом оптимізації показників вентиляції, газообміну, гемодинаміки, кислотно-лужного стану крові та використання глюкокортикоїдів, враховуючи динаміку змін метаболізму та визначення тяжкості порушень. Підґрунтя відповідної корекції метаболізму в обох групах – підтримка нормального кисневого стану, нормоволемії, нормокардії, оптимальних значень кислотно-лужного стану. З початку оперативного втручання та до видалення паразитоподібних залоз хворі II групи отримували внутрішньовенно (в/в) крапельно 125–250 мг преднізолону (Солу-Медрол) під контролем індексів поточного (MRI) та цільового метаболізму (TMRI); надалі визначали й оцінювали рівень метаболічних порушень (MD). У разі зниження MRI та підвищення TMRI щодо вихідних значень додатково в/в вводили преднізолон (250–500 мг). При значеннях поточного метаболізму, що близькі до базального рівня та нижче за нього, додатково в/в вводили гідрокортизон (Солу-Кортеф) у дозі 125–250 мг.

На етапах дослідження (вихідні дані перед операцією (1 етап), індукція в наркоз (2 етап), мобілізація паразитоподібних залоз (3 етап), їхнє видалення (4 етап), ушивання післяопераційної рани (5 етап), кінець операції (6 етап), пробудження та транспортування в палату (7 етап) визначали середній артеріальний тиск (Mean Blood Pressure, MBP), серцевий індекс (Cardiac Index, CI), доставлення кисню (Oxygen Delivery, DO_2), споживання кисню (Oxygen Uptake, VO_2), коефіцієнт екстракції кисню (Oxygen Extraction Ratio, O_2ER) та дихальний коефіцієнт (Respiratory quotient, RQ, відношення видаленого вуглекислого газу до спожитого кисню). Індекс поточного метаболізму (Metabolic Rate Index, MRI), індекс базального метаболізму (Basal Metabolic Rate Index, BMRI), індекс цільового метаболізму (Target Metabolic Rate Index, TMRI) та тяжкість порушення метаболізму (Metabolic Disorders, MD, %) розраховували за способом, що запропонували [9].

У післяопераційному періоді в пацієнтів оцінювали швидкість пробудження після завершення операції, початок спонтанного розплющення очей, відновлення свідомості, час екстубації трахеї та готовності до переведення в палату (у хвиликах) при 10 балах за шкалою післяопераційного відновлення Aldrete, інцидентність післяопераційної нудоти та блювоти. Післяопераційне знеболювання визначали за візуально-аналоговою шкалою оцінювання болю (ВАШ) відразу після пробудження (1 етап), через 3 години (2 етап), 6 годин (3 етап), 12 годин (4 етап) та через 24 години (5 етап). Крім того, визначали показники кислотно-лужного стану та концентрацію іонізованого кальцію у венозній крові перед операцією та через 24 години після її закінчення.

Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою пакета програм MedStat v.4 (ліцензійний № MS000020). Використовуючи цей програмний пакет, отримали кількісні параметри, перевірили та підтвердили їхню відповідність закону нормального розподілу Гауса за критерієм Шапіро–Вілка. В разі нормального розподілу значень параметрів визначали середне

арифметичне значення (M) і його стандартну похибку (m). Оцінювали значущість відмінностей показників за допомогою критерію Стьюдента (t). Для всіх видів аналізу критичний рівень значущості (p) становив <0,05.

Під час дослідження дотримувалися принципів, що задекларовані в Гельсінській декларації. Робота з хворими людьми підготовлена та проведена відповідно до принципів етики.

Результати

Результати дослідження наведені в *таблицях 1, 2*. Вихідні показники метаболізму в обох групах доволі низькі та близькі до базального рівня – 624 ± 12 кал \times хв⁻¹ \times м² у групі I та 618 ± 13 кал \times хв⁻¹ \times м² у групі II. Показники дихального коефіцієнта в обох групах майже не відрізнялися, становили $0,83 \pm 0,02$ та $0,85 \pm 0,01$ відповідно, що свідчило про однакові умови енергоутворення; цьому відповідає відсутність відмінностей рівня споживання кисню перед оперативним втручанням (125 ± 5 мл \times хв⁻¹ \times м² у I групі та 123 ± 4 мл \times хв⁻¹ \times м² у II групі) (p < 0,05). Пацієнти обох груп перед операцією мали підвищені показники екстракції кисню ($32,7 \pm 0,5$ % у I групі та $32,9 \pm 0,6$ % у II групі); при такому низькому метаболізмі це свідчило про доволі інтенсивне напруження кисневого режиму та наявність енергокисневого боргу, пов'язаного, ймовірно, з низькими показниками центральної гемодинаміки. Так, у I групі CI становив $2,2 \pm 0,1$ л \times хв⁻¹ \times м², а у II групі – $2,1 \pm 0,1$ л \times хв⁻¹ \times м².

У I групі (*табл. 1*) на етапах індукції наркозу, початку операції, мобілізації, видалення паразитоподібних залоз, ушивання рани спостерігали стійке зниження показників гемодинаміки. Так, на момент індукції середній артеріальний тиск знизився на 22,9 % і становив 91 мм рт. ст., продовжував знижуватися до початку мобілізації паразитоподібної залози до 84 мм рт. ст. (p < 0,05). CI на час видалення паразитоподібних залоз знизився на 13,6 % порівняно з вихідним показником і набув значення $1,9 \pm 0,1$ л \times хв⁻¹ \times м², продовжував знижуватися до $1,8 \pm 0,1$ л \times хв⁻¹ \times м² на етапі ушивання рани (на 18,2 % нижче за вихідні значення, p < 0,05). Щодо доставлення кисню, то воно з початку операції, поступово знижуючись, синхронно з показниками гемодинаміки набуло значень 331 ± 14 мл \times хв⁻¹ \times м² на етапі видалення залоз та 314 ± 13 мл \times хв⁻¹ \times м² на етапі ушивання рани; це на 13,4 % і 17,8 % відповідно менше за вихідні значення (p < 0,05). Вихідний метаболізм, будучи низьким, залишався близьким до базального, перевищуючи останній на 6,6 % (p < 0,05). У процесі оперативного втручання метаболізм у цій групі надалі поступово знижувався, на час видалення паразитоподібних залоз, ушивання рани та закінчення операції мав значення 582 ± 11 кал \times хв⁻¹ \times м², 571 ± 11 кал \times хв⁻¹ \times м², 584 ± 12 кал \times хв⁻¹ \times м² відповідно; це на 6,7 %, 8,5 % і 6,4 % менше за вихідне значення (p < 0,05), значущо не відрізняється від базального рівня. На всіх етапах дослідження залишався високим коефіцієнт екстракції кисню – понад 30 % (норма – 25–26 %), фіксували доволі низьке споживання кисню, що майже не змінювалося протягом оперативного втручання.

При низьких значеннях доставлення кисню внаслідок гемодинамічних порушень це вказувало на декомпенсацію механізму підвищення екстракції кисню шляхом зниження афінності кисню до оксигемоглобіну. Отже, потреба в кисні суттєво перевищувала можливості його доставлення. Тому всі пацієнти I групи від початку операції мали метаболізм, близький до базального, а на етапах видалення залоз і до закінчення операції – навіть базальний рівень унаслідок істотних порушень метаболізму, мали високий ризик виникнення періопераційних ускладнень.

Протягом дослідження не визначали кортизол крові в пацієнтів до та під час операції, тому не можемо стверджувати, що причина гемодинамічних і метаболічних порушень пов'язана з недостатністю наднирників. Але, враховуючи відомості фахової літератури, що вказують на низький рівень кортизолу та порушення метаболізму в пацієнтів із ХНН, які отримують тривале (понад 50 місяців) лікування програмним гемодіалізом [19], можемо припустити таку можливість. Тому вважаємо виправданим використання глюкокортикоїдів у комплексі періопераційної інтенсивної терапії в таких пацієнтів.

У II групі (*табл. 2*) на час індукції також спостерігали зниження середнього артеріального тиску порівняно з вихідним значенням (на 15,4 %, p < 0,05), але воно дещо менше, ніж у I групі. Надалі з часу мобілізації паразитоподібних залоз спостерігали доволі швидке його відновлення. Від етапу видалення паразитоподібних залоз і до пробудження реєстрували стійке зростання CI. Найшвидше його підвищення – під час ушивання рани та закінчення операції, коли CI мав значення $2,4$ л \times хв⁻¹ \times м² і $3,0$ л \times хв⁻¹ \times м²; це перевищувало вихідні значення на 14,3 % і 42,9 % відповідно (p < 0,05). Доставлення кисню зростало синхронно з показниками центральної гемодинаміки: на етапах видалення паразитоподібних залоз, ушивання рани, наприкінці операції та під час пробудження воно перевищувало вихідні значення на 9,6 %, 14,5 %, 35,3 % і 45,8 % відповідно; а також значення DO₂ на відповідних етапах у I групі на 20,9 %, 33,1 %, 50,0 % і 40,7 % (p < 0,05). Усе це покращувало енергокисневе забезпечення метаболізму пацієнтів II групи. Споживання кисню з часу мобілізації паразитоподібних залоз і до повного пробудження пацієнтів зростало, на кінець операції та етап пробудження становило 148 ± 4 мл \times хв⁻¹ \times м² і 147 ± 4 мл \times хв⁻¹ \times м²; це більше за вихідні значення на 20,3 % і 19,5 % відповідно, вірогідно перевищувало значення VO₂ на відповідних етапах у групі I (p < 0,05). Коефіцієнт екстракції кисню крові, високий уже з вихідного (32,9 %), протягом усіх наступних етапів оперативного втручання поступово знижувався, наприкінці операції та під час пробудження мав майже нормальні значення (27,5 % і 27,6 % відповідно); це свідчило про відновлення нормального кисневого режиму.

Щодо динаміки метаболізму у II групі, потрібно зупинитися на тому, що вихідний показник індексу метаболізму, як і в I групі, був доволі низьким (618 ± 13 кал \times хв⁻¹ \times м²) і перевищував базальний рівень тільки на 7,5 % (p < 0,05). Цільове його значення досить високе – 1363 ± 12 кал \times хв⁻¹ \times м², і тому вихідний показник тяжкості порушень метаболізму доволі високий

Таблиця 1. Динаміка показників центральної гемодинаміки, кисневого режиму та метаболізму пацієнтів I групи (n = 70, M ± m)

Показники/етапи дослідження	1	2	3	4	5	6	7
MBP, мм рт. ст.	118 ± 7	91 ± 6*	84 ± 5*	95 ± 6*	106 ± 5	114 ± 6	116 ± 5
CI, л × хв ⁻¹ × м ⁻²	2,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1**	1,8 ± 0,1**	2,0 ± 0,1#	2,0 ± 0,1#
DO ₂ , мл × хв ⁻¹ × м ⁻²	382 ± 12	365 ± 13	348 ± 11	331 ± 14**	314 ± 13**	348 ± 13#	378 ± 12#
VO ₂ , мл × хв ⁻¹ × м ⁻²	125 ± 6	121 ± 5	129 ± 7	127 ± 5#	131 ± 6#	129 ± 7#	127 ± 7#
O ₂ ER, %	32,7 ± 0,5	33,1 ± 0,7	34,8 ± 0,5	35,7 ± 0,6	36,6 ± 0,5	33,6 ± 0,6#	32,0 ± 0,5#
RQ, ум. од.	0,83 ± 0,02	1,29 ± 0,03	1,47 ± 0,03	1,52 ± 0,02	1,54 ± 0,03	1,48 ± 0,02	1,38 ± 0,02
MRI, кал × хв ⁻¹ × м ⁻²	624 ± 12 ^o	612 ± 14	604 ± 13	582 ± 11**	571 ± 11**	584 ± 12**	618 ± 11#
BMRI, кал × хв ⁻¹ × м ⁻²	523 ± 12						

*: різниця вірогідна порівняно з вихідними даними (p < 0,05); **: різниця вірогідна порівняно з відповідним етапом групи II (p < 0,05); #: різниця вірогідна порівняно з базальним рівнем метаболізму (p < 0,05).

Таблиця 2. Динаміка показників центральної гемодинаміки, кисневого режиму та метаболізму пацієнтів II групи (n = 65, M ± m)

Показники/етапи дослідження	1	2	3	4	5	6	7
MBP, мм рт. ст.	117 ± 7	99 ± 6*	108 ± 7	112 ± 8	114 ± 4	116 ± 4	117 ± 3
CI, л × хв ⁻¹ × м ⁻²	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1**	2,4 ± 0,1**	3,0 ± 0,1**x	3,1 ± 0,1**
DO ₂ , мл × хв ⁻¹ × м ⁻²	365 ± 12	383 ± 13	385 ± 14	400 ± 12**	418 ± 11**	494 ± 11**	532 ± 12**
VO ₂ , мл × хв ⁻¹ × м ⁻²	123 ± 4	122 ± 4	136 ± 5*	142 ± 5**	146 ± 6**	148 ± 4**	147 ± 4**
O ₂ ER, %	32,9 ± 0,6	31,9 ± 0,5	33,0 ± 0,7	31,5 ± 0,6	30,6 ± 0,5	27,5 ± 0,6**	27,6 ± 0,5**
RQ, ум. од.	0,85 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,85 ± 0,03	0,86 ± 0,03	0,84 ± 0,02	0,83 ± 0,01	0,83 ± 0,01
MRI, кал × хв ⁻¹ × м ⁻²	618 ± 13 ^o	611 ± 14	626 ± 11	672 ± 15**o	735 ± 14**o	740 ± 15**o	764 ± 12**o
BMRI, кал × хв ⁻¹ × м ⁻²	523 ± 12						
MD, %	54,7 ± 3,3	53,5 ± 2,9	50,5 ± 3,7	42,4 ± 3,6*	33,7 ± 2,7**	27,1 ± 3,1*	21,9 ± 3,4*

*: різниця вірогідна порівняно з вихідними даними (p < 0,05); **: різниця вірогідна порівняно з відповідним етапом групи I (p < 0,05); #: різниця вірогідна порівняно з попереднім значенням (p < 0,05); o: різниця вірогідна порівняно з базальним рівнем метаболізму (p < 0,05).

– 54,7 ± 3,3 %; це свідчило про значущий енергокисневий дефіцит пацієнтів і виражені порушення метаболізму на початку оперативного втручання (p < 0,05).

У пацієнтів II групи, на відміну від хворих I групи, після видалення паразитоподібних залоз і майже до пробудження спостерігали стійке зростання метаболізму. Так, на етапах видалення залоз, ушивання рани, кінця операції та пробудження MRI мав значення 672 ± 15 кал × хв⁻¹ × м⁻², 735 ± 14 кал × хв⁻¹ × м⁻², 740 ± 15 кал × хв⁻¹ × м⁻² та 764 ± 12 кал × хв⁻¹ × м⁻²; це перевищувало вихідний показник на 8,7 %, 18,9 %, 19,7 %, 23,6 % відповідно, а також показники MRI у групі I на 15,1 %, 28,7 %, 26,7 % і 23,6 % (p < 0,05). Збільшувалося також перевищення MRI значень BMRI – на 16,9 %, 27,8 %, 28,7 % та 32,9 % відповідно (p < 0,05). Привертає увагу і те, що зі зростанням поточного метаболізму спостерігали поступове зниження цільового його значення. Так, на тих самих етапах (видалення залоз, ушивання рани, кінець операції та пробудження) TMRI поступово знижувався, перевищуючи рівень поточного метаболізму на 73,0 %, 52,3 %, 37,2 % та 28,0 % за етапами відповідно. Це свідчило про зменшення енергопотребі, оптимізацію кисневого стану та покращення метаболізму. Зафіксували й відповідні зміни показника порушень метаболізму: вихідне значення – 54,7 ± 3,3 %, пробудження – 21,9 ± 3,4 % (p < 0,05).

Пацієнти групи II порівняно з хворими групи I швидше прокидалися після наркозу, їх швидше переводили з операційної в палату. Так, спонтанне розплющення очей, відновлення свідомості та готовність до переведення в палату в них визначали на 5,1 хв, 6,4 хв та 9,7 хв відповідно швидше, ніж у I групі (p < 0,05). Післяопераційний біль у пацієнтів II групи через 12 годин був слабшим, ніж у I групі (3,2 ± 0,3 бала проти

1,6 ± 0,4 бала за шкалою ВАШ, p < 0,05). Випадки післяопераційної нудоти та блювоти у II групі реєстрували у 2,5 раза рідше – 6 (9,2 %) проти 16 (22,9 %) у I групі (p < 0,05).

Щодо показників кислотно-лужного стану та концентрації іонізованого кальцію в венозній крові, то перед оперативним втручанням у пацієнтів обох груп вони були повністю скореговані. Протягом доби після оперативного втручання не було значущої динаміки показників кислотно-лужного стану венозної крові та відмінностей їх у групах. Через добу спостерігали зниження іонізованого кальцію в обох групах: у I групі – з 1,26 ± 0,02 ммоль/л до 1,11 ± 0,04 ммоль/л; у II групі – з 1,22 ± 0,01 ммоль/л до 1,10 ± 0,05 ммоль/л (p < 0,05); це менше за референтне значення (1,12 ммоль/л), потребувало додаткового в/в уведення 10 % глюконату кальцію.

Після оперативних втручань у хворих обох груп показники ПТГ, кальцію та фосфору крові доволі швидко досягали норми, зникали або призупинялися прояви системного остеопорозу, хворі переставали скаржитися на болі в м'язах і суглобах, почувалися краще. Летальних випадків не було.

Обговорення

Для розрахунку потреби в «енергоструктурній активності» тканини пацієнта («необхідного», «цільового», «безпечного» метаболізму) часто використовують визначення потреби в споживанні кисню для забезпечення бездефіцитного метаболізму за формулою: $nVO_2 = CI \times C_{vO_2}$, де nVO_2 – потреба в кисні (мл × хв⁻¹ × м⁻²); CI – серцевий індекс (л × хв⁻¹ × м⁻²); C_{vO_2} за математичною моделлю Ole Siggaard-Andersen (1995), відповідає артеріовенозній різниці складу кисню, якщо PO₂ змішаної

венозної крові становив би 5,0 кПа (37,5 мм рт. ст.), це приблизно дорівнює нормальному значенню PvO_2 [6,7]. Тобто, C_x відповідає артеріовенозній різниці об'ємного вмісту кисню в крові, якщо $PvO_2 = 37,5$ мм рт. ст. Але ця величина істотно залежить від гемоглобіну крові та положення кривої дисоціації гемоглобіну. У випадках тяжких порушень метаболізму, коли поточний метаболізм досягає рівня базального та нижче, коли компенсаторні механізми відновлення метаболізму внаслідок зростання Cl , а отже і транспорту кисню вичерпуються, можливі суттєві помилки.

Тому запропонували формулу розрахунку цільового рівня метаболізму, використовуючи «коефіцієнт компенсації метаболізму»: $51,5/avO_{2(37,5)}$, де 51,5 мл/л – споживання кисню (мл) із літра крові здорової людини; $avO_{2(37,5)}$ – кількість кисню, яка може бути екстрагована з літра артеріальної крові пацієнта (мл/л) при нормальному значенні парціального тиску змішаної венозної крові (37,5 мм рт. ст.), при відповідному ступені здатності до дисоціації оксигемоглобіну, що пов'язаний із положенням кривої дисоціації гемоглобіну [9]. Використання в математичній моделі запропонованого способу періопераційного енергомоніторингу тісного кореляційного зв'язку між енергетичним еквівалентом кисню та респіраторним коефіцієнтом (RQ), що виявили раніше, робить цей спосіб більш персоналізованим, ефективним і надійним [8].

Але в запропонованому способі є певні обмеження. Так, $SvO_{2(37,5)}$ розраховують із вимірюваних величин рН і HCO_3^- , введення нормального значення PvO_2 . Але цей розрахунок заснований на припущенні відносно нормальної афідності гемоглобіну до кисню, не бере до уваги концентрацію в еритроцитах 2,3-ДФГ (дифосфогліцерату), яка впливає на криву дисоціації оксигемоглобіну. Цей розрахунок не враховує також ефекти фетального гемоглобіну або дисфункціональних гемоглобінів (карбоксі-, мет-, сульфгемоглобіну). Для розрахунку цільових (ідеальних) значень метаболізму та ступеня порушень метаболізму під час періопераційної терапії в умовах операційної вони будуть оптимальними.

Висновки

1. Пацієнти з ВГПТ на тлі термінальної стадії ХХН, які перебувають на програмному гемодіалізі та потребують паратиреоїдного хірургічного втручання, мають низький рівень метаболізму (вище за базальний лише на 6,6–7,5 %) та високий ризик порушень метаболізму (MD = 54,7 %). Це обґрунтовує доцільність застосування в них персоналізованого періопераційного енергомоніторингу.

2. Якщо немає інформації про рівень кортизолу в крові пацієнтів із ВГПТ на тлі термінальної стадії ХХН, які перебувають на програмному гемодіалізі та потребують паратиреоїдного хірургічного втручання, бажане превентивне періопераційне використання внутрішньовенних форм глюкокортикоїдів під контролем періопераційного енергомоніторингу.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР «Оптимізація надання спеціалізованої та високоспеціалізованої медичної допомоги хірургічного профілю на принципах «хірургії швидкого шляху» при окремих захворюваннях щитоподібної та щитоподібних залоз, носоглотки, внутрішніх та репродуктивних органів, черевної стінки, судин і суглобів, зокрема, з використанням атомно-силової мікроскопії та із застосуванням методу преламінації для обробки імплантів», № держреєстрації 0119U001046.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 06.09.2021

Після доопрацювання / Revised: 15.10.2021

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2021

Відомості про авторів:

Денисенко А. І., канд. мед. наук, старший науковий співробітник, науковий відділ малоінвазивної хірургії, ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9057-0327](https://orcid.org/0000-0002-9057-0327)

Черний В. І., д-р мед. наук, професор, член-кор.

НАМН України, головний науковий співробітник, науковий відділ малоінвазивної хірургії, ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, м. Київ, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9885-9248](https://orcid.org/0000-0002-9885-9248)

Information about authors:

Denysenko A. I., MD, PhD, Senior Researcher, Scientific Department of Minimally Invasive Surgery, State Scientific Institution "Research and Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine" of State Administrative Department, Kyiv, Ukraine.

Cherniy V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Chief Researcher, Scientific Department of Minimally Invasive Surgery, State Scientific Institution "Research and Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine" of State Administrative Department, Kyiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Денисенко А. И., канд. мед. наук, старший научный сотрудник, научный отдел малоинвазивной хирургии, ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД, г. Киев, Украина.

Черный В. И., д-р мед. наук, профессор, член-корр. НАМН Украины, главный научный сотрудник, научный отдел малоинвазивной хирургии, ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД, г. Киев, Украина.

Список літератури





- [1] The efficacy and safety of fast track surgery (FTS) in patients after hip fracture surgery: a meta-analysis / M. Jiang, S. Liu, H. Deng et al. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2021. Vol. 16, Iss. 1. P. 162. <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02277-w>
- [2] Fast-track surgery in intestinal deep infiltrative endometriosis / V. C. Pissetti, R. D. Nunes, M. T. Zomer, W. Kondo. *Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders*. 2017. Vol. 9, Iss. 4. P. 263-269. <https://doi.org/10.5301/jepdp.5000308>
- [3] Fast-track program of elective joint replacement in hip and knee-patients' experiences of the clinical pathway and care process / U. Berg, M. Berg, O. Rolfsen, A. Erichsen-Andersson. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2019. Vol. 14, Iss. 1. P. 186. <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1232-8>
- [4] Fast track hip fracture care and mortality – an observational study of 2230 patients / C. T. Pollmann, J. H. Røtterud, J. E. Gjørtzen et al. *BMC musculoskeletal disorders*. 2019. Vol. 20, Iss. 1. P. 248. <https://doi.org/10.1186/s12891-019-2637-6>

- [5] Implementation of a Multidisciplinary "Code Hip" Protocol is Associated with Decreased Time to Surgery and Improved Patient Outcomes / R. J. VanTienderen, K. Bockelman, R. Khalifa et al. *Geriatric Orthopaedic Surgery & Rehabilitation*, 2021, 12, 21514593211004904. <https://doi.org/10.1177/21514593211004904>
- [6] Бойцова О. Н. Персонификация периоперационного биомониторинга. *Патология*. 2017. Т. 14, № 2. С. 188-192. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.2.109663>
- [7] Бойцова О. Н. Энергоструктурный статус при периоперационной седоаналгезии. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11, № 2. С. 197-203. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.2.133502>
- [8] Черний В. І., Денисенко А. І. Сучасні можливості використання непрямой калориметрії у післяопераційному енергомониторингу. *Клінічна та профілактична медицина*. 2020. Т. 2, № 12. С. 79-89. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.2\(12\).2020.05](https://doi.org/10.31612/2616-4868.2(12).2020.05)
- [9] Денисенко А. І., Черний В. І. Периоперационный метаболизм у пацієнтів з тиреотоксикозом, можливості його корекції. *Клінічна та профілактична медицина*. 2021. Т. 3, № 17. С. 36-48. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.3\(17\).2021.05](https://doi.org/10.31612/2616-4868.3(17).2021.05)
- [10] Денисенко А. І., Черний В. І., Ткаченко П. П. Вопросы лечения вторичного гиперпаратиреоза глазами анестезиолога. Опыт периоперационного анестезиологического обеспечения и интенсивной терапии при паратиреоидном хирургическом вмешательстве. *Клінічна та профілактична медицина*. 2021. Т. 2, № 16. С. 4-16. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.2\(16\).2021.01](https://doi.org/10.31612/2616-4868.2(16).2021.01)
- [11] Lau W. L., Obi Y., Kalantar-Zadeh K. Parathyroidectomy in the management of secondary hyperparathyroidism. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2018. Vol. 13, Iss. 6. P. 952-961. <https://doi.org/10.2215/CJN.10390917>
- [12] Evaluation of laboratory parameters and symptoms after parathyroidectomy in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism / Y. Zhang, Y. Lu, S. Feng et al. *Renal failure*. 2019. Vol. 41, Iss. 1. P. 921-929. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2019.1666724>
- [13] Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2017 Clinical Practice Guideline Update / M. Ketteler, G. A. Block, P. Evenepoel et al. *Annals of internal medicine*. 2018. Vol. 168, Iss. 6. P. 422-430. <https://doi.org/10.7326/M17-2640>
- [14] Steini, G. K., & Kuo, J. H. (2021). Surgical Management of Secondary Hyperparathyroidism. *Kidney International Reports*, 6(2), 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.11.023>
- [15] Борисова В. И., Дубров С. А., Лянскорунский В. Н. Анестезиологическое обеспечение при травматологической операции у пациентки с терминальной стадией хронической почечной недостаточности находящейся на программном гемодиализе. *Біль, знеболення та інтенсивна терапія*. 2018. № 2. С. 95-104. [https://doi.org/10.25284/2519-2078.2\(83\).2018.135827](https://doi.org/10.25284/2519-2078.2(83).2018.135827)
- [8] Cherniy, V. I., & Denysenko, A. I. (2020). Suchasni mozhlyvosti vykorystannya nepriamoї kalorymetrii u pisliaoperatsiynomu enerhomonitorynhu [Current possibilities of use of indirect calorimetry in perioperative energy monitoring]. *Klinichna ta profilaktychna medytsyna*, 2(12), 79-89. [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.2\(12\).2020.05](https://doi.org/10.31612/2616-4868.2(12).2020.05)
- [9] Denysenko, A. I., & Cherniy, V. I. (2021). Peryoperatsiynyi metabolizm u patsientiv z tyreotoksykozom, mozhlyvosti yoho korektsii [Perioperative metabolism in patients with thyrotoxicosis, possibilities of its correction]. *Klinichna ta profilaktychna medytsyna*, 3(17), 36-48. [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.3\(17\).2021.05](https://doi.org/10.31612/2616-4868.3(17).2021.05)
- [10] Denysenko, A. I. Cherniy, V. I. & Tkachenko, R. P. (2021). Voprosy lecheniya vtorichnogo giperparatireoza glazami anesteziologa. Opyt perioperatsionnogo anesteziologicheskogo obespecheniya i intensivnoi terapii pri paratireoidnom khirurgicheskomy vmeshatel'stve [Issues of treatment of secondary hyperparathyroidism with the eyes of an anesthesiologist. Experience of perioperative anesthesiological support and intensive therapy in parathyroid surgery]. *Klinichna ta profilaktychna medytsyna*, 2(16), 4-16. [in Russian]. [https://doi.org/10.31612/2616-4868.2\(16\).2021.01](https://doi.org/10.31612/2616-4868.2(16).2021.01)
- [11] Lau, W. L., Obi, Y., & Kalantar-Zadeh, K. (2018). Parathyroidectomy in the Management of Secondary Hyperparathyroidism. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 13(6), 952-961. <https://doi.org/10.2215/CJN.10390917>
- [12] Zhang, Y., Lu, Y., Feng, S., Zhan, Z., & Shen, H. (2019). Evaluation of laboratory parameters and symptoms after parathyroidectomy in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Renal failure*, 41(1), 921-929. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2019.1666724>
- [13] Ketteler, M., Block, G. A., Evenepoel, P., Fukagawa, M., Herzog, C. A., McCann, L., Moe, S. M., Shroff, R., Tonelli, M. A., Toussaint, N. D., Vervloet, M. G., & Leonard, M. B. (2018). Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2017 Clinical Practice Guideline Update. *Annals of internal medicine*, 168(6), 422-430. <https://doi.org/10.7326/M17-2640>
- [14] Steini, G. K., & Kuo, J. H. (2021). Surgical Management of Secondary Hyperparathyroidism. *Kidney International Reports*, 6(2), 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.11.023>
- [15] Borysova, V. Y., Dubrov, S. A., & Lianskorunskiy, V. N. (2018). Anesteziologicheskoe obespechenie pri travmatologicheskoi operatsii u patsientki s terminal'noi stadiei khronicheskoi pochechnoi nedostatocnosti nakhodyashcheysya na programnom gemodialize [Anesthetic management during trauma surgery in a patient with end-stage chronic renal failure on programmed hemodialysis]. *Bil, zneboleння ta intenzivna terapiya*, (2), 95-104. [in Russian]. [https://doi.org/10.25284/2519-2078.2\(83\).2018.135827](https://doi.org/10.25284/2519-2078.2(83).2018.135827)

References

- [1] Jiang, M., Liu, S., Deng, H., Liang, X., & Bo, Z. (2021). The efficacy and safety of fast track surgery (FTS) in patients after hip fracture surgery: a meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 16(1), 162. <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02277-w>
- [2] Pissetti, V. C., Nunes, R. D., Zomer, M. T., & Kondo, W. (2017). Fast-track surgery in intestinal deep infiltrative endometriosis. *Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders*, 9(4), 263-269. <https://doi.org/10.5301/jeppd.5000308>
- [3] Berg, U., Berg, M., Rolfson, O., & Erichsen-Andersson, A. (2019). Fast-track program of elective joint replacement in hip and knee-patients' experiences of the clinical pathway and care process. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 14(1), 186. <https://doi.org/10.1186/s13018-019-1232-8>
- [4] Pollmann, C. T., Røtterud, J. H., Gjertsen, J. E., Dahl, F. A., Lenvik, O., & Årøen, A. (2019). Fast track hip fracture care and mortality – an observational study of 2230 patients. *BMC musculoskeletal disorders*, 20(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s12891-019-2637-6>
- [5] VanTienderen, R. J., Bockelman, K., Khalifa, R., Reich, M. S., Adler, A., & Nguyen, M. P. (2021). Implementation of a Multidisciplinary "Code Hip" Protocol is Associated with Decreased Time to Surgery and Improved Patient Outcomes. *Geriatric Orthopaedic Surgery & Rehabilitation*, 12, 21514593211004904. <https://doi.org/10.1177/21514593211004904>
- [6] Boitsova, O. N. (2017). Personifikatsiya perioperatsionnogo biomonitringa [Personification of Perioperative Biomonitoring]. *Pathologia*, 14(2), 188-192. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.2.109663>
- [7] Boitsova, O. N. (2018). Energostrukturnyi status pri perioperatsionnoi sedoanalgezii [Energy Structural Status in Perioperative Sedoanalgesia]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 11(2), 197-203. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.2.133502>

Плацентарні маркери невиношування вагітності

А. А. Живецька-Денисова  *^{1,B,C,D,E}, І. І. Воробйова  ^{1,A,E,F}, Н. Я. Скрипченко  ^{1,A,F},
С. М. Толкач  ^{1,B}, С. М. Раздайбедін^{2,B}, Ю. М. Бондаренко^{1,B}

¹ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ, ²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

вагітність, невиношування, хоріон, плацента, експресія VEGF, CD31, PECAM-1, CD105, endoglin, TGFβ 1/3 receptor, TNF-α, CD45/T200/LCA, CD56, NCAM-1.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 328-339

*E-mail:

alla.zhivetskaya.denisova@gmail.com

Успішна імплантація передбачає високий рівень розвитку спіральних артерій, проліферативну активність, що забезпечує повноцінний матково-плацентарний кровообіг і народження здорової дитини. Дисфункція ангиогенезу, проліферації, міграції та інвазії трофобласта ускладнює перебіг вагітності. Плацента – унікальний орган біологічного моніторингу, «дзеркало» вагітності. Визначення плацентарних маркерів невиношування вагітності (НВ) – перспективний напрям запобігання репродуктивним втратам.

Мета роботи – визначити маркери невиношування вагітності у структурах хоріона та плаценти.

Матеріали та методи. В основну групу включили жінок із репродуктивними втратами в анамнезі та передчасним перериванням поточної вагітності; в контрольну – вагітних із фізіологічним перебігом гестації та неускладненим анамнезом.

Дослідили 22 зразки хоріона та 64 плаценти від жінок основної групи, а також 20 зразків хоріона після штучного аборт, 20 плацент після термінових пологів у жінок контрольної групи. У названих структурах імуногістохімічним методом вивчали експресію VEGF, CD31/PECAM-1, CD105/Endoglin/TGFβ 1/3 Receptor, Bcl-2α Ab-1, TNF-α, CD45/T200/LCA, CD56/NCAM-1.

Результати. На підставі гістологічного й імуногістохімічного дослідження зразків хоріона та плаценти в жінок із репродуктивними втратами в анамнезі та перериванням поточної вагітності встановили: ембріо-ендометріальна дисфункція – причина НВ ранніх термінів, а запалення – передумова передчасних пологів. Визначили маркери невиношування вагітності різних термінів гестації.

Висновки. Патоморфологічні зміни ендометрія та ворсинчастого хоріона на тлі виразної експресії TNF-α і NK-CD56, слабкої експресії CD31/PECAM-1, негативної експресії VEGF – прояви порушеної цитотрофобластичної інвазії та маркери невиношування у I триместрі гестації. Вирішальну роль запалення в розвитку передчасних пологів підтверджують структурні та функціональні зміни плаценти на тлі помірної експресії TNF-α в синцитії, виразної експресії NK-CD56 у стромі ворсин, виразної експресії CD45 у децидуальній оболонці, що є маркерами невиношування у II триместрі гестації.

Key words:

pregnancy, miscarriage, chorion, placenta, VEGF, CD31, PECAM1, CD105, endoglin, TGFβ 1/3 receptor, TNF-alpha, CD45/T200/LCA, CD56, NCAM1.

Pathologia
2021; 18 (3), 328-339

Placental markers of miscarriage

A. A. Zhyvetska-Denysova, I. I. Vorobiova, N. Ya. Skrypchenko, S. M. Tolkach,
S. M. Razdaibiedin, Yu. M. Bondarenko

Successful implantation involves a high degree of development of spiral arteries, combined with high proliferative activity, which ensures the formation of a healthy placenta, full uterine-placental circulation, and the birth of a healthy child. The placenta is the unique organ of the biological monitoring, the mirror of pregnancy. Identification of placental markers of miscarriage is a promising direction for preventing reproductive losses.

The aim of the work is to identify the markers of miscarriage and premature labor in the structures of the chorion and placenta.

Materials and methods. The main group included tissue samples of the 22 chorions and 64 placentas after termination of current pregnancy from women with a history of reproductive losses. The control group included tissue samples of the 20 chorions after artificial abortion and 20 placentas after physiological pregnancy and birth. The placenta was examined according to the protocol (form No. 013-1/0). The expressions of VEGF, CD31/PECAM1, CD105/Endoglin/TGFβ 1/3 Receptor, Bcl-2α Ab-1, TNF-α, CD45/T200/LCA, CD56/NCAM1 were studied in the structures of chorion and placenta by immunohistochemistry.

Results. Based on histological and immuno-histochemical study of chorion and placenta samples in women with reproductive history and termination of the current pregnancy, it was established that embryo-endometrial dysfunction is the cause of miscarriage in the first trimester, and inflammation is the precondition of preterm birth; markers of miscarriage and premature labor in the structures of the chorion and placenta have been identified.

Conclusions. The markers of miscarriage are pathomorphological changes in endometrium and chorion combined with high expression of TNF-α and NK-CD56, low expression of CD31/PECAM1, negative expression of VEGF to indicate a violation of cytotrophoblast invasions. The markers of inflammation and premature labor are structural and functional changes of placenta in combination with moderate expression of TNF-α in syncytium, high expression of NK-CD56 in villous stroma, high expression of CD45/T200/LCA in the decidual membrane.

Плацентарные маркеры невынашивания беременности

А. А. Живецкая-Денисова, И. И. Воробьева, Н. Я. Скрипченко, С. Н. Толкач,
С. Н. Раздайбедин, Ю. М. Бондаренко

Успешная имплантация предполагает высокий уровень развития спиральных артерий, пролиферативную активность, что обеспечивает формирование полноценного маточно-плацентарного кровообращения и рождение здорового ребенка. Дисфункция ангиогенеза, пролиферации, миграции, инвазии трофобласта осложняет течение гестации. Плацента – уникальный орган биомониторинга, «зеркало» беременности. Определение плацентарных маркеров невынашивания беременности (НВ) – перспективное направление предупреждения репродуктивных потерь.

Цель работы – установить маркеры невынашивания беременности в структурах хориона и плаценты.

Материалы и методы. В основную группу включены женщины с репродуктивными потерями в анамнезе и прерыванием текущей беременности; в контрольную – беременные с неосложненным анамнезом и физиологическим течением гестации. Исследовали 22 хориона и 64 плаценты от женщин основной группы, а также 20 хорионов после искусственного аборта, 20 плацент после срочных родов у женщин контрольной группы. В указанных структурах иммуногистохимическим методом изучали экспрессию VEGF, CD31/PECAM-1, CD105/Endoglin/TGFβ 1/3 Receptor, Vcl-2α Ab-1, TNF-α, CD45/T200/LCA, CD56/NCAM-1.

Результаты. На основе гистологического и иммуногистохимического исследования образцов хориона и плаценты у женщин с репродуктивными потерями в анамнезе и прерыванием текущей беременности установлено: эмбрио-эндометриальная дисфункция – причина невынашивания беременности в I триместре, а воспаление – предпосылка преждевременных родов. Определены маркеры невынашивания беременности различных гестационных периодов.

Выводы. Патоморфологические изменения эндометрия и ворсинчатого хориона в сочетании с выраженной экспрессией TNF-α и NK-CD56, слабой экспрессией CD31/PECAM-1, негативной экспрессией VEGF – проявления нарушенной цитотрофобластической инвазии и маркеры невынашивания в I триместре беременности. Структурные и функциональные изменения плаценты на фоне умеренной экспрессии TNF-α в синцитии, выраженной экспрессии NK-CD56 в строме ворсин, выраженной экспрессии CD45 в децидуальной оболочке подтверждают ведущую роль воспаления в развитии преждевременных родов и являются маркерами НВ во II триместре.

Ключевые слова: беременность, невынашивание, хорион, плацента, экспрессия VEGF, CD31, PECAM-1, CD105, endoglin, TGFβ 1/3 receptor, TNF-α, CD45/T200/LCA, CD56, NCAM-1.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 328-339

Незважаючи на наукові досягнення останніх років, невиношування вагітності (НВ) – надважлива проблема сучасного акушерства. Частота НВ в Україні становить 15–20 % від загальної кількості вагітностей, а щорічні прямі репродуктивні втрати – 36–40 тисяч ненароджених дітей. Ризик втрати вагітності після першого викидня становить 13–17 %, при кожній наступній вагітності – 24–40 % [1–3]. Стабільно висока частота НВ змушує науковців шукати нові шляхи до визначення патогенезу захворювання, оскільки, знаючи патогенез переривання вагітності, можна успішно здійснювати лікування.

Безумовно, плацента – «дзеркало» вагітності [3–9], а успішна імплантація – запорука народження здорової дитини. Ангіогенез – провідний чинник імплантації, пов'язаний з активацією факторів росту судин, зокрема васкулоендотеліального (VEGF) та трансформувального (TGFβ-1) [10–16], що забезпечують функціонування жовтого тіла, трансформацію ендометрія, адекватну васкуляризацію та матково-плацентарну циркуляцію. Дисфункція ангиогенезу ускладнює перебіг гестації [11, 12, 15]. Вишальна роль у патогенезі ранніх репродуктивних утрат належить пригніченню VEGF, порушенню маткової гемодинаміки та активації у крові натуральних кілерів (NK). Експресія VEGF – індикатор ендометріальної або судинної дисфункції [13]. Інактивація VEGF спричиняє загибель ембріона через порушення перфузії, розгалуження судин або дефект утворення судинного просвіту. Недостатня васкуляризація та склероз строми внаслідок надмірного синтезу TGFβ-1 порушують диференціювання ворсин [15, 16].

Успішна імплантація реалізується завдяки імунним механізмам [17–21] і передбачає «діалог» між мате-

ринськими і плодовими тканинами: між інвазивним екстраворсинчастим трофобластом (ЕВТ) та *decidua basalis*, між неінвазивним ЕВТ та *decidua parietalis*, «діалог» у місці прикріплення хориона, яким є *decidua capsularis*, а також під час занурення флотуючих ворсин хориона в материнську кров. Майже 70 % імункомпетентних клітин децидуальної оболонки – нетоксична популяція CD56+ CD16- децидуальних NK клітин (dNK) [20–22]. Цікаво, що dNK сприяють інвазії трофобласта через синтез цитокинів, хемокінів та ангиогенних факторів, а також інгібують інвазію через цитотоксичний ефект, посилений підвищеною продукцією фактора некрозу пухлини (TNF-α), TGFβ та інтерферона-γ (IFN-γ), негативно впливаючи на глибину занурення ЕВТ. Припускають, що dNK – натуральні кілери периферичної крові (НКПК), які в результаті хемотаксису мігрують до децидуальної оболонки, де набувають децидуального фенотипу й отримують унікальну функціональну здатність, сприятливу для фізіологічного перебігу вагітності [20]. Головними ефекторами втрати вагітності вважають не справжні dNK, а активовані ембріотоксичні НКПК-мігранти [20, 21]. За допомогою моноклональних антитіл можна відрізнити лімфоцити залежно від типу, стадії диференціювання та функціонального стану.

Основні чинники ангиогенезу – dNK і трофобласт. Доведено, що внаслідок активації VEGF dNK спричиняють судинне ремоделювання, яке відбувається до інвазії трофобласта та супроводжується значущим накопиченням dNK і плацентарних макрофагів у стінці судин, порушуючи цілісність її ендотеліального шару, тобто судини втрачають м'язово-опорну структуру [13, 20, 21]. Інвазивний трофобласт, перетворившись на ендоваскулярний, глибоко занурюється в ендометрій.

Ендотеліальний клітинний маркер (CD31/PECAM-1) – тригер внутрішньосудинної цитотрофобластичної інвазії в ендометрії [5,11–13,15,21]. Слабка експресія CD31 вказує на порушення трансформації спіральних артерій; слабка експресія білка Bcl-2α свідчить про апоптоз клітин ендотелію [15].

Імуносупресія має вирішальне значення для збереження вагітності [17,18]. Трансформувальний фактор росту бета (TGFβ-1) забезпечує локальну імунологічну толерантність через блокування ембріотоксичних CD56-CD16+ НКПК. Білок ендоглін (CD105), який опосередковано впливає на ангіогенез, диференціювання, проліферацію та апоптоз, входить до складу рецепторного комплексу TGFβ [15,16].

На поверхні лімфоцитів відбувається експресія загального лейкоцитарного антигена CD45, який на початку вагітності, блокуючи материнські NK, забезпечує імунологічний гомеостаз через регуляцію мітозу, диференціацію та проліферацію клітин [5,23]. Рівень експресії CD45 – параметр, який визначає функції імунокомпетентних клітин: слабка експресія потенціює апоптоз через дефекти позитивної та негативної селекції лімфоцитів, а виразна експресія – маркер запалення.

Кінцевий прояв порушеної імплантації та плацентазії – переривання вагітності через апоптоз клітин, модулятором якого є білки родини Bcl-2 [15], розташовані в зовнішній оболонці мітохондрій. Частина білків, як-от Bcl-2α, перешкоджають апоптозу; інші – стимулюють апоптоз через порушення проникності мітохондріальної мембрани, вивільнення цитохрому С, активацію каспаз.

Сучасна наукова література засвідчує вирішальну роль VEGF, TGFβ, CD31, Bcl-2α, CD45, CD56 та TNF-α в розвитку онкологічного процесу, доброякісних утворень репродуктивної системи, інших патологічних станів і соматичних розладів [24]. Але досліджень щодо впливу названих факторів на формування звичного НВ обмаль [5,12,16,20,23,25,26]. Враховуючи, що хоріон і плацента – діагностичні об'єкти з високим інформаційним потенціалом, визначення ймовірних маркерів НВ у цих структурах є перспективним напрямом запобігання репродуктивним утратам.

Мета роботи

Визначити маркери невиношування вагітності у структурах хоріона та плаценти

Матеріали і методи дослідження

Обстежених вагітних без хронічної соматичної патології, які перебували під спостереженням в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» у 2018–2020 рр., поділили на групи. В основну (1) групу включили жінок із репродуктивними втратами в анамнезі та ознаками передчасного переривання поточної вагітності на різних термінах. Для детального аналізу в межах 1 групи сформували підгрупи: 1а – 26 жінок, в яких вагітність завершилася викиднем (у 4 – після завершення плацентазії); 1б – 22 жінки, вагітність яких закінчилася

передчасними пологами; 1в – 38 жінок, які доносили вагітність до пологів. Зазначимо, що більшість вагітних 1а і 1б підгруп не отримували прегравідарну підготовку; вони звернулись за медичною допомогою у зв'язку з вираженими проявами переривання поточної вагітності. Жінкам 1в підгрупи прегравідарно встановили причини НВ, здійснили їхню корекцію, що дало шанс для сприятливого завершення гестації. З настанням вагітності жінки перебували під ретельним спостереженням в акушера-гінеколога. Мета першої госпіталізації в акушерський стаціонар (одразу після настання вагітності) – розроблення індивідуального алгоритму ведення вагітної з НВ. Обов'язкові госпіталізації в терміни: 20–24 тижні – «критичний» щодо ранніх передчасних пологів; 28–36 тижнів – «критичний» період щодо пізніх передчасних пологів. У контрольну (2) групу включили вагітних із фізіологічним перебігом гестації та неускладненим анамнезом.

Середній вік жінок обох груп – 33,4 ± 5,2 року. Розподіл обстежених за віком наведено в таблиці 1.

Ретроспективно встановили, що 76,7 % жінок основної групи раніше втрачали вагітність, здебільшого в I триместрі. Звичним (максимально до 9 епізодів) НВ в анамнезі було у 37,2 % жінок; передчасно народжували 20,9 % осіб. Під час перебування в акушерському стаціонарі ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» в обстежених шляхом дослідження певних показників вродженого та набутого імунітету, системи згортання крові, гормонального, біохімічного, бактеріального та вірусологічного профілю, системи детоксикації, психоемоційного стану визначили ймовірні причини репродуктивних втрат. Так, у 73,3 % жінок виявили гормональний дисбаланс, у 30,2 % – спадкову/набуту тромбофілію, в 53,5 % – статеві інфекції, в 33,7 % вагітних – істміко-цервікальну недостатність. Поєднання кількох чинників НВ спостерігали майже в 90 % випадків.

З гінекологічного анамнезу встановили, що майже 60 % обстежених основної групи отримували лікування з приводу порушень оваріально-менструального циклу, лейоміоми матки, кісти яєчників, гіперплазії та поліпу ендометрія, спричинених розладами системи гіпоталамус – гіпофіз – яєчники. Гіперандрогенія підтверджена в 12,8 % жінок. Гіперпролактинемію (особливу форму гіпоталамічних порушень, що спричиняє репродуктивні втрати) діагностували в 37,2 % жінок. Вона перешкоджає секреції лютеїнізуючого гормону, опосередковано гальмує синтез гонадотропінів і знижує чутливість яєчників до дії екзогенного й ендогенного гонадотропіну, гіпоталамуса – до впливу естрогенів. Хоріонічний гонадотропін людини в ранні терміни вагітності виконує лютеотропну функцію: підтримує жовте тіло, сприяє його перетворенню в жовте тіло вагітності; забезпечує безперервний синтез прогестерону до часу, поки цю функцію не виконуватиме плацента. Функціональна неспроможність жовтого тіла порушує секреторну трансформацію ендометрія та формування «вікна для імплантації», що призводить до переривання вагітності [1–3,27].

Серед різноманіття факторів ризику НВ особливе місце належить фоновим запальним захворюванням

Таблиця 1. Розподіл обстежених вагітних за віком, абс. (%)

Група	n	Кількість вагітних за віком (роки)				
		21–25	26–30	31–35	36–40	40+
Основна	86	5 (5,8)	27 (31,4)	30 (34,9)	16 (18,6)	8 (9,3)
Контрольна	40	10 (25,0)	25 (62,5)	5 (12,5)	–	–
Загалом	126	15 (11,9)	52 (41,3)	35 (27,8)	16 (12,7)	8 (6,3)

Таблиця 2. Ускладнення вагітності в жінок основної групи, абс. (%)

Група	n	Нозологія ускладнень					
		ПРПО	плацентарна дисфункція	оліго-, гідрамніон	дистрес плода	пієлонефрит	анемія
1a	26	2 (7,7)	–	3 (11,5)	–	–	2 (7,7)
1б	22	19 (86,4)	16 (72,7)	10 (45,5)	7 (31,8)	6 (27,3)	6 (27,3)
1в	38	8 (21,1)	7 (18,4)	2 (5,3)	3 (7,9)	8 (21,1)	4 (10,5)

урогенітального тракту [3, 11, 23]. Раніше майже 41,8 % жінок основної групи неодноразово лікувались від хламідіозу, уреоплазмозу, мікоплазмозу. Визначальне значення в етіології передчасних пологів і вродженої патології новонароджених, підвищенні показників перинатальної смертності належить збудникам названих інфекцій. Додатково у вагітних основної групи виявили *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus viridans*. В асоціації з двома-трьома видами бактерій бактеріальна флора була в 53,5 % вагітних, у яких переважали умовно-патогенні ентерококи в концентрації Ig 4,0–6,2 КУО/мл (у 44,3 %) та *Candida* в концентрації Ig 6,2–8,1 КУО/мл (у 30,2 %). Висока частота кандидозу вказує на пригнічення системного та місцевого імунітету [5]. Персистенція латентної інфекції в порожнині матки та цервікальному каналі створює умови для інфікування плода. Запальний процес, що призвів до дисплазії шийки матки у 33,7 % жінок основної групи, та травмування шийки матки внаслідок інструментального втручання через аборти (74,4 % випадків) сформували істміко-цервікальну недостатність у 42,3 % вагітних 1a підгрупи та 54,5 % вагітних 1б підгрупи.

Тромбофілію визначили як самостійну групу чинників НВ [2]. Тромботичний родинний анамнез обтяжений у 52,3 % жінок основної групи: у 30,2 % вагітних 1a підгрупи виявили антифосфоліпідний синдром, мутацію V фактора G1691A, гена протромбіну G20210A та метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR C677T). Гіперкоагуляція негативно впливає на процеси імплантації, плацентації, зростання плода, формує системну ендотеліальну дисфункцію, є медіатором запалення, активуючи прозапальну відповідь.

Відомості щодо ускладнень точної вагітності в обстежених наведено в таблиці 2.

У 45,5 % жінок 1б підгрупи за допомогою ультразвукового дослідження виявили маловоддя/багатоводдя – типову ознаку внутрішньоутробного інфікування. Імовірно, хронічний запальний процес уrogenітального тракту спричинив передчасний розрив плодових оболонок (ПРПО) і переривання вагітності в жінок основної групи.

У 40,1 % жінок 1б підгрупи вагітність завершилася ранніми передчасними пологами, внаслідок яких у

100 % випадків діти народилися мертвими. В результаті пізніх передчасних пологів діти народилися живими, але у 27,3 % випадків глибоко недоношеними, з наднизькою масою. У жінок 1в підгрупи вагітність завершилася терміновими пологами через преградиварну підготовку, ретельне спостереження під час гестації, збереження компенсаторних реакцій у плаценті.

Враховуючи різноманітність факторів НВ, виникає питання про те, яка з причин є первинною. Можливо, відповідь на питання – у результатах дослідження з акцентом на морфологічний субстрат НВ.

У лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» гістологічним, морфометричним й імуногістохімічним методами дослідили 22 хоріони та 64 плаценти від жінок основної групи (з терміном гестації 16–21 тижнів – 4 зразки, 22–27 тижнів – 9, 28–36 тижнів – 13, 37–40 тижнів – 38 зразків), а також 20 хоріонів після штучного абортів та 20 плацент від жінок групи контролю. Плаценту вивчали згідно з протоколом (форма № 013-1/0) [4]. Гістологію виконали за стандартом: серійні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм обробляли в парафіновій заливці, забарвлювали гематоксином та еозином, пікрофуксином. За допомогою мікроскопів Olympus BX51 та Axioskop 40 у структурах хоріона та плаценти визначали наявність інволюційно-дистрофічних, дисциркуляторних або запальних змін. Морфометричним методом з використанням цитологічного аналізатора «Інтеграл-2 МТ» та калібрувальної точкової сітки, що вмонтована в окуляр мікроскопа, підраховували загальну площу ворсинчастого хоріона, інтерстиціального цитотрофобласта, судин ендометрія [28].

У названих структурах визначали експресію VEGF (поліклональні антитіла (ПКАТ), Thermo Scientific; № RB-9031-P0), CD31/PECAM-1 (клон JC/70A, Thermo Scientific; № MS-353-S0), CD105/Endoglin/TGF β 1/3 Receptor (ПКАТ, Thermo Scientific; № RB-9291-P0), Bcl-2 α Ab-1 (клон 100/D5, Thermo Scientific; № MS-123-P0), експресію TNF- α (клон 2C8, Santa Cruz Biotechnology; кат. № MA1-22744), CD45/T200/LCA (клон PD7/26/16+2B11, Thermo Scientific; № MS-353-P0), CD56/NCAM-1 (клон 56C04, Thermo Scientific; № MS-353-P0), використовуючи непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення та систему візуалізації «UltraVision Quanto Detection System HRP

Таблиця 3. Індекс експресії TNF- α у структурах ворсинчастого хоріона й ендометрія груп порівняння, M \pm m, ум. од.

Індекс експресії	Група	
	контрольна, n = 20	основна, n = 22
Епітелій хоріона	1,90 \pm 0,06	2,40 \pm 0,01**
Цитотрофобласт клітинних острівців	1,50 \pm 0,03	2,20 \pm 0,01**
Децидуальні клітини	1,40 \pm 0,02	2,10 \pm 0,01*
Внутрішньосудинний цитотрофобласт	0,70 \pm 0,04	2,00 \pm 0,10**

*: вірогідність різниці щодо показника контролю $p < 0,01$; **: вірогідність різниці щодо показника контролю $p < 0,001$.

Таблиця 4. Індекс експресії CD31/PECAM-1 у структурах ворсинчастого хоріона та ендометрія груп порівняння, M \pm m, ум. од.

Індекс експресії	Група	
	контрольна, n = 20	основна, n = 22
Епітелій хоріона	1,52 \pm 0,04	1,55 \pm 0,01
Ендотелій судин ВХ	1,45 \pm 0,03	1,50 \pm 0,02
Ендотелій спіральних артерій	1,50 \pm 0,03	1,12 \pm 0,01*
Інтерстиціальний цитотрофобласт	1,56 \pm 0,02	1,32 \pm 0,01**
Внутрішньосудинний цитотрофобласт	2,50 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01**

*: вірогідність різниці щодо показника контролю $p < 0,01$; **: вірогідність різниці щодо показника контролю $p < 0,001$.

DAB» (Thermo Scientific; № TL-015-QHD). Поширеність і виразність імуногістохімічної реакції (ІГХР) (в 100 клітинах у 10 полях зору при збільшенні $\times 400$) оцінювали в балах:

– поширеність: 0 – немає забарвлення; 1 бал – менше ніж 10 % позитивно забарвлених клітин; 2 бали – 10–50 %; 3 бали – понад 50 % забарвлених клітин;
– виразність: 0 – немає забарвлення; 1 бал – слабке; 2 бали – помірне; 3 бали – виразне забарвлення.

Індекс експресії (ІЕ) розраховували за формулою: $IE = \sum P(i) \times i/100$, де i – виразність забарвлення в балах; $P(i)$ – відсоток структур, забарвлених із різною виразністю.

Результати опрацювали статистично на ПК за допомогою пакета Microsoft Excel 2016, використовуючи кутовий критерій перетворення Фішера. Вірогідною вважали різницю між двома величинами, що порівнювали, за умови $p < 0,05$ (показник вірогідності – понад 95 %).

Пакет досліджень схвалено комісією з медичної етики ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» (протокол № 3 від 07.06.2017 р.).

Результати

У результаті гістологічного дослідження встановили, що причина абортів в I триместрі в жінок основної групи – часткове відшарування ворсинчастого хоріона (ВХ), представленого мезенхімальними ворсинками, вкритими одношаровим синцитіотрофобластом. Частина клітин цитотрофобласта неправильної форми через інвагінацію ядра; інша частина – без'ядерні клітини з мінімальною кількістю цитоплазми й органел. Більшість ворсин аваскулярна (72,7 %), з некрозом і набряком (68,2 %), явищами фіброзу (18,2 %); деякі ворсини наче «замуровані» фібрином. Загальна площа ворсинчастого хоріона через склероз стром

зменшена в 1,5 раза, а товщина його епітеліального покриву – в 4,3 раза. Клітин Кашценка–Госфбауера у стромі аваскулярних і склерозованих ворсин немає; у стромі гіповаскулярних ворсин їхня кількість зменшена майже в 3–4 рази. Ядра склерозованих ворсин витягнутої форми з центральним розташуванням гетеро- та еухроматину.

TNF- α – типовий представник прозапальних цитокінів, який несприятливо впливає на розвиток ембріона та плода [5]. Невипадково у зразках ворсинчастого хоріона та гравідарного ендометрія основної групи спостерігали виразну експресію TNF- α , яка у клітинних острівцях цитотрофобласта та вільних симпластах була вище за показник контролю щонайменше в 1,25 раза, в децидуальних клітинах базального шару ендометрія – в 1,5 раза, внутрішньосудинному цитотрофобласту – майже втричі (табл. 3). Інтерстиціальна інвазія цитотрофобласта на тлі виразної експресії TNF- α через сповільнення децидуалізації ендометрія, набряк, перигландулярну, периваскулярну або дифузну лімфоцитарну інфільтрацію та фокальний некроз відбулася лише в поверхневих відділах функціонального шару ендометрія.

На якість кровопостачання хоріона впливає загальна площа судин ендометрія. Результати свідчать, що у зразках ендометрія основної групи впродовж I триместру прогресивно зменшувалася середня площа артерій, яка в 5–6 тижнів гестації становила $733,8 \pm 65,5$ мкм², в 11–12 тижнів – $235,1 \pm 10,7$ мкм²; у групі контролю – $1497,1 \pm 115,7$ мкм² та $7634,4 \pm 618,7$ мкм² відповідно, $p < 0,001$. Спіральні артерії ендометріальних сегментів виглядали тонкими, незважаючи на збережену ендотеліальну вистілку.

CD31/PECAM-1 – маркер судинної цитотрофобластичної інвазії в ендометрії [5]. Порівнюючи з контролем, в абортивних зразках основної групи (5–12 тижнів) виявили у 1,2 раза меншу експресію CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій та інтерстиціальному цитотрофобласту, в 12,5 раза меншу – у внутрішньосудинному цитотрофобласті (табл. 4), що вказує на відсутність своєчасної трансформації спіральних артерій і порушення цитотрофобластичної інвазії. Крім того, в зразках 1а підгрупи спостерігали у синцитії ворсин негативну експресію VEGF, слабку експресію CD105 та виразну експресію Vcl-2 α ; у стромі ворсин – виразну експресію ембріотоксичної популяції NK-CD56; у децидуальній оболонці – слабку та нерівномірну експресію CD45.

Під час мікроскопії зразків плаценти, отриманих внаслідок пізнього викидня (1а підгрупа), визначили вогнища материнського внутрішнього інфаркту, масивне перивільозне відкладання фібрину, виразну затримку дозрівання ворсин, чималу кількість аваскулярних ворсин із фіброзом стром (рис. 1А). У 5 % зразків плаценти після викидня в 16–21 тиждень гестації виявили «децидуальну артеріопатію», що вказує на недостатню оксигенацію міжворсинчастого простору [6–9] (рис. 1Б). У названих судинах визначена негативна експресія CD105, VEGF та нерівномірна експресія CD31.

У зразках плаценти після викидня у 20–21 тиждень гестації (1а підгрупа) виявили патологічні зміни з боку материнських структур, які обмежують

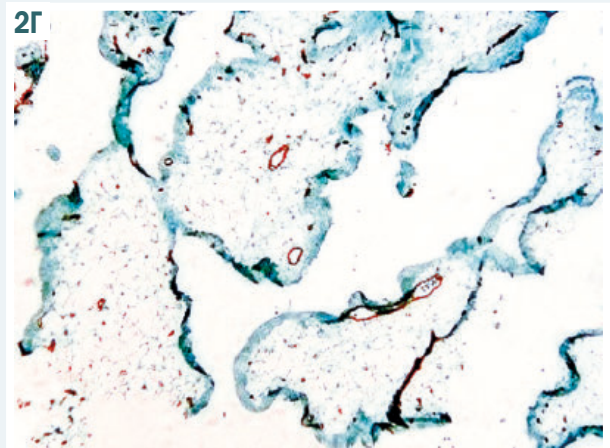
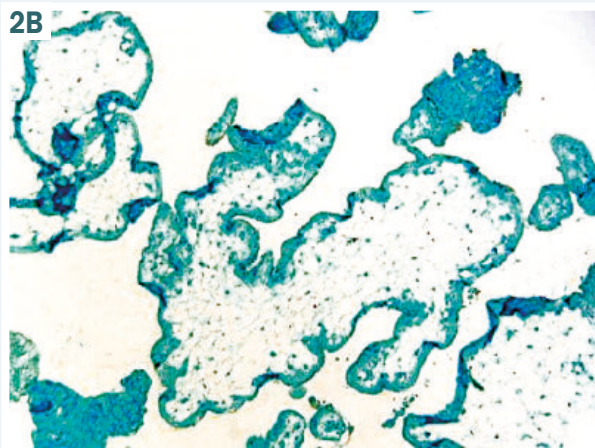
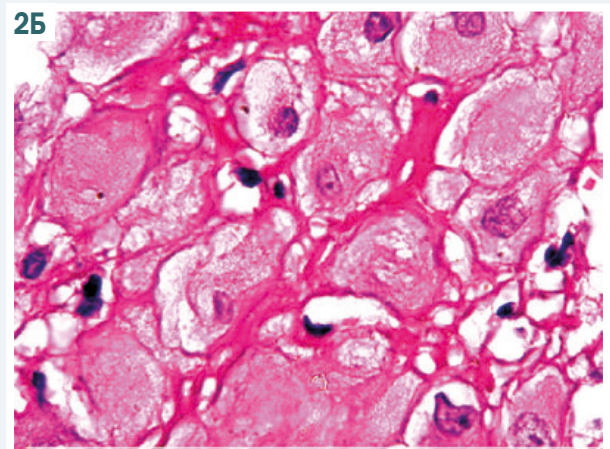
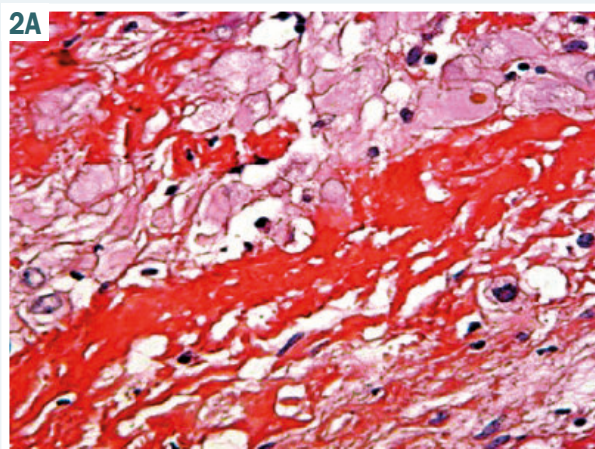
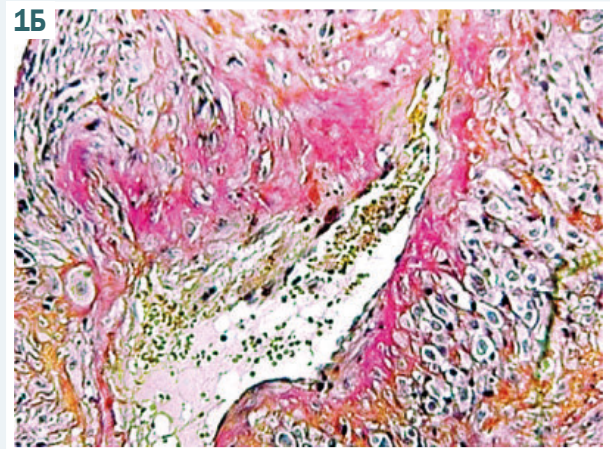
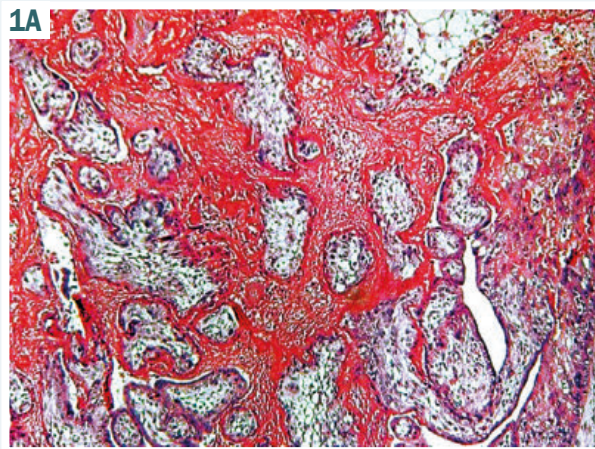


Рис. 1. Мікроскопічні зміни в плаценті пацієток 1а підгрупи, у яких вагітність через 16 тижнів завершилася викиднем. **А:** материнський внутрішній інфаркт; **Б:** децидуальна артеріопатія з поверхневою імплантацією судин. Забарвлення: А – гематоксиліном та еозином, Б – за ван Гізоном. Зб.: А – $\times 100$, Б – $\times 300$.

Рис. 2. Мікроскопічні й імуногістохімічні зміни в плаценті пацієток 1а підгрупи, у яких вагітність через 21 тиждень завершилася викиднем. **А:** вогнища некрозу децидуальних клітин; **Б:** дистрофічні зміни і апоптоз децидуальних клітин; **В:** відсутність експресії CD105; **Г:** нерівномірна експресія CD31. Забарвлення: А, Б – гематоксиліном та еозином; В – CD105/Endoglin/TGF β 1/3 Receptor; Г – CD31/PECAM-1 (клон JC/70A). Зб.: А – $\times 200$, Б – $\times 400$, В, Г – $\times 100$.

функціональні можливості плаценти: хронічний децидуїт, множинні вогнища некрозу (рис. 2А), порушення гістоархітекtonіки децидуальної оболонки через нерівномірне потовщення або відшарування, виражену дистрофію або апоптоз децидуальних клітин (рис. 2Б). В синцитії ворсин спостерігали

негативну експресію судинних маркерів: негативну експресію CD105 (рис. 2В), нерівномірну експресію CD31 (рис. 2Г), слабку експресію V α 1-2 α і помірну експресію TNF- α ; у стромі ворсин – виражену експресію ембріотоксичних NK-CD56; у децидуальній оболонці – негативну експресію нетоксичної популяції

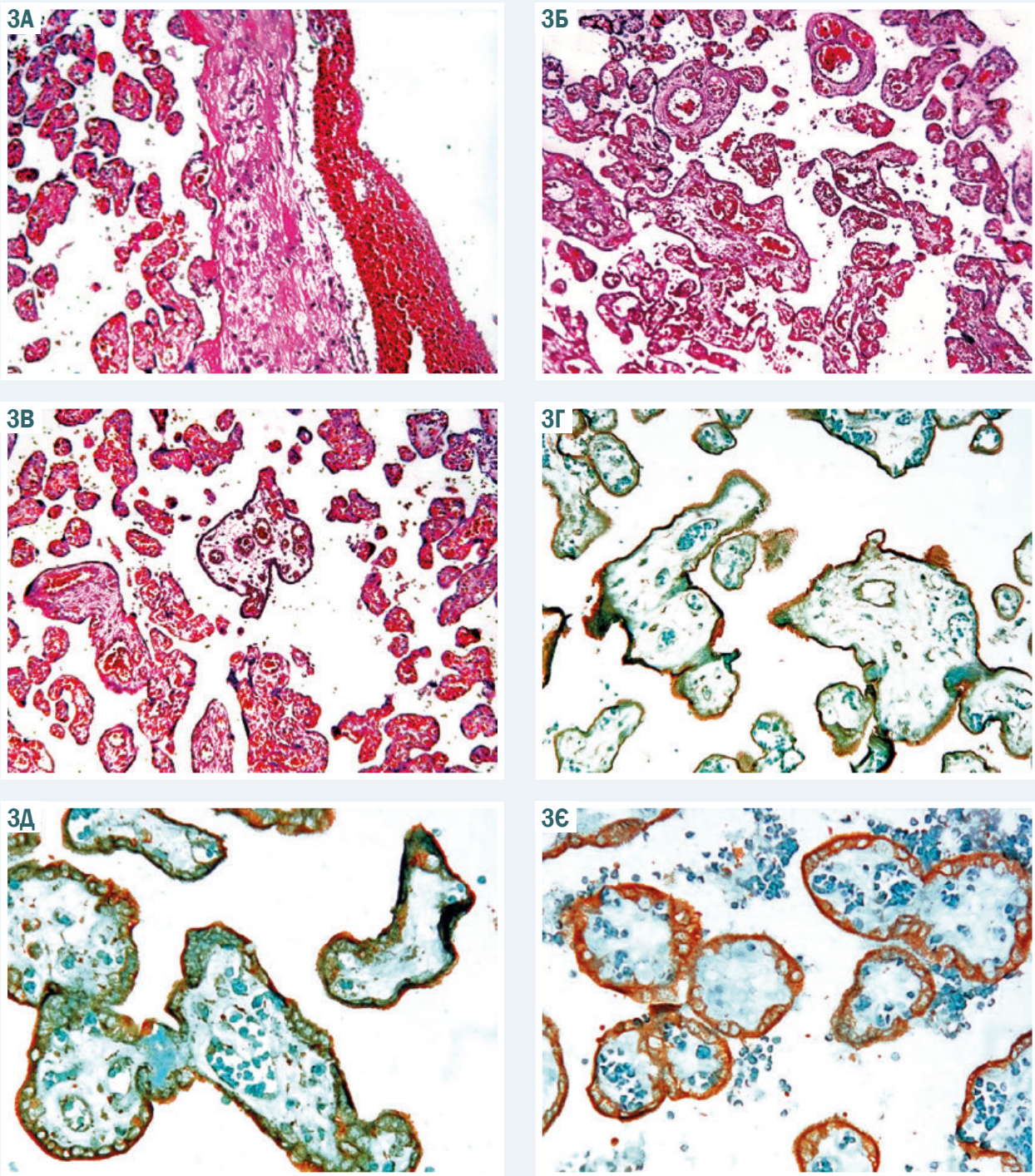


Рис. 3. Мікроскопічні й імуногістохімічні зміни в плаценті пацієнок 1в підгрупи, в яких вагітність закінчилася пологами в 39 тижнів. А: поодинокі ділянки дистрофічних змін, мікровідшарування децидуальної оболонки; Б: ворсинки з прискореним дозріванням і частковим порушенням перфузії; В: ділянки незрілого екстравілозного трофобласта та незрілих ворсинок.

Забарвлення: А, Б, В – гематоксилином та еозином; Г – CD105/Endoglin/TGFβ 1/3 Receptor; Д – VEGF; Е – Bcl-2α Ab-1 (клон 100/D5).
3б.: А, Б, В, Г, Д, Е ×100.

NK-CD56 і виразну експресію CD45. Це підтверджує визначальну роль запального процесу в розвитку НВ.

У зразках плаценти після передчасних пологів (16 підгрупа) виявили низку гістологічних відмінностей, що залежали від того, живою чи мертвою народилася дитина. Якщо дитина народилася живою, визначали

патологічні зміни здебільшого материнських структур плаценти: проліферацію синцитіотрофобласта, прискорене дозрівання та фіброз строми ворсин, вогнища внутрішнього інфаркту, часткове відшарування децидуальної оболонки, часткове порушення перфузії, фокальну лімфоцитарну інфільтрацію в децидуальній

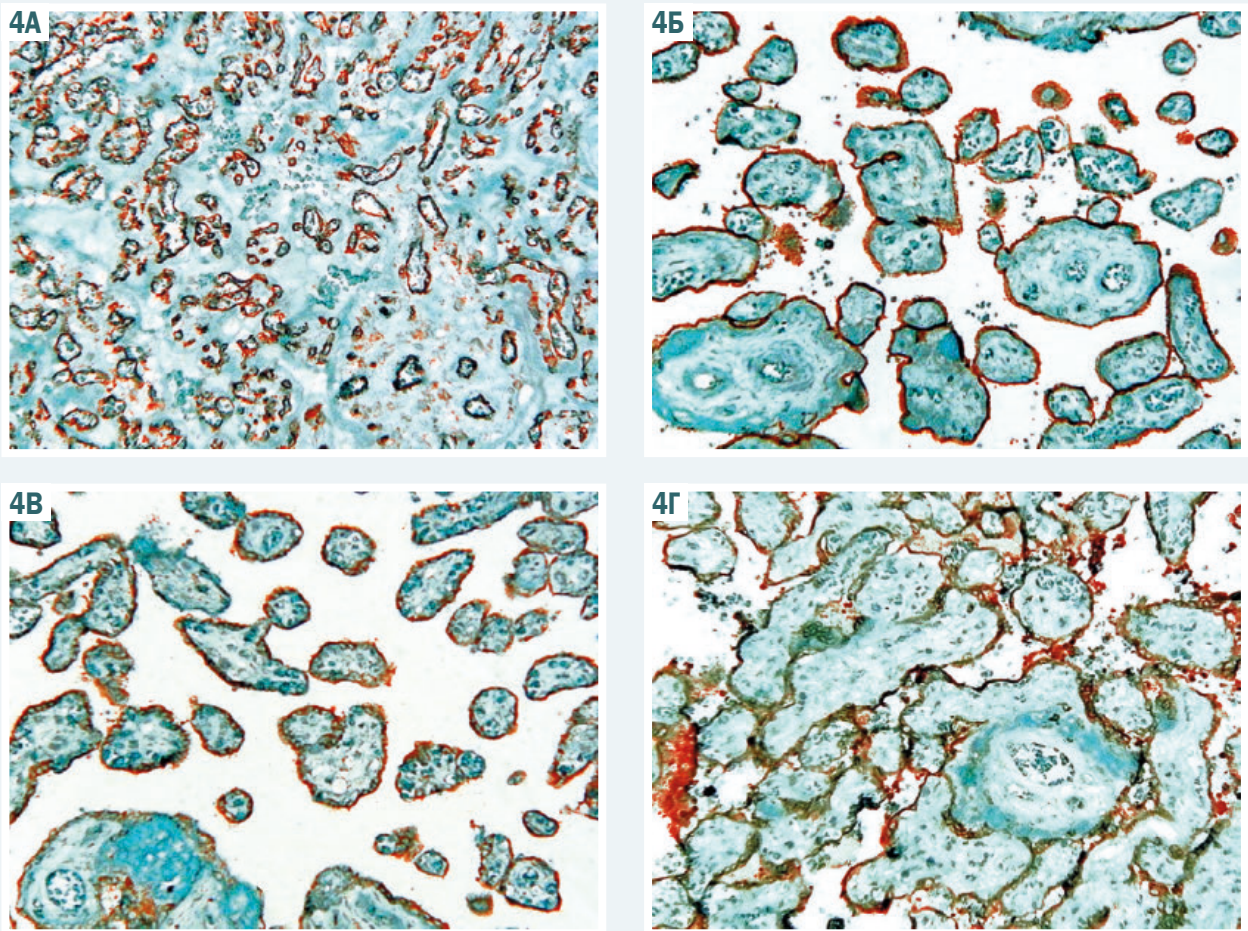


Рис. 4. Імуногістохімічна характеристика плаценти жінок контрольної групи (40 тижнів вагітності). А: CD31/PECAM-1 (клон JC/70A); Б: CD105/Endoglin/TGFβ 1/3 Receptor; В: VEGF; Г: Vcl-2α Ab-1 (клон 100/D5). 36.: А, Б, В, Г ×100.

оболонці і в міжворсинчастому просторі; нерівномірну експресію CD105, VEGF, CD31, Vcl-2α, а також помірну експресію TNF-α та CD45 у синцитії та стромі ворсин.

Народженню мертвої дитини передували затримка дозрівання ворсин, набряк стромі ворсин, поширення внутрішнього інфаркту, гострий хоріоамніоніт, децидуїт, повне порушення перфузії на тлі тотального відшарування децидуальної оболонки. Спостерігали помірну експресію TNF-α, слабку експресію Vcl-2α, негативну експресію CD105, VEGF, CD31 в синцитії та стромі ворсин, помірну експресію CD45 у міжворсинчастому просторі, вкрай виразну експресію CD45 у децидуальній оболонці.

Гістологічна структура плаценти пацієток 1в підгрупи загалом схожа на структуру плацент групи контролю. В плаценті пацієток 1в підгрупи виявили незначні дистрофічні зміни та поодинокі мікрівідшарування децидуальної оболонки, а також поодинокі ділянки прискореного дозрівання ворсинок із частковим порушенням перфузії, поодинокі вогнища внутрішнього материнського мікроінфаркту, ділянки незрілого екстравільозного трофобласта, проліферацію синцитіальних вузликів (рис. 3А,Б,В). У більшості жінок 1в підгрупи плацента (аналогічно контролю) характеризувалася позитивною експресією судинних маркерів CD105, VEGF, а також експресією Vcl-2α (рис. 3Г,Д,Є).

У плаценті жінок із фізіологічним перебігом вагітності лише в поодиноких зразках виявили на материнській поверхні ділянки внутрішнього інфаркту та поодинокі ворсини з прискореним дозріванням і порушенням перфузії; на плодовій поверхні – поодинокі ворсини з затримкою дозрівання, вогнища незрілого екстравільозного трофобласта з порушенням перфузії. У результаті імуногістохімічного дослідження визначили виразну експресію CD31 в ендотелії судин ворсин, помірну експресію CD105, слабку експресію VEGF, слабку експресію CD56, негативну експресію CD45 та помірну експресію Vcl-2α у синцитії ворсин (рис. 4 А–Г).

Отже, за результатами гістологічного й імуногістохімічного аналізу зразків хоріона та плаценти встановлено, що ембріо-ендометріальна дисфункція – причина ранніх репродуктивних втрат, а запалення – тригер передчасних пологів.

Під час клінічного обстеження виявили, що рівень прогестерону в крові жінок із НВ нижче за показник у здорових вагітних (табл. 5).

Дефіцит прогестерону вказує на недостатню функціональну активність жовтого тіла на початку вагітності або на плацентарну дисфункцію протягом гестації, що є вирішальним у патогенезі невиношування вагітності

Таблиця 5. Концентрація прогестерону в сироватці крові обстежених у динаміці вагітності, М ± m, нмоль/л

Група	n	Концентрація прогестерону у крові за терміном вагітності		
		до 12 тижнів	13–24 тижні	25–36 тижнів
Основна (1)	86	57,50 ± 5,03*	93,40 ± 4,87 *	157,50 ± 11,72 *
Контрольна (2)	20	84,60 ± 8,90	139,06 ± 5,70	283,76 ± 9,26

*: вірогідність різниці щодо показника контролю, $p < 0,01$.

Таблиця 6. Показники кольпоцитологічного дослідження в обстежених жінок протягом вагітності, М ± m, %

Термін вагітності	Група	n	Індекс дозрівання (клітини)			ІК	ІЕ
			парабазальні	проміжні	поверхневі		
до 12 тижнів	Контрольна	20	–	81,40 ± 7,60	18,60 ± 2,90	15,00 ± 4,10	10,70 ± 3,10
	1a	20	0,018 ± 0,017	58,50 ± 6,00*	41,40 ± 6,00*	37,70 ± 6,20*	37,40 ± 5,90*
	1б	20	0,05 ± 0,02*	59,96 ± 2,90*	39,98 ± 2,90*	35,60 ± 2,90*	37,10 ± 2,90*
	1в	30	0,018 ± 0,017	59,00 ± 4,90*	40,98 ± 4,90*	36,50 ± 5,10*	38,70 ± 5,00*
13–24 тижні	Контрольна	20	–	88,80 ± 4,70	11,20 ± 2,20	8,90 ± 2,00	6,10 ± 1,30
	1a	20	0,06 ± 0,03 *	66,65 ± 3,00*	33,30 ± 3,00*	29,40 ± 2,80*	30,90 ± 3,00*
	1б	15	0,07 ± 0,03 *	59,30 ± 3,60*	40,60 ± 3,60*	36,30 ± 3,70*	38,40 ± 3,70*
	1в	30	0,16 ± 0,04 *	67,20 ± 2,20*	32,60 ± 2,20*	28,30 ± 2,20*	30,50 ± 2,20*
25–36 тижнів	Контрольна	20	–	90,90 ± 5,00	9,00 ± 0,36	7,90 ± 0,23	5,60 ± 0,30
	1б	15	0,37 ± 0,06 *	69,30 ± 2,90*	30,40 ± 2,90*	26,40 ± 2,80*	29,3 ± 3,1*
	1в	30	0,20 ± 0,07 *	77,70 ± 3,10*	21,90 ± 3,10*	21,70 ± 1,80*	18,5 ± 3,1*

*: вірогідність різниці щодо показника контролю, $p < 0,05$.

та затримки розвитку плода. Функціональні порушення у фетоплацентарному комплексі пацієнток були виявлені заздалегідь шляхом кольпоцитологічного дослідження. За даними, що наведені в таблиці 6, виразна прогестеронова недостатність виявлена у вагітних основної групи (підвищення кількості поверхневих клітин, індексу каріопікнозу та еозинофілії), починаючи з першого триместру. Крім естрогенного типу мазків, у вагітних визначали атрофічні мазки, що вказують на дистрес плода.

Обговорення

Інвазія трофобласта в децидуальну оболонку та внутрішню третину міометрія передбачає секреторну трансформацію ендометрія, високий розвиток спіральних артерій, високу проліферативну активність і забезпечує формування повноцінного матково-плацентарного кровообігу. Регулює процес ендогенний прогестерон, який спричиняє проліферацію та васкуляризацію міометрія, нейтралізує дію окситоцину, впливає на синтез простагландинів, опосередковано гальмує реакцію відторгнення плода через Th-2 імунну відповідь [3,5,28]. Ми визначили, що у крові жінок із НВ рівень прогестерону нижче за показник у здорових вагітних. Брак прогестерону або пошкодження його рецепторів активують продукцію прозапального TNF- α , який спричиняє пряму ембріотоксичну дію та спільно з децидуалізацією ендометрія. Тому виразну експресію TNF- α у зразках хоріона й гравідарного ендометрія основної групи спостерігали на тлі сповільнення децидуалізації ендометрія, порушення трансформації спіральних артерій і вогнищ запалення. При цьому хоріон був у стані гіпергенеративності, з набряком і склерозом ворсин. В окремих зразках виявили субтотальну редукцію цитотрофобласта.

Але механізм переривання вагітності в жінок основної групи пов'язаний не тільки з дефіцитом

прогестерону. Причина ранніх репродуктивних втрат – неспроможність першої хвилі інвазії цитотрофобласта внаслідок ембріо-ендометріальної дисфункції. Ознакою порушеної цитотрофобластичної інвазії та маркером НВ у I триместрі визначили слабку експресію CD31/PECAM-1 в ендотелії спіральних артерій, внутрішньосудинному й інтерстиціальному трофобласту; негативну експресію VEGF, слабку експресію CD105 та виразну експресію Vcl-2 α в синцитії ворсин; виразну експресію NK-CD56 у стромі ворсин; слабку та нерівномірну експресію CD45 в децидуальній тканині.

У відповідь на проникнення бластоцисти виникає запальна реакція. До ділянки імплантації з крові мігрують лімфоцити, макрофаги, гранулоцити. Великі гранулярні лімфоцити CD56 становлять 80 % імунних клітин ендометрія, що забезпечують імунологічну толерантність до вагітності, контролюють глибину занурення трофобласта, регулюють продукцію факторів росту та прозапальних цитокінів. Функціональну активність NK вважають імунологічним маркером несприятливого перебігу вагітності. Характерна ознака звичного викидня – високий вміст у периферичній крові активованих NK (NKПК), представлених цитотоксичними CD56dimCD16pos, та незначна кількість децидуальних NK (dNK), представлених нетоксичними CD56brightCD16neg [20–22]. Отже, підвищена продукція прозапальних цитокінів чинить пряму ембріотоксичну дію та призводить до втрати вагітності або гіпоплазії хоріона з наступним розвитком первинної плацентарної недостатності (ПН). Тобто вже на етапі імплантації та раннього ембріогенезу на тлі гістоструктурних змін формуються порушення компенсаторно-приспосувальних механізмів фетоплацентарного комплексу.

Результати гістологічного дослідження зразків плаценти після пізнього викидня вказують на поширений запальний процес, відшарування децидуальної

оболонки, порушення перфузії, наявність множинних ділянок внутрішнього інфаркту та затримку ворсинчастого дозрівання. На формування первинної ПН суттєво впливає стан спіральних артерій, який визначає якість матково-плацентарного кровообігу. У ділянці плацентарного майданчика в 5 % випадків виявили гіпереластичний артерioskлероз спіральних артерій, який засвідчує поверхневу імплантацію, порушення гемостазу, мікроциркуляції, метаболічної та транспортної функції плаценти. Недостатня інтраплацентарна оксигенація через гальмування кровообігу в артеріях пуповини впливає на стан плода. Якщо компенсаторні властивості плаценти збережені, вагітність завершується терміновими пологамі. За інших обставин, через локальну зміну концентрації кисню запускається цитокіновий каскад, який спричиняє загибель плода та/або переривання вагітності.

Маркерами НВ у II триместрі слід вважати помірну експресію TNF- α у синцитії та виразну експресію NK-CD56 у стромі ворсин, а також виразну експресію CD45 у децидуальній оболонці, які підтверджують вирішальну роль запалення в передчасному перериванні вагітності. Активізація фагоцитозу й синтез низькомолекулярних медіаторів запалення спричиняють розширення та вкорочення шийки матки, розрив плодових оболонок і, врешті, настання передчасних пологів.

Встановили низку гістологічних відмінностей залежно від того, живою чи мертвою народилася дитина внаслідок передчасних пологів. Так, у разі народження живої дитини патологічні зміни виявляли передусім у материнських структурах плаценти в поєднанні з нерівномірною експресією судинних маркерів і регуляторів апоптозу, помірною експресією TNF- α і CD45. У разі народження мертвої дитини реєстрували гострий поширений запальний процес, що охоплює і материнські, й плодові структури плаценти з помірною експресією TNF- α у синцитії та стромі ворсин, у край виразною експресією CD45 у децидуальній оболонці.

Прегравідарна підготовка, ретельне спостереження та своєчасне призначення патогенетичної терапії створили умови для сприятливого завершення гестації у вагітних 1в підгрупи. Загалом гістологічна картина зразків плаценти 1в підгрупи схожа зі зразками групи контролю. Більшість зразків мала позитивну експресію судинних маркерів CD105 та VEGF, а також експресію Vcl-2 α .

Отже, в основі НВ – структурні й функціональні зміни хоріона та плаценти. Передумовою ранніх репродуктивних втрат є ембріо-ендометріальна дисфункція, а передчасних пологів – запалення. Визначення плацентарних маркерів невиношування вагітності відкриває шляхи для вдосконалення наявних технологій запобігання репродуктивним втратам із прегравідарного етапу та впродовж гестації.

Висновки

1. Порушення цитотрофобластичної інвазії на тлі ембріо-ендометріальної дисфункції – причина невиношування вагітності ранніх термінів, запалення – передумова передчасних пологів.

2. Маркери невиношування вагітності I триместру в структурах хоріона та ендометрія – виразна експресія TNF- α і NK-CD56, слабка експресія CD31/PECAM-1 та негативна експресія VEGF.

3. Маркери невиношування вагітності II триместру – помірна експресія TNF- α в синцитії, виразна експресія NK-CD56 у стромі ворсин, виразна експресія CD45 у децидуальній оболонці.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні нових і вдосконаленні наявних технологій діагностики, профілактики й терапії передчасного переривання вагітності на основі визначення плацентарних маркерів невиношування вагітності різних термінів.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР «Розробити новітні та вдосконалити існуючі технології діагностики, профілактики та лікування передчасного переривання вагітності у жінок із невиношуванням з урахуванням паспорта плаценти», № держреєстрації 0118U000039.

Подяка

Автори роботи висловлюють подяку керівнику лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» доктору медичних наук, професору, члену-кореспонденту НАМН України Т. Д. Задорожній і старшому науковому співробітнику лабораторії патоморфології С. М. Кирихевич за допомогу у здійсненні наукових досліджень.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 24.05.2021

Після доопрацювання / Revised: 24.09.2021

Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2021

Відомості про авторів:

Живецька-Денисова А. А., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення наукових проблем невиношування вагітності, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-8418-5740](https://orcid.org/0000-0001-8418-5740)

Воробіява І. І., д-р мед. наук, керівник відділення наукових проблем невиношування вагітності, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0002-6836-5845](https://orcid.org/0000-0002-6836-5845)

Скрипченко Н. Я., д-р мед. наук, керівник відділення впровадження та вивчення ефективності сучасних медичних технологій в акушерстві та перинатології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-2849-8499](https://orcid.org/0000-0003-2849-8499)

Толкач С. М., канд. мед. наук, провідний науковий співробітник відділення наукових проблем невиношування вагітності ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-0753-8869](https://orcid.org/0000-0003-0753-8869)

Раздайбедін С. М., канд. мед. наук, доцент каф. дерматології та венерології з курсом косметології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ.

Бондаренко Ю. М., молодший науковий співробітник, лабораторія патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Information about authors:

Zhyvetska-Denysova A. A., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Vorobiova I. I., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Skrypchenko N. Ya., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Introduction and Research of Modern Medical Technologies Effectiveness in Obstetrics and Perinatology, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Tolkach S. M., MD, PhD, Leading Researcher of the Department of Scientific Problems of Miscarriage, State Institution "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Razdaibiedin S. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Dermatology and Venereology with a Course of Cosmetology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Bondarenko Yu. M., Junior Researcher, Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Сведения об авторах:

Живецька-Денисова А. А., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Воробьева И. И., д-р мед. наук, руководитель отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Скрипченко Н. Я., д-р мед. наук, руководитель отделения внедрения и изучения эффективности современных медицинских технологий в акушерстве и перинатологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Толкач С. Н., канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения научных проблем невынашивания беременности, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Раздаибедин С. М., канд. мед. наук, доцент каф. дерматологии и венерологии с курсом косметологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев.

Бондаренко Ю. М., младший научный сотрудник, лаборатория патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Список літератури

- [1] Тетрашвили Н. К. Привычный выкидыш. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2017. № 4. С. 70-87. <https://doi.org/10.24411/2303-9698-2017-00010>
- [2] Чечуга С. Б., Ночвина Е. А., Гамарелдин А. С. Патогенетическая терапия невынашивания беременности у женщин с гипергомоцистеинемией и гестагенной недостаточностью. *Здоровье женщины*. 2012. № 5. С. 80-85. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zdz_2012_5_19
- [3] Плацента як дзеркало вагітності (Огляд літератури) / А. А. Живецька-Денисова, І. Воробйова, В. Б. Ткаченко та ін. *Здоровье женщины*. 2019. № 3. С. 101-106. https://med-expert.com.ua/journals/publishing-activity/zdorove-zhenshchiny/zdorove-zhenshhiny-%e2%84%9602-2019/#dfllp-df_23661/101/
- [4] Патология плаценты (современные аспекты) / под ред. Ю. Г. Антипкина, Т. Д. Задорожной, О. И. Парницкой. Киев: ООО «Атопол», 2016. 127 с.
- [5] Особливості цитокінового профілю в структурах хоріону та плаценти при передчасному перериванні вагітності / А. А. Живецька-Денисова,

- I. I. Vorobiova, N. Ya. Skrypchenko, V. B. Tkachenko. *Патологія*. 2020. Т. 17, № 2. С. 191-201. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212790>
- [6] Redline R. W. Classification of placental lesions. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2015. № 213, (suppl. 4). P. 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.05.056>
- [7] Морфологическая классификация повреждений плаценты / Н. П. Веропотвелян, П. Н. Веропотвелян, И. С. Цехмистренко и др. *Здоровье женщины*. 2016. № 8. С. 63-71. <https://doi.org/10.15574/hw.2016.114.63>
- [8] Щеголев А. И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты. *Акушерство и гинекология*. 2016. № 4. С. 16-23. <https://doi.org/10.18565/aig.2016.4.16-23>
- [9] Pathology of the Placenta: A Practical Guide / eds. T. Y. Khong, E. E. Mooney, P. G. J. Nikkels et al. Switzerland: Springer Nature, 2019. 395 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-97214-5>
- [10] Иммунологические аспекты неразвивающейся беременности в первом триместре гестации (обзорная статья) / Э. Рамазанова, Г. Бапаева, Г. Ахмедьянова и др. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2017. № 4. С. 15-19.
- [11] Вазуляризація ворсин хоріона в першому триместрі вагітності при фізіологічному теченні і звичайному невынаванні на фоні хронічного ендометриозу / Л. П. Перетятко, Н. В. Фатеева, Р. А. Кузнецов, А. И. Малышкина. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова*. 2017. Т. 25, № 4. С. 612-620. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ20174612-620>
- [12] The role of VEGF and its receptors in the etiology of early pregnancy loss / I. Cöl-Madendag, Y. Madendag, S. Ö. Altinkaya et al. *Gynecological endocrinology*. 2014. Vol. 30, Iss. 2. P. 153-156. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.864272>
- [13] Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium / H. Okada, T. Tsuzuki, H. Shindoh et al. *The journal of obstetrics and gynecology research*. 2014. Vol. 40, Iss. 5. P. 1180-1187. <https://doi.org/10.1111/jog.12392>
- [14] Волкова Е. В., Копылова Ю. В. Роль сосудистых факторов роста в патогенезе плацентарной недостаточности. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2013. № 2. С. 29-33.
- [15] Нарушение процессов ангиогенеза, апоптоза и пролиферации в тканях плодного яйца и эндометрия при неразвивающейся беременности в I триместре / Н. А. Семенцова, Ю. Н. Пономарева, Т. Г. Барсанова, О. В. Зайратьянц. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2012. № 3. С. 11-16.
- [16] Transforming growth factor β 1 (TGF β 1) in physiology and pathology / D. Kajdaniuk, B. Marek, H. Borgiel-Marek et al. *Endokrynologia Polska*. 2013. Vol. 64, Iss. 5. P. 384-396. <https://doi.org/10.5603/EP.2013.0022>
- [17] Батрак Н. В., Малышкина А. И., Крошкина Н. В. Иммунологические аспекты привычного невынашивания беременности. *Акушерство и гинекология*. 2014. № 12. С. 10-14.
- [18] Alijotas-Reig J., Llurba E., Gris J. M. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*. 2014. Vol. 35, Iss. 4. P. 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.02.004>
- [19] Роль імунних механізмів в патогенезі невынавання вагітності / Ю. Э. Доброхотова, Л. В. Ганковская, И. В. Бахарева и др. *Акушерство и гинекология*. 2016. № 7. С. 5-10. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>
- [20] Human Innate Lymphoid Cells: Their Functional and Cellular Interactions in Decidua / P. Vacca, Ch. Vitale, E. Munari et al. *Frontiers in Immunology*. 2018. Vol. 9. P. 1897. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01897>
- [21] Matson B. C., Caron K. M. Uterine natural killer cells as modulators of the maternal-fetal vasculature. *The International journal of developmental biology*. 2014. Vol. 58, Iss. 2-4. P. 199-204. <https://doi.org/10.1387/ijdb.1400323c>
- [22] Jabrane-Ferrat N., Siewiera J. The up side of decidual natural killer cells: new developments in immunology of pregnancy. *Immunology*. 2014. Vol. 141, Iss. 4. P. 490-497. <https://doi.org/10.1111/imm.12218>
- [23] Особливості розвитку запальних реакцій у плаценті при пологах на різних термінах гестації / І. І. Воробйова, Н. Я. Скрипченко, В. Б. Ткаченко та ін. *Репродуктивна ендокринологія*. 2020. № 2. С. 44-48. http://nbuv.gov.ua/UJRN/repe_2020_3_9
- [24] Роль порушення цитокінового профіля в зниженні фертильності / Л. В. Чернобай, А. Н. Тищенко, В. В. Лазуренко и др. *Міжнародний медичний журнал*. 2016. № 2. С. 38-43. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2016_22_2_10
- [25] Characterization of the subsets of human NK T-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion / J. Yuan, J. Li, S. Y. Huang, X. Sun. *Journal of reproductive immunology*. 2015. Vol. 110. P. 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>
- [26] Azizieh F. Y., Raghupathy R. G. Tumor necrosis factor- α and pregnancy complications: a prospective study. *Medical principles and practice*. 2015. Vol. 24, Iss. 2. P. 165-170. <https://doi.org/10.1159/000369363>
- [27] Полушкина Е. С., Шмаков Р. Г. Роль дидрогестерона в привычном невынашивании беременности. *Медицинский Совет*. 2020. № 3. С. 74-77. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-74-77>
- [28] Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Москва: Медицина. 1990. 384 с.

References

- [1] Tetruashvili, N. K. (2017). Privychnyy vykidysh [Habitual miscarriage]. *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obucheniye*, (4), 70-87. [in Russian]. <https://doi.org/10.24411/2303-9698-2017-00010>
- [2] Chechuga, S. B., Nochvina, E. A., & Abdallah Sali. (2012). Patogeneticheskaya terapiya nevnashivaniya beremennosti u zhenshchin s giperghomotsisteinemiyei y gestagennoy nedostatochnost'yu [Pathogenetic therapy of miscarriage in women with hyperhomocysteinemia and progesterone deficiency]. *Zdorovie zhenshiny*, (5), 80-85. [in Ukrainian]. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zdzh_2012_5_19
- [3] Zhivetskaya-Denisova, A. A., Vorobyova, I. I., Tkachenko, V. B., Podolskiy, V. V., & Tykha, V. G. (2019). Platsenta yak dzerkalo vahitnosti (Ohliad literatury) [Placenta – mirror of pregnancy (literature review)]. *Zdorove zhenshchiny*, (3), 101-106. [in Ukrainian]. https://med-expert.com.ua/journals/publishing-activity/zdorove-zhenshchiny/zdorove-zhenshchiny-%e2%84%9602-2019/#dflip-df_23661/101/
- [4] Antipkin, Yu. G., Zadorozhnaya, T. D., & Parnitskaya, O. I. (Eds.). (2016). *Patologiya placenty (sovremennyye aspekty)* [Pathology of placenta: modern aspects]. Kyiv. [in Russian].
- [5] Zhyvetska-Denysova A. A., Vorobiova I. I., Skrypchenko N. Ya., & Tkachenko V. B. (2020). Osoblyvosti tsytokinovoho profilu v strukturakh khoriону ta platsenty pry peredchasnomu pereryvanni vahitnosti [Features of the cytokine profile in the structures of chorion and placenta in premature termination of pregnancy]. *Pathologia*, 17(2), 191-201. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.2.212790>
- [6] Redline, R. W. (2015). Classification of placental lesions. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 213(4), 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.05.056>
- [7] Veropotvelyan, N. P., Veropotvelyan, P. N., Tsehmistrenko, I. S., Bondarenko, A. A., & Usenko, T. V. (2016). Morfologicheskaya klassifikatsiya povrezhdeniy platsenty [Morphological classification of lesions of the placenta]. *Zdorove zhenshchiny*, (8), 63-71. [in Russian]. <https://doi.org/10.15574/hw.2016.114.63>
- [8] Shegolev, A. I. (2016). Sovremennaya morfologicheskaya klassifikatsiya povrezhdeniy platsenty [Current morphological classification of damages to the placenta]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (4), 16-23. [in Russian]. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.4.16-23>
- [9] Khong, T. Y., Mooney, E. E., Nikkels, P. G. J., Morgan, T. K., & Gordijn, S. J. (Eds.). (2019). *Pathology of the Placenta: A Practical Guide*. Switzerland: Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-97214-5>
- [10] Ramazanova, E., Bapaeva, G., Akhmedianova, G., Hozhamuratova, A., Alisheva, A., & Shuganova, A. (2017). Immunologicheskiye aspekty nerazvivayushcheysya beremennosti v pervom trimestre gestatsii (obzornaya stat'ya) [Immunological aspects of missed abortion of the first trimester gestation]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*, (4), 15-19. [in Russian].
- [11] Peretiakho, L. P., Fateeva, N. V., Kuznetsov, R. A., & Malysheva A. I. (2017). Vaskulyarizatsiya vorsk khoriону v pervom trimestre beremennosti pri fiziologicheskoy techenii i privychnom nevnashivanii na fone khronicheskogo endometrita [Vascularization of chorion villi in the first trimester of gestation with physiological course and in recurrent miscarriage with underlying chronic endometritis]. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*, 25(4), 612-620. [in Russian]. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ20174612-620>
- [12] Cöl-Madendag, I., Madendag, Y., Altinkaya, S. Ö., Bayramoglu, H., & Danisman, N. (2014). The role of VEGF and its receptors in the etiology of early pregnancy loss. *Gynecological endocrinology*, 30(2), 153-156. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.864272>
- [13] Okada, H., Tsuzuki, T., Shindoh, H., Nishigaki, A., Yasuda, K., & Kanzaki, H. (2014). Regulation of decidualization and angiogenesis in the human endometrium: mini review. *The journal of obstetrics and gynecology research*, 40(5), 1180-1187. <https://doi.org/10.1111/jog.12392>
- [14] Volkova, E. V., & Kopylova, Yu. V. (2013). Rol' sosudistykh faktorov rosta v patogeneze platsentarnoy nedostatochnosti [The role of vascular growth factors in the pathogenesis of placental insufficiency]. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduktivnaya medicina*, 7(2), 29-33. [in Russian].
- [15] Sementsova, N. A., Ponomareva, Ju. N., Barsanova, T. G., & Zayratyants, O. V. (2012). Narusheniye protsessov angiogeneza, apoptoza i proliferatsii v tkanyakh plodnogo yaitsa i endometrii pri nerazvivayushcheysya beremennosti v I trimestre [Disorders of angiogenesis, apoptosis and proliferation in the tissue of the gestational sac and endometrium in non-developing pregnancy]. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya*, (3), 11-16. [in Russian].
- [16] Kajdaniuk, D., Marek, B., Borgiel-Marek, H., & Kos-Kudla B. (2013). Transforming growth factor β 1 (TGF β 1) in physiology and pathology. *Endokrynologia Polska*, 64(5), 384-96. <https://doi.org/10.5603/EP.2013.0022>
- [17] Batrak, N. V., Malysheva, A. I., & Kroshkina, N. V. (2014). Immunologicheskiye aspekty privychnogo nevnashivaniya beremennosti [Immunological aspects of habitual miscarriage]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (12), 10-14. [in Russian].
- [18] Aljotas-Reig, J., Llubra, E., & Gris, J. M. (2014). Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*, 35(4), 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.02.004>
- [19] Dobrokhotova, Yu. E., Gankovskaya, L. V., Bakhareva, I. V., Svitich, O. A., Malushenko, S. V., & Magomedova, A. M. (2016). Rol' immunnykh mekhanizmov v patogeneze nevnashivaniya beremennosti [Role of immune mechanisms in the pathogenesis of miscarriage]. *Akusherstvo i hinekoloziya*, (7), 5-10. [in Russian]. <http://doi.org/10.18565/aig.2016.7.5-10>
- [20] Vacca, P., Vitale, Ch., Munari, E., Cassatella, M. A., Mingari, M. C., & Moretta L. (2018). Human Innate Lymphoid Cells: Their Functional and Cellular Interactions in Decidua. *Frontiers in Immunology*, (9), 1897. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01897>
- [21] Matson, B. C., & Caron, K. M. (2014). Uterine natural killer cells as modulators of the maternal-fetal vasculature. *The International journal of developmental biology*, 58(2-4), 199-204. <https://doi.org/10.1387/ijdb.140032kc>
- [22] Jabrane-Ferrat, N., & Siewiera, J. (2014). The up side of decidual natural killer cells: new developments in immunology of pregnancy. *Immunology*, 141(4), 490-497. <https://doi.org/10.1111/imm.12218>
- [23] Vorobyeva, I. I., Skripchenko, N. Y., Tkachenko, V. B., Tolkach, S. M., & Hrazdaybedin, S. M. (2020). Osoblyvosti rozvytku zapal'nykh reaktsiy u platsenty pry polohakh na riznykh terminakh hestatsiyi [Peculiarities of the inflammatory reactions development in placenta at delivery in different gestational terms]. *Reproduktyvna endokrynologiya*, (2), 44-48. [in Ukrainian]. http://nbuv.gov.ua/UJRN/repe_2020_3_9
- [24] Chernobai, L. V., Tyshchenko, A. N., Lazurenko, V. V., Muryzina, I. Yu., & Yurkova, O. V. (2016). Rol' narusheniya tsytokinovoho profilu v snizhenii fertill'nosti [The role of cytokine profile disruption in fertility reduction]. *Mizhnarodnyi medychny zhurnal*, (2), 38-43. [in Russian]. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2016_22_2_10
- [25] Yuan, J., Li, J., Huang, S. Y., & Sun, X. (2015). Characterization of the subsets of human NK T-like cells and the expression of Th1/Th2 cytokines in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Journal of reproductive immunology*, (110), 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.001>
- [26] Azizieh, F. Y., & Raghupathy R. G. (2015). Tumor necrosis factor- α and pregnancy complications: a prospective study. *Medical principles and practice*, 24(2), 165-170. <https://doi.org/10.1159/000369363>
- [27] Polushkina, E. S., & Shmakov, R. G. (2020). Rol' didrogesterona v privychnom nevnashivanii beremennosti [The role of dydrogesterone in habitual miscarriage]. *Meditsynskiy sovet*, (3), 74-77. [in Russian]. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-3-74-77>
- [28] Avtandilov, G. G. (1990). *Meditsinskaya morfometriya* [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina. [in Russian].

COVID-19 pandemic and quarantine-related health disorders in combatants of Ukraine

N. V. Danilevska *

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

COVID-19, pandemic, quarantine, health disorders, military personnel.

Pathologia

2021; 18 (3), 340-345

*E-mail:

legennant@gmail.com

Here we expand the existing knowledge about disorders associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine. We show that the COVID-19-related pandemic and quarantine can reduce the combat effectiveness of the military, provoking a deterioration in the health of combatants and requires hospitalization.

Aim. Investigate the impact of the COVID-19 pandemic and quarantine on the health of Ukrainian combatants.

Material and methods. A study was conducted between March 12, 2020 and May 22, 2020 at the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology, and Sexology in Zaporizhzhia State Medical University and Zaporizhzhia military hospital (Ukraine). All combatants who were hospitalized during this period were examined. We analyzed medical records, anamnestic data, and performed psychopathological and psychological examinations of all patients.

Results. In 56 % of combatants hospitalized during high quarantine measures, the cause of health disorders is negative COVID-19 pandemic and quarantine-related thoughts that provoke stress. These stressful thoughts associated with the COVID-19 pandemic and quarantine provoke the development of hypertensive emergency (57 % vs 18 %), anxiety syndrome (29 %), dissociative [conversion] disorder (7 %), and exacerbate the negative effects of pre-pandemic diseases, namely, hypertension (43 % vs 27 %), somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system (29 %), panic disorder [episodic paroxysmal anxiety] (7 %), adjustment disorders (7 %), post-traumatic stress disorder (7 %).

Conclusions. Preventive measures need to be developed and applied to combatants to prevent their deteriorating health due to the effects of the COVID-19 pandemic and quarantine stress.

Ключові слова:

COVID-19, пандемія, карантин, розлади здоров'я, учасники бойових дій.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53).
С. 340-345

Розлади здоров'я, пов'язані з пандемією COVID-19 і карантинном, у військовослужбовців України

Н. В. Данілевська

У статті розширюємо наявні знання про розлади здоров'я, пов'язані з COVID-19-зумовленими пандемією та карантинном. Показано, що пандемія COVID-19 і карантин здатні призводити до зниження боєздатності військовослужбовців, спричиняючи погіршення здоров'я, яке потребує екстреної госпіталізації.

Мета роботи – дослідити вплив пандемії COVID-19 та карантину на здоров'я комбатантів України.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили в період із 12 березня 2020 року до 22 травня 2020 року на кафедрі психіатрії, психотерапії, загальної та медичної психології, наркології та сексології Запорізького державного медичного університету та Запорізького військового госпіталю (Україна). В рамках дослідження обстежили всіх учасників бойових дій, яких госпіталізували в цей період. Здійснили клініко-анамнестичне, психопатологічне та психодіагностичне обстеження контингенту.

Результати. У 56 % учасників бойових дій, які госпіталізовані в період найжорсткіших карантинних заходів у країні, в генезі причин порушень здоров'я лежали стресогенні переживання, асоційовані з пандемією COVID-19 і карантинном. Ці стресогенні переживання – чинники розвитку гіпертонічного кризу (57 % vs 18 %), тривожного синдрому (29 %), дисоціативного [конверсійного] розладу (7 %), екзацербували прояви передпандемічних захворювань: гіпертонічної хвороби (43 % vs 27 %), соматоформної вегетативної дисфункції серцево-судинної системи (29 %), панічного розладу [епізодичної пароксизмальної тривоги] (7 %), розладу адаптації (7 %), післятравматичного стресового розладу (7 %).

Висновки. Виявили зв'язок між пандемією COVID-19, карантинном і погіршенням здоров'я військовослужбовців. Це вказує на необхідність розроблення та впровадження профілактичних заходів для учасників бойових дій, аби запобігти погіршенню їхнього здоров'я під впливом стресогенних переживань, що пов'язані з COVID-19-зумовленими пандемією та карантинном.

Ключевые слова:

COVID-19, пандемия, карантин, расстройства здоровья, участники боевых действий.

Патология. 2021.

Т. 18, № 3(53).
С. 340-345

Нарушения здоровья, связанные с пандемией COVID-19 и карантинном, у военнослужащих Украины

Н. В. Данилевская

В статье расширяем имеющиеся знания о расстройствах здоровья, связанных с COVID-19-обусловленными пандемией и карантинном. Показано, что пандемия COVID-19 и карантин способны приводить к снижению боеспособности военнослужащих, провоцируя ухудшение здоровья, требующее экстренной госпитализации.

Цель работы – исследовать влияние пандемии COVID-19 и карантина на здоровье комбатантов Украины.

Материалы и методы. Исследование проводили в период с 12 марта 2020 года по 22 мая 2020 года на кафедре психиатрии, психотерапии, общей и медицинской психологии, наркологии и сексологии Запорожского государственного медицинского университета и Запорожского военного госпиталя (Украина). В рамках работы обследовали всех участников боевых действий, госпитализированных в этот период. Осуществили клинико-anamnestическое, психопатологическое и психодиагностическое обследования контингента.

Результаты. В 56 % случаев у участников боевых действий, госпитализированных в период жёстких карантинных мероприятий в Украине, в генезисе причин нарушений здоровья лежали стрессогенные переживания, ассоциированные с пандемией COVID-19 и карантином. Эти стрессогенные переживания – факторы развития гипертонического криза (57 % vs 18 %), тревожного синдрома (29 %), диссоциативного [конверсионного] расстройства (7 %), экзacerbировали проявления предпандемических заболеваний: гипертонической болезни (43 % vs 27 %), соматоформной вегетативной дисфункции сердечно-сосудистой системы (29 %), панического расстройства [эпизодической пароксизмальной тревоги] (7 %), расстройства адаптации (7 %), посттравматического стрессового расстройства (7 %).

Выводы. Установленная связь между пандемией COVID-19, карантином и ухудшением здоровья военнослужащих указывает на необходимость разработки и применения профилактических мер к участникам боевых действий для предотвращения ухудшения их здоровья под влиянием стрессогенных переживаний, спровоцированных COVID-19-обусловленными пандемией и карантином.

COVID-19 disease caused by the novel Coronavirus strain severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a new coronavirus disease, which was first discovered in late 2019 in Wuhan, China [1,2].

Since the beginning of 2020, COVID-19 has spread rapidly to other countries and has been accompanied by the introduction of unprecedented quarantine measures in the affected countries.

In Ukraine, the first laboratory-confirmed case of COVID-19 was registered on March 3, 2020. On March 11, the World Health Organization (WHO) announced that the COVID-19 outbreak was a pandemic [3]. On the same day, the Government of Ukraine approved medical and social restrictions aimed at preventing the spread of COVID-19 in Ukraine – COVID-19-related quarantine [4].

From the very beginning, COVID-19 caused a great deal of alarm and caused the neuroticism of society. This was facilitated by the significant mortality from COVID-19, the lack of effective treatment algorithms, the unprecedented quarantine measures implemented in the countries, and the widespread media coverage of the COVID-19 problem [5–7].

The number of deaths and the lack of vaccines is a very important point that has given rise to public awareness of COVID-19. Psychological discomfort was added by the requirements of social isolation and organizational restrictions on the part of the government to the population, which were introduced in parallel with the growing incidence of COVID-19. It is possible that they became the basis of neurotic society.

Many researchers have noted the significant impact of the COVID-19-related pandemic on the mental health of the population. From the first months of the first reports of the COVID-19 problem, information about deteriorating mental health associated with pandemics began to emerge [8–10].

Existing disorders can be divided into two types, first one being COVID-19-related mental disorders that arose as a reaction to the Coronavirus strain SARS-CoV-2, and the second one being pandemic and quarantine related mental disorders that arose as a reaction to pandemic or quarantine related constraints [11–15].

It can be concluded that the COVID-19-related pandemic affects the mental health of all population segments

of the affected country: children and adults, health workers, clinical populations, and ordinary citizens [16–20].

We assumed that this impact would be different for different social groups. We were primarily interested in the impact of the COVID-19-related pandemic and quarantine on the military. This is due to the fact that fighting is currently taking place directly on the territory of Ukraine, which attracts a significant number of servicemen [21,22].

In this situation, the mental health of servicemen is as important as possible for a warring country. Ukrainian servicemen are currently vulnerable to traumatic circumstances associated with hostilities, and now more traumatic circumstances associated with COVID-19 have been added. We expect that this may affect the combat effectiveness of the army.

Aim

To investigate the impact of the COVID-19 pandemic and quarantine on the health of Ukrainian combatants.

Materials and methods

Study design and participants. This was a clinical prospective single-center trial. The study was conducted at the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology, and Sexology in Zaporizhzhia State Medical University and Zaporizhzhia military hospital (Ukraine). As part of the study, all combatants who were admitted to the Zaporizhzhia military hospital from March 12, 2020 to May, 22 2020, a period when COVID-19 containment measures (quarantine) in Ukraine were maximal, were examined. During the study, the hospital provided medical care to patients in accordance with the quarantine measures (anti-epidemic measures) implemented in the country. This means that patients with COVID-19 were not hospitalized (special hospitals were designated by the state for patients with COVID-19). Also, during this period, scheduled hospitalizations were canceled due to anti-epidemic measures. Only patients with severe emergencies that prevented servicemen from performing their duties were admitted to the hospital. Thus, all servicemen hospitalized during this period did not suffer from COVID-19. This is very important because we were focused on investigating the COVID-19-related

pandemic and quarantine health disorders in the military, not COVID-19-related health disorders. The quarantine measures introduced by the state were in the nature of social restrictions, which significantly disrupted the normal way of life of the population.

Coronavirus-associated quarantine measures in Ukraine included the following:

- closure of non-strategic enterprises, including the closure of non-food stores and supermarkets, hairdressers, sports facilities, entertainment centers, etc.;
- ban on visiting places of large crowds: sports grounds, playgrounds, parks, beaches, etc.;
- termination of kindergartens;
- closure of secondary and higher education institutions with the transfer of pupils and students to distance learning;
- prohibition of intercity, interregional, international transport connections;
- reducing the number of people in the cabin of public transport at the same time;
- prohibition of planned hospitalizations in medical institutions, only urgent hospitalization was allowed;
- introduced requirement for the population to wear personal protective equipment outside the home – masks and gloves;
- a strict need for social distancing and self-isolation was proclaimed.

During the study period, 25 combatants with health disorders making it impossible for them to serve were hospitalized. The average age of combatants was 40.24 ± 1.96 years old.

This trial was approved by the medical ethics committee of Zaporizhzhia State Medical University. All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations. All participants gave informed consent to participate in the trial.

We have carefully reviewed all medical records of patients related to this hospitalization, as well as all previous hospitalizations, to systematize the health disorders that patients have now and those that were in the past. We also carefully analyzed the anamnestic data. Next, in the context of this study, we conducted a psychiatric examination of all patients to examine their mental state. The next step was to conduct additional psychopathological and psychological research to identify the links between deteriorating military health and the COVID-19-related pandemic and quarantine. We used a Fear of COVID-19 Scale, a seven-item reliable and valid psychometric scale for determining fears and worries related to COVID-19. If the subjects received 14 points or higher, we considered that they had COVID-19-related negative thoughts and stress [23]. This helped us determine whether or not the diseases that were diagnosed in servicemen are COVID-19-related pandemic and quarantine-associated. We considered health disorders as associated with the COVID-19 pandemic and quarantine if such a link was identified simultaneously through a psychopathological study, a psychological interview, a psychoanalytic study, and the Fear of COVID-19 Scale.

Analysis was done using TIBCO Statistica® 13.0 (TIBCO Software Inc. No. JPZ8041382130ARC10-J) and Microsoft Excel 2013 (license No. 00331-10000-

00001-AA404). Methods of clinical, descriptive, and mathematical statistics (determination of arithmetic mean and standard error $M \pm m$) were used for statistical data processing. Fisher's test (φ^*) we also applied. And we to determine differences between data variables of interest and P-value was considered significant at $P \leq 0.05$.

Results

Twenty-five combatants with deteriorating health were hospitalized in a military hospital during the 2 months throughout maximum quarantine restrictions.

Among them, COVID-19 -related pandemic and quarantine health disorders were diagnosed in 14 combatants (56 %) (Fig. 1A). COVID-19-related pandemic and quarantine health disorders included disorders caused by COVID-19-related pandemic stress and disorders exacerbated by COVID-19-related pandemic stress.

These 14 servicemen (56 %) had stressful thoughts associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine and it was associated with the existing deterioration in health (Fig. 1B). The remaining 11 combatants (44 %) had deteriorating health not associated with the COVID-19-related pandemic.

Thus, we found that at maximum quarantine measures, health disorders associated with COVID-19-related pandemic and quarantine were 12 % more likely to hit servicemen than disorders not associated with COVID-19-related pandemic and quarantine, and hence more often reduced the fighting capacity of the army.

For those servicemen with negative thoughts, associated with COVID-19-related pandemic and quarantine, these experiences provoked stress-related hypertensive emergency with too high blood pressure indicators in 8 servicemen (57 %) (systolic blood pressure reached 184.26 ± 5.19 mm Hg, diastolic blood pressure reached 114.29 ± 2.18 mm Hg). These high blood pressure values were significantly higher than the blood pressure values of servicemen with hypertension who did not have the negative thoughts associated with the COVID-19-related pandemic.

Among the servicemen with COVID-19-stress-related hypertensive emergency were 4 servicemen (29 %) with chronic hypertension and 4 servicemen (29 %) with somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system. In these combatants, the symptoms of hypertension and somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system were exacerbated by COVID-19-related pandemic stress.

Fig. 2 shows that among all combatants hospitalized with a hypertensive emergency during the maximum quarantine measures in the country, hypertensive emergency associated with COVID-19-related stress was diagnosed significantly more often than hypertensive not associated with COVID-19-related stress. The same significant statistical dependence existed for somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system (Fig. 1B, Table 1).

COVID-19-related anxiety syndrome, associated with pandemic and quarantine, was diagnosed in 4 servicemen (29 %) and was accompanied by destabilization of chronic hypertension in patients. Also, the dissociative [conversion]

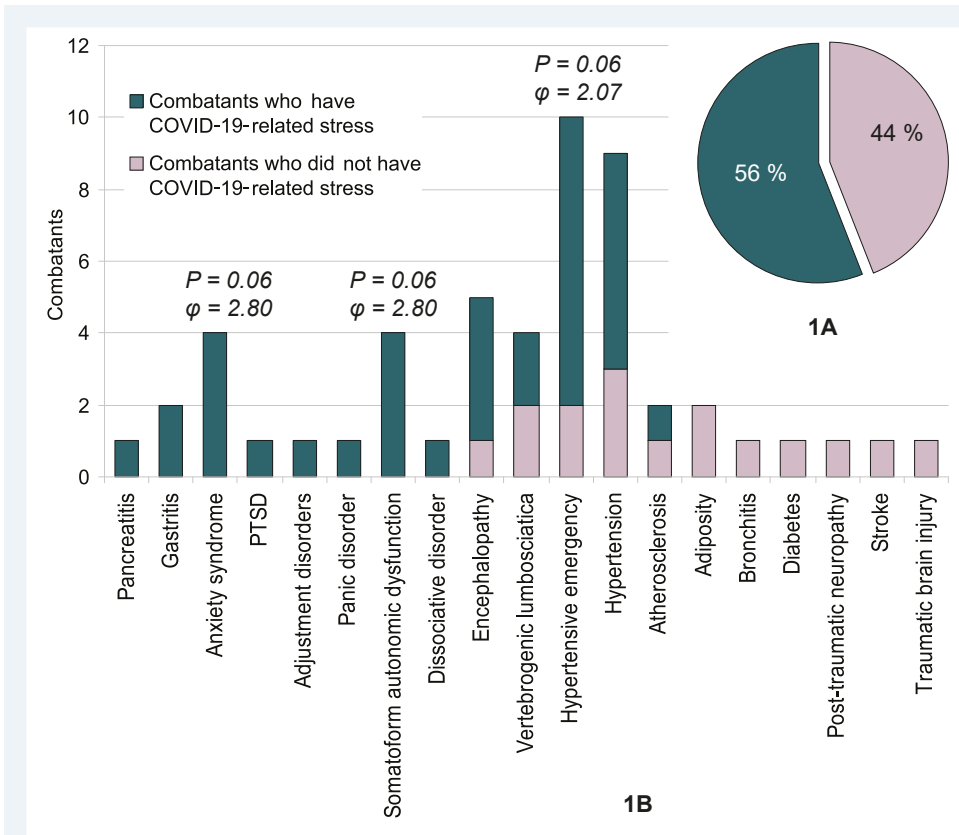


Fig. 1. Distribution of health disorders according to the criterion of association with COVID-19-related pandemic stress.

A: The ratio of all health disorders associated with COVID-19-related pandemic stress and not associated with it in combatants.

B: The relationship of observed differences in the incidence of health disorders during maximal quarantine measures with COVID-19 pandemic and quarantine-related stress in combatants.

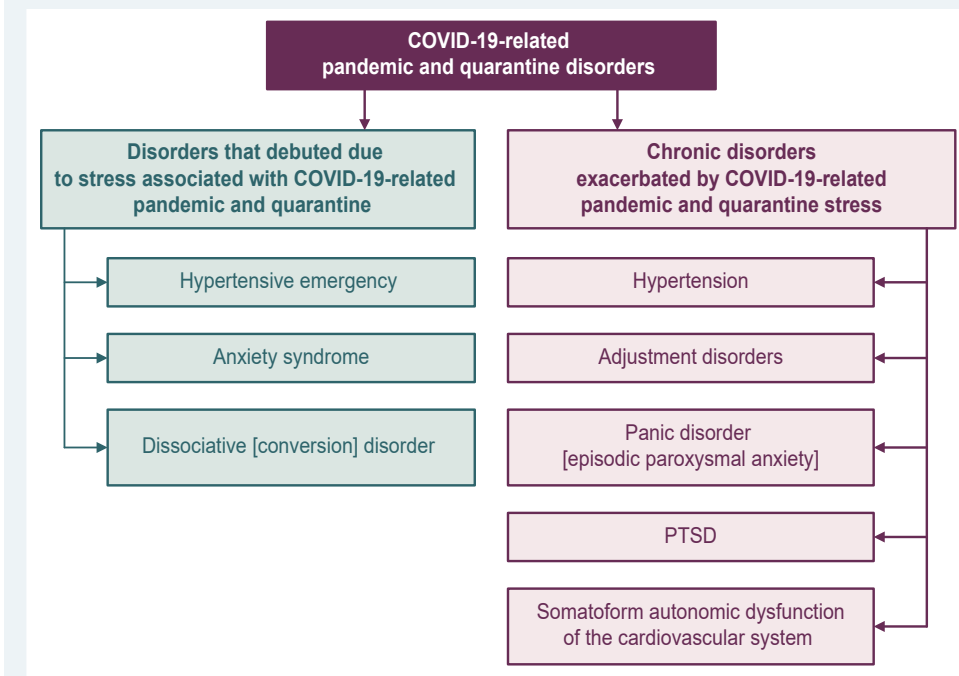


Fig. 2. Graphical representation of groups of health disorders associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine.

disorder associated with COVID-19-related pandemic and quarantine stress was diagnosed in 1 serviceman (7 %).

Therefore, we found that COVID-19-related stress associated with pandemic and quarantine can worsen the manifestations of other disorders. We diagnosed 1 serviceman (7 %) with COVID-19-related exacerbation of panic disorder [episodic paroxysmal anxiety], 1 serviceman (7 %) was diagnosed with COVID-19-pandemic-related exacerbation of symptoms of adjustment disorders, also COVID-19-pandemic-related deterioration of mental state was diagnosed in 1 serviceman (7 %) with post-traumatic stress disorder (PTSD). Two servicemen diagnosed with gastritis not associated with *H. pylori* had COVID-19-related stress. We hypothesize that stress associated with the COVID-19-related pandemic could cause exacerbation of gastritis symptoms.

Two servicemen diagnosed with gastritis not associated with *H. pylori* had COVID-19-related stress. We hypothesize that stress associated with the COVID-19-related pandemic could cause exacerbation of gastritis symptoms.

Table 1. Characterization of health disorders depending on their association with the COVID-19 pandemic and quarantine-related stress in combatants

Health disorders, n (%)	Examined patients, n = 25		φ^*	P
	Combatants who had COVID-19-related stress, n = 14	Combatants who did not have COVID-19-related stress, n = 11		
Hypertensive emergency	8 (57 %)	2 (18 %)	2.07	0.06
Hypertension	6 (43 %)	3 (27 %)	1.10	0.42
Anxiety syndrome	4 (29 %)	–	2.80	0.06
Somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system	4 (29 %)	–	2.80	0.06
Dissociative [conversion] disorder	1 (7 %)	–	1.34	0.38
PTSD	1 (7 %)	–	1.34	0.38
Adjustment disorders	1 (7 %)	–	1.34	0.38
Panic disorder [episodic paroxysmal anxiety]	1 (7 %)	–	1.34	0.38
Atherosclerosis	1 (7 %)	1 (9 %)	0.18	0.86
Encephalopathy	1 (7 %)	4 (36 %)	1.87	0.08
Vertebrogenic lumbosciatica	2 (14 %)	2 (18 %)	0.26	0.79
Gastritis	2 (14 %)	–	1.92	0.21
Pancreatitis	1 (7 %)	–	1.34	0.38
Adiposity	–	2 (18 %)	2.19	0.11
Bronchitis	–	1 (9 %)	1.52	0.26
Type 2 diabetes	–	1 (9 %)	1.52	0.26
Post-traumatic neuropathy	–	1 (9 %)	1.52	0.26
Stroke	–	1 (9 %)	1.52	0.26
Traumatic brain injury	–	1 (9 %)	1.52	0.26

Encephalopathy was not exacerbated by the COVID-19-related pandemic, but 4 out of 5 servicemen diagnosed with encephalopathy had COVID-19-related stress. We also suggest that patients with encephalopathy may be more vulnerable to COVID-19-related pandemic stress than others.

A limitation of the study was small data sampling, but the observed trend suggests a significant association between COVID-19-related stress and the deteriorating health of combatants.

The above has led us to believe that most disorders associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine are psychosomatic disorders.

This means that we should expect that a new renewal of the maximum quarantine measures will be able to exacerbate the distribution of this group in combatants.

Based on the above, we systematized health disorders associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine into two groups (Fig. 2).

Disorders that debuted due to stress associated with COVID-19-related pandemic and quarantine: hypertensive emergency (n = 8; 57 %), anxiety syndrome (n = 4; 29 %), and dissociative [conversion] disorder (n = 1; 7 %).

So, the military medical service should be vigilant about the possibility of these disorders in combatants during high quarantine measures and take action to prevent them.

Chronic disorders exacerbated by COVID-19-related pandemic and quarantine stress: hypertension (n = 6; 43 %), adjustment disorders (n = 1; 7 %), panic disorder [episodic paroxysmal anxiety] (n = 1; 7 %), PTSD (n = 1; 7 %), and somatoform autonomic dysfunction of the cardiovascular system (n = 4; 29 %).

We consider these chronic disorders from this group to be medical predisposing factors for the deterioration in health associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine. This means that combatants

suffering from these disorders are at risk of developing COVID-19-related pandemic and quarantine-associated deterioration.

Discussion

Many studies indicate that the COVID-19-related pandemic affects human health. But all of these studies describe the civilian population, patients with COVID-19 disease, or health workers [7,24–26]. We focused on studying the effects of the COVID-19-related pandemic and quarantine on military personnel.

Here we prove that the COVID-19-related pandemic and quarantine may be a factor in reducing the combat capability of the army by provoking somatic diseases and mental disorders in servicemen that require emergency hospitalization. In total, 56 % of servicemen hospitalized during the maximum quarantine measures in the country required emergency hospitalization due to pandemic and quarantine-related disorders.

It is known that COVID-19-related pandemic and quarantine can provoke mainly depressive spectrum disorders, anxiety, and phobic spectrum disorders, insomnia, cognition disorders in civilians. In health care workers, it can also be PTSD [16–18,20].

We show that COVID-19-related pandemic and quarantine, due to the stress they cause, can trigger the following problems in servicemen:

- occurrence of disorders associated with COVID-19-related pandemic and quarantine, such as stress-related hypertensive emergency, dissociative [conversion] disorders, and anxiety;
- exacerbation of existing disorders in patients, such as PTSD, panic disorder, adjustment disorders, somatoform autonomic dysfunction, destabilization of hypertension.

Conclusions

1. The presence of certain mental disorders and chronic somatic diseases in the anamnesis was a factor in reducing tolerance to stress associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine.

2. COVID-19-related pandemic and quarantine are able to exacerbate mental disorders in patients. Patients with PTSD, panic disorder, somatoform autonomic dysfunction, and adjustment disorders were more vulnerable to the deterioration in mental health associated with the COVID-19-related pandemic and quarantine.

3. COVID-19-related pandemic and quarantine can also provoke the onset of mental disorders such as dissociative [conversion] disorders and anxiety.

4. In patients with somatoform autonomic dysfunction and hypertension, COVID-19-related pandemic and quarantine can provoke blood pressure destabilization and hypertensive emergency.

We believe that knowledge about pandemic and quarantine related disorders will help prevent and treat them.

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

Надійшла до редакції / Received: 13.09.2021
Після доопрацювання / Revised: 08.10.2021
Прийнято до друку / Accepted: 26.10.2021

Information about the author:

Danilevska N. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology and Sexology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
ORCID ID: [0000-0002-7854-9007](https://orcid.org/0000-0002-7854-9007)

Відомості про автора:

Данілевська Н. В., канд. мед. наук, асистент каф. психіатрії, психотерапії, загальної та медичної психології, наркології та сексології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Данилевская Н. В., канд. мед. наук, ассистент каф. психиатрии, психотерапии, общей и медицинской психологии, наркологии и сексологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- Poyiadji, N., Shahin, G., Noujaim, D., Stone, M., Patel, S., & Griffith, B. (2020). COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: Imaging Features. *Radiology*, 296(2), E119-E120. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201187>
- World Health Organization. (n.d.). Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- World Health Organization. (2020, April 27). Archived: WHO Timeline – COVID-19. <https://www.who.int/ru/news-room/detail/27-04-2020-who-timeline--covid-19>
- Cabinet of Ministers of Ukraine. (2020, March 11). *Pro zapobihannya poshyrenniu na terytorii Ukrainy hrostoi respiratornoi khvoroby COVID-19, sprychynenoi koronavirusom SARS-CoV-2* [On prevention of the spread of COVID-19 acute respiratory disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus in Ukraine (No. 211)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/211-2020-%D0%BF#Text>
- Raveendran, A. V., & Jayadevan, R. (2020). Reverse quarantine and COVID-19. *Diabetes & metabolic syndrome*, 14(5), 1323-1325. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.07.029>
- Gottlieb, M., & Dyer, S. (2020). Information and Disinformation: Social Media in the COVID-19 Crisis. *Academic emergency medicine*, 27(7), 640-641. <https://doi.org/10.1111/acem.14036>
- Cuan-Baltazar, J. Y., Muñoz-Perez, M. J., Robledo-Vega, C., Pérez-Zepeda, M. F., & Soto-Vega, E. (2020). Misinformation of COVID-19 on the Internet: Infodemiology Study. *JMIR public health and surveillance*, 6(2), e18444. <https://doi.org/10.2196/18444>
- Torales, J., O'Higgins, M., Castaldelli-Maia, J. M., & Ventriglio, A. (2020). The outbreak of COVID-19 coronavirus and its impact on global mental health. *The International journal of social psychiatry*, 66(4), 317-320. <https://doi.org/10.1177/0020764020915212>
- Jakovljevic, M., Bjedov, S., Jaksic, N., & Jakovljevic, I. (2020). COVID-19 Pandemia and Public and Global Mental Health from the Perspective of Global Health Securit. *Psychiatria Danubina*, 32(1), 6-14. <https://doi.org/10.24869/psyd.2020.6>
- Nochaiwong, S., Ruengorn, C., Awiphan, R., Ruanta, Y., Boonchieng, W., Nanta, S., Kowatcharakul, W., Pumpaisalchai, W., Kanjanarat, P., Mongkhon, P., Thavom, K., Hutton, B., Wongpakaran, N., Wongpakaran, T., & Health Outcomes and Mental Health Care Evaluation Survey Research Group (HOME-Survey) (2020). Mental health circumstances among health care workers and general public under the pandemic situation of COVID-19 (HOME-COVID-19). *Medicine*, 99(26), e20751. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020751>
- Talevi, D., Succi, V., Carai, M., Carnaghi, G., Faleri, S., Trebbi, E., di Bernardo, A., Capelli, F., & Pacitti, F. (2020). Mental health outcomes of the CoVID-19 pandemic. *Rivista di psichiatria*, 55(3), 137-144. <https://doi.org/10.1708/3382.33569>
- Xu, J., Xu, Q. H., Wang, C. M., & Wang, J. (2020). Psychological status of surgical staff during the COVID-19 outbreak. *Psychiatry research*, 288, 112955. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.112955>
- Pappa, S., Ntella, V., Giannakas, T., Giannakoulis, V. G., Papoutsis, E., & Katsaounou, P. (2020). Prevalence of depression, anxiety, and insomnia among healthcare workers during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Brain, behavior, and immunity*, 88, 901-907. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.05.026>
- Liu, J. J., Bao, Y., Huang, X., Shi, J., & Lu, L. (2020). Mental health considerations for children quarantined because of COVID-19. *The Lancet. Child & adolescent health*, 4(5), 347-349. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(20\)30096-1](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(20)30096-1)
- Santos C. F. (2020). Reflections about the impact of the SARS-COV-2/ COVID-19 pandemic on mental health. *Revista brasileira de psiquiatria*, 42(3), 329. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-0981>
- Grabbe J. (2020). My triplets had coronavirus anxiety – so I taught them how to do science. *Nature*, 10.1038/d41586-020-01868-7. Advance online publication. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01868-7>
- Walton, M., Murray, E., & Christian, M. D. (2020). Mental health care for medical staff and affiliated healthcare workers during the COVID-19 pandemic. *European heart journal. Acute cardiovascular care*, 9(3), 241-247. <https://doi.org/10.1177/2048872620922795>
- Bohken, J., Schömg, F., Lemke, M. R., Pumberger, M., & Riedel-Heller, S. G. (2020). COVID-19-Pandemie: Belastungen des medizinischen Personals [COVID-19 Pandemic: Stress Experience of Healthcare Workers – A Short Current Review]. *Psychiatrische Praxis*, 47(4), 190-197. <https://doi.org/10.1055/a-1159-5551>
- Wang, C., Pan, R., Wan, X., Tan, Y., Xu, L., Ho, C. S., & Ho, R. C. (2020). Immediate Psychological Responses and Associated Factors during the Initial Stage of the 2019 Coronavirus Disease (COVID-19) Epidemic among the General Population in China. *International journal of environmental research and public health*, 17(5), 1729. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051729>
- Liu, C. Y., Yang, Y. Z., Zhang, X. M., Xu, X., Dou, Q. L., Zhang, W. W., & Cheng, A. (2020). The prevalence and influencing factors in anxiety in medical workers fighting COVID-19 in China: a cross-sectional survey. *Epidemiology and infection*, 148, e98. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001107>
- Ministry of Defence Ukraine. (2019). *White book-2018. The Armed Forces of Ukraine*. Kyiv. https://www.mil.gov.ua/content/files/whitebook/WB_2018_eng.pdf
- Countering Russia's Aggression in Ukraine*. <https://dos-cso.maps.arcgis.com/apps/Cascade/index.html?appid=8dad6c865bed491ead-3190c7ffb2f4fe>
- Ahorsu, D. K., Lin, C. Y., Imani, V., Saffari, M., Griffiths, M. D., & Pakpour, A. H. (2020). The Fear of COVID-19 Scale: Development and Initial Validation. *International journal of mental health and addiction*, 1-9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s11469-020-00270-8>
- Alfawaz, H., Amer, O. E., Aljumah, A. A., Aldisi, D. A., Enani, M. A., Aljohani, N. J., Alotaibi, N. H., Alshingetti, N., Alomar, S. Y., Khattak, M., Sabico, S., & Al-Daghri, N. M. (2021). Effects of home quarantine during COVID-19 lockdown on physical activity and dietary habits of adults in Saudi Arabia. *Scientific reports*, 11(1), 5904. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85330-2>
- Wang, Y., Shi, L., Que, J., Lu, Q., Liu, L., Lu, Z., Xu, Y., Liu, J., Sun, Y., Meng, S., Yuan, K., Ran, M., Lu, L., Bao, Y., & Shi, J. (2021). The impact of quarantine on mental health status among general population in China during the COVID-19 pandemic. *Molecular psychiatry*, 26(9), 4813-4822. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01019-y>
- Carmassi, C., Foghi, C., Dell'Oste, V., Cordone, A., Bertelloni, C. A., Bui, E., & Dell'Osso, L. (2020). PTSD symptoms in healthcare workers facing the three coronavirus outbreaks: What can we expect after the COVID-19 pandemic. *Psychiatry research*, 292, 113312. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113312>

Пухлинне брунькування як критерій прогнозу колоректального раку

І. І. Яковцова^{1,А,Е,Ф}, В. М. Чеверда^{3,А,Е}, О. В. Долгая^{1,А,Е}, А. С. Якименко^{2,В,Д},
І. В. Івахно^{1,С,Д}

¹Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна, ²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна,
³Харківський національний медичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; Д – написання статті; Е – редагування статті;
Ф – остаточне затвердження статті

Ключові слова:
пухлинне
брунькування,
колоректальний
рак,
рецидивування,
прогноз.

Патологія. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 346-351

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

У структурі смертності від злоякісних новоутворень (ЗН) колоректальному раку (КРР) належить друге місце після ЗН дихальної системи. Один із найбільш значущих критеріїв прогнозу КРР – пухлинне брунькування (ПБ), але його досі широко не застосовують у клінічній практиці.

Мета роботи – оцінювання прогностичного значення ПБ для рецидивування та настання летального наслідку у хворих на КРР ІІА, ІІІВ стадій (pT3N0-2M0) при рівному співвідношенні пухлин за диференціюванням у групах дослідження.

Матеріали та методи. У І групу включили первинні КРР без рецидивування; в середньому безрецидивний період тривав 5 років (62,5 ± 16,5 місяця). ІІ група – первинні КРР із рецидивуванням: ІІА – з рецидивами впродовж 5 років після видалення пухлини, що не призвели до летального наслідку; ІІВ – із виникненням рецидиву та летальним наслідком від генералізації пухлинного процесу протягом 5 років після видалення первинної пухлини. Досліджували мікропрепарати КРР, що виготовлені за стандартною методикою та забарвлені гематоксиліном та еозином.

Результати. Пухлинне брунькування виявили в 46,66 % (28/60) КРР pT3N0-2M0. Визначили пряму залежність між диференціюванням КРР і наявністю ПБ (p < 0,05), але ПБ не визначало диференціювання КРР. Виявили статистично значущу залежність між ПБ КРР і метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли (p < 0,001). Метастазування асоціювалося з 3 ст. ПБ, відсутність метастазування характерна для КРР без ПБ.

Визначили тенденцію до більшої кількості випадків КРР ІІА–ІІІВ стадій із ПБ 3 ст. серед рецидивних КРР порівняно з нерезидивними передусім через пацієнтів підгрупи ІІВ. Встановили зворотну кореляційну залежність між ступенем ПБ і терміном виникнення рецидиву (p < 0,05). ПБ у центральних відділах КРР супроводжувалося наявністю та більшим ступенем ПБ у периферичних зонах (p < 0,05); це можна враховувати під час біопсії КРР.

Висновки. Пухлинне брунькування – прогностичний критерій метастазування та терміну рецидивування КРР pT3N0-2M0, характерний здебільшого для пухлин пацієнтів із рецидивуванням і летальним наслідком при рівному співвідношенні пухлин за диференціюванням.

Key words:
tumor budding,
colorectal cancer,
recurrence,
prognosis.

Pathologia
2021; 18 (3), 346-351

Tumor budding as a prognostic criterion of colorectal cancer

I. I. Yakovtsova, V. M. Cheverda, O. V. Dolhaia, A. S. Yakymenko, I. V. Ivakhno

Colorectal cancer (CRC) is the second leading cause of mortality among cancers after malignant tumors of respiratory system. One of the most significant prognostic features of CRC is tumor budding (TB), which isn't widely implemented in clinical practice.

The aim of this research: to find the prognostic criteria of recurrence and lethal outcome of CRR ІІА and ІІІВ stages (pT3N0-2M0), the ratio of tumors with certain differentiation in groups of research was taken equal.

Material and methods. The group I was formed from primary CRC without recurrences. The main relapse-free survival time was 5 years (62.5 ± 16.5 months). The II group – primary CRC with recurrences; ІІА – with recurrences during 5 years from the moment when the tumor was removed, without fatal outcome; ІІВ – with recurrences and lethal outcome from generalization of tumor process during 5 years from the moment when the tumor was removed. The microslides of CRC were made by using the standard methods.

Results. TB was identified in 46.66 % (28/60) of CRC pT3N0-2M0. The direct relationship between tumor grade and presence of TB was found (P < 0.05), but TB didn't define differentiation of the CRC. There was a statistically significant relationship between TB and metastatic spreading of CRC to regional lymph nodes (P < 0.001). Metastasis was associated with 3 stage of TB, absence of metastasis was typical for CRC without TB.

The tendency was found in a larger number of cases of the CRC with TB 3 stage among recurring CRC compared with CRC without recurrence, mainly due to the ІІВ group of the research. Inverse correlation between TB stage and time of recurrence appearance was found (P < 0.05). TB in central tumor sites was followed by presence and higher stage of TB in peripheral tumor sites (P < 0.05), that can be taken into account during biopsies of CRC.

Conclusions. TB is a prognostic criterion of metastasis and time of recurrence appearance for CRC pT3N0-2M0, which is mostly typical for tumors in patients with recurrences and lethal outcome at the taken equal ratio of tumors by differentiation.

Опухолевое почкование как критерий прогноза колоректального рака

И. И. Яковцова, В. М. Чеверда, О. В. Долгая, А. С. Якименко, И. В. Ивахно

В структуре смертности от злокачественных новообразований (ЗН) колоректальный рак (КРР) занимает второе место после ЗН дыхательной системы. Один из наиболее значимых критериев прогноза КРР – опухолевое почкование (ОП), но его до сих пор широко не применяют в клинической практике.

Цель работы – оценка прогностического значения ОП для рецидивирования и летального исхода у больных КРР IIA, IIIB стадий (pT3N0-2M0) при равном соотношении опухолей по дифференцировке в группах исследования.

Материалы и методы. В I группу включили первичные КРР без рецидивирования; в среднем безрецидивный период составил 5 лет (62,5 ± 16,5 месяца). II группа – первичные КРР с рецидивированием: IIA – с рецидивами в течение 5 лет после удаления опухоли, которые не привели к летальному исходу; IIB – с появлением рецидива и летальным исходом от генерализации опухолевого процесса в течение 5 лет после удаления первичной опухоли. Исследовали микропрепараты КРР, изготовленные по стандартной методике с окраской гематоксилином и эозином.

Результаты. Опухолевое почкование выявлено в 46,66 % (28/60) КРР pT3N0-2M0. Установлена прямая зависимость между дифференцировкой КРР и наличием ОП ($p < 0,05$), однако ОП не определяло дифференцировку КРР. Установлена статистически значимая зависимость между ОП КРР и метастазированием в регионарные лимфатические узлы ($p < 0,001$). Метастазирование ассоциировалось с 3 ст. ОП, отсутствие метастазирования характерно для КРР без ОП. Отмечена тенденция к большему количеству случаев КРР IIA–IIIB стадий с ОП 3 ст. среди рецидивирующих КРР по сравнению с нерезидивирующими преимущественно из-за пациентов подгруппы IIB. Определена обратная корреляционная зависимость между степенью ОП и сроком появления рецидива ($p < 0,05$). ОП в центральных отделах КРР сопровождалось наличием и большей степенью ОП в периферических зонах ($p < 0,05$); это можно учитывать при биопсии КРР.

Выводы. ОП – прогностический критерий метастазирования и срока рецидивирования КРР pT3N0-2M0, более присущ опухолям пациентов с рецидивированием и летальным исходом при равном соотношении опухолей по дифференцировке.

Ключевые слова: опухолевое почкование, колоректальный рак, рецидивирование, прогноз.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 346-351

Колоректальный рак (КРР) – одне з найбільш поширених злоякісних новоутворень в Україні та світі [1]. Прогноз перебігу КРР залежить передусім від повноти видалення пухлини та стадії захворювання [2]. Але рецидивування та частота настання летального наслідку істотно відрізняються залежно від стадії згідно з системою TNM [3]. Окремі гістологічні та молекулярно-біологічні ознаки можуть відігравати важливу роль у визначенні клінічної поведінки пухлини та відділеного прогнозу захворювання [4]. Додаткові прогностичні фактори можуть дати змогу визначити пацієнтів високого та низького ризику, особливо за відсутності метастазів у лімфатичні вузли та проростання кишкової стінки, а це принципово щодо необхідності та обсягу ад'ювантної терапії, персоналізованого підходу до лікування пацієнтів.

Один із найважливіших критеріїв прогнозу КРР – пухлинне брунькування (ПБ), або бутонізація. Визначення та затвердження терміну ПБ відбулось у 2016 р. на Міжнародній конференції ITBCC (International Tumor Budding Consensus Conference) [5]. ПБ визначають як наявність малих груп пухлинних клітин (менше ніж 5) або поодиноких клітин у стромі [5].

ПБ – незалежний прогностичний критерій ракових пухлин різної локалізації та гістогенезу [6]. Як прогностичний фактор ПБ включене до рекомендацій ВООЗ, Союзу міжнародного контролю раку (UICC), Американського об'єднаного комітету з раку (AJCC) [6,7].

Для КРР ПБ є критерієм метастазування в лімфатичні вузли при pT1, виживаності при II стадії [5]. За даними van Wyk et al. [8], для КРР T1, T2 ПБ – єдина прогностична ознака пухлиннозалежної виживаності пацієнтів, а для КРР I–IV стадій ПБ – більш значущий прогностичний критерій виживаності пацієнтів, ніж T- і N-стадія. Високий ступінь ПБ асоціюється зі стадіями за TNM, венозною інвазією, слабкою запальною

інфільтрацією пухлини, зниженням виживаності пацієнтів [8].

Незважаючи на відомості щодо прогностичної значущості ПБ, цей морфологічний критерій досі широко не застосовують у клінічній практиці [6,9].

Мета роботи

Оцінювання прогностичного значення ПБ для рецидивування та настання летального наслідку у хворих на КРР IIA, IIIB стадій (pT3N0-2M0) при рівному співвідношенні пухлин за диференціюванням у групах дослідження.

Матеріали і методи дослідження

У централізованому патологоанатомічному відділенні КНП «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 17» ХМР дослідили матеріал хірургічно видалених КРР і протоколи секцій хворих, які померли від КРР, за 2010–2020 рр. Із загальної кількості аутопсій (6635 випадків) розглянули результати пацієнтів, які померли від КРР, кількість спостережень – 321. Серед хворих, котрі померли від КРР у стаціонарі (321 випадок), 66,3 % вперше отримували лікування у клініці з приводу раку та його ускладнень. Смерть від рецидивів у хворих, яким пухлину видалили раніше, настала у 19,0 %; з-поміж них смерть від рецидиву в перший рік після видалення пухлини – 36,5 % випадків, у перші 2 роки – 67,0 %. Смерть від рецидивування після 5 років від видалення первинної пухлини зареєстрували у 24,5 %.

Обрали випадки КРР IIA та IIIB стадій, T3 за системою TNM, тобто з однаковим рівнем інвазії – проростанням м'язового шару кишкової стінки та інвазією в навколишню кишкову жирову клітковину

без проростання серозного шару, без метастазів у внутрішні органи.

Сформували дві групи дослідження. У I групи (n = 20) включили первинні КРР без рецидивування; у середньому період спостереження становив 5 років (62,5 місяця), найменше – 45 місяців, найбільше – 96 місяців. II група (n = 40) – первинні КРР із рецидивуванням (місцевими проявами чи появою метастазів), у межах якої розрізняли підгрупи: IIA (n = 20) – із рецидивами впродовж 5 років після видалення пухлини, що не призвели до летального наслідку, прогресування пухлинного процесу слабо виражене; IIB (n = 20) – із рецидивом і летальним наслідком від генералізації пухлинного процесу протягом 5 років після видалення первинної пухлини.

Обрали та вилучили з архіву патологоанатомічного відділення мікропрепарати та блоки первинних КРР, повторно виготовили гістологічні препарати з забарвленням гематоксиліном та еозином за стандартною методикою.

У групах дослідження обрали аденокарциноми з однаковим співвідношенням пухлин за диференціюванням: по одному випадку КРР G1, по 14 випадків G2, по 5 випадків G3 у кожній із груп. 3-поміж зразків КРР були аденокарциноми без випадків муцинозних аденокарцином, медулярного, перстнеподібноклітинного, анапластичного, нейроендокринного раку.

Розрізняли 3 ступені пухлинного брунькування: ПБ 1 ст. характеризувалося наявністю ПБ в окремих полях зору, не перевищувало 4 в полі зору за методом «hotspot»; при 2 ст. кількість ПБ у полі зору становила 5–9; 3 ст. – понад 10. Поле зору – площа пухлини, що становить 0,785 мм².

У всіх випадках хворі на рак ободової кишки не отримували неоад'ювантну терапію, пацієнти з діагнозом рак прямої кишки cT3 одержували таке лікування згідно з рекомендаціями [10,11]. В усіх випадках проксимальний, дистальний і латеральний краї резекції видаленої кишки були вільні від пухлини.

Зв'язок між ознаками оцінювали за непараметричним критерієм χ^2 Пірсона з додатковим застосуванням поправки Єйтса при малих числових значеннях. Статистичний аналіз зв'язку між даними, що одержали, виконали за допомогою визначення коефіцієнта рангової кореляції γ (гамма). Різницю між групами визначили, розрахувавши непараметричний U-критерій Манна-Вітні. Статистично значущим вважали $p < 0,05$. Аналіз імовірності рецидивування протягом фіксованого часу оцінювали за процедурою Каплана-Меєра.

Результати

Серед досліджених КРР ділянки солідної будови або появу кластерів ракових клітин виявили в 92,85 % (39/42). Наявність цих ділянок характеризує G2 і G3 КРР, які треба оцінювати за ділянками пухлини з найнижчим ступенем диференціювання. Такі ділянки зниження диференціювання КРР частіше визначали на периферії в зонах фронтальної інвазії пухлини.

Дослідили феномен ПБ, що спостерігали в 46,66 % (28/60) випадків. Із них у 35,71 % визначили ПБ 1 ступеня, переважно в периферичних зонах інвазивного

росту. При ПБ 2 ступеня дискретні пухлинні кластери виявляли в кількох ділянках пухлини, вони часто наявні й у зонах інвазії, й у центральних зонах КРР.

Локалізація ПБ у 27 із 28 випадків – у фронтальній зоні інвазивного росту; серед цих 27 випадків локалізацію ПБ і в центральних відділах пухлини спостерігали в 81,5 % (22/27). Відсутність ПБ у центральних відділах супроводжувалася наявністю ПБ на периферії пухлини 1 ступеня в 66,6 % (4/6), 2 ступеня – у 33,4 % (2/6) випадків. ПБ 1 та 2 ст. у центральних відділах КРР здебільшого супроводжувалася наявністю та вищим ступенем ПБ на периферії. Виявили кореляційну залежність між наявністю ПБ у центральних відділах КРР і більшим ступенем ПБ на периферії ($\gamma = 0,807$, $p < 0,01$), а отже перитуморальне ПБ характеризувалося більшою інтенсивністю, ніж ПБ центральної локалізації, різниця вірогідна ($U_{\text{емп}} = 180,5$, $p < 0,05$).

Встановили залежність між наявністю ПБ (1–3 ст.) і диференціюванням пухлини ($\chi^2 = 7,55$, $p < 0,05$). Так, ПБ не виявили серед досліджених випадків КРР G1, при аденокарциномах G2 встановили в 40,46 % (17/42), при аденокарциномах G3 – у 73,3 % (11/15) спостережень. Отже, є пряма залежність між зниженням диференціювання пухлини та ПБ, тобто відокремлення ракових клітин від пухлинних комплексів із формуванням у раковій стромі дрібних пухлинних кластерів до 4 ракових клітин як одне зі свідчень зниження диференціювання раку. За даними, що наведені в таблиці 1, КРР G2 мали переважно 1 ступінь ПБ, а КРР G3 – 3 ступінь. ПБ 3 ст. асоціюється з КРР G3 ($\chi^2 = 6,9$, $p < 0,01$) (рис. 1).

Але ПБ не є ключовою характеристикою зниження диференціювання КРР. Так, поява солідного пухлинного росту, що відповідає низькому диференціюванню раку, часто не супроводжувалася формуванням ПБ. У всіх 42 випадках раку G2 є ділянки часткової втрати залозистих і кріброзних структур із появою солідних ділянок чи пухлинних комплексів, але ПБ не визначили у 59,5 % (25/42), а з 17 випадків, що мали ПБ, у 52,9 % (9/17) був 1 ступінь ПБ. Із 15 випадків КРР G3 ПБ не виявили в 26,6 % (4/15) спостережень, у 2 випадках – 1 ступеня. Отже, не виявили залежність між ступенем ПБ і диференціюванням КРР (χ^2 з поправкою Єйтса = 6,6, $p = 0,3$). Не встановили статистично значущу залежність між відсутністю ПБ або 1 його ступенем і диференціюванням КРР G1 ($\chi^2 = 2,7$, $p = 0,1$ та χ^2 з поправкою Єйтса = 0, $p = 1$ відповідно).

Доведено, що ПБ характеризує клінічну поведінку КРР. Так, ПБ більш характерне для КРР із метастазами в регіонарні лімфатичні вузли ($\chi^2 = 25,9$, $p < 0,001$). ПБ не виявили в 18,5 % (5/27) випадків КРР, що метастазують, та 81,8 % (27/33) спостережень без метастазів ($p < 0,001$); 3 ст. ПБ виявили в 29,6 % (8/27) випадків КРР, що метастазують, не зареєстрували для КРР без метастазів ($p < 0,001$).

Оцінюючи ПБ у групах дослідження, не виявили різницю за цим критерієм, але спостерігали тенденцію до більшої кількості випадків КРР із ПБ 3 ст. у II групі, здебільшого в підгрупі IIB. За даними таблиці 2, ПБ 0 ступеня зафіксували в 65 % (13/20) випадків I групи, 47 % (19/40) – II групи; 3 ступінь ПБ серед КРР

I групи – 5,0 % (1/20) випадків, II – 17,5 % (7/40), IIB підгрупи – 20,0 % (4/20).

У II групі дослідження розрізняли підгрупи рецидивних КРР без летального наслідку (IIA) та з ним (IIB). За даними рис. 2, термін виникнення рецидиву в пацієнтів IIB підгрупи менший ($p = 0,01$), у середньому – $13,8 \pm 1,9$ місяця та $23,9 \pm 3,1$ місяця відповідно в підгрупах.

Під час дослідження ступеня ПБ залежно від терміну появи рецидиву виявили зворотний кореляційний зв'язок ($\gamma = -0,534$, $p < 0,01$). Отже, чим вищий ступінь ПБ, тим більша ймовірність раннього рецидивування.

Обговорення

Встановили пряму кореляційну залежність між наявністю та ступенем центрального ПБ і ступенем перитуморального ПБ ($p < 0,05$). Тобто центральне ПБ супроводжувалось ПБ на периферії КРР та було вираженішим порівняно з центральними відділами. Це можна брати до уваги під час дослідження біопсії КРР. Наявність ПБ у біопатії, що взятий із центральної зони КРР, – свідчення вірогідно високого рівня ПБ на периферії пухлини. Отже, ПБ у біоптатах можна вважати одним із несприятливих факторів прогнозу КРР [12, 13].

У результаті дослідження встановили тенденцію до меншого ступеня ПБ у КРР, що не рецидивували, а найбільший рівень ПБ більш притаманний для КРР із рецидивуванням і летальним наслідком, але немає статистично значущої різниці між групами дослідження за цим показником. Це пов'язано з однаковою кількістю КРР G1, G2, G3 у групах дослідження та прямою залежністю між ступенями диференціювання та наявністю ПБ. Отже, твердження інших авторів щодо впливу ПБ на клінічну поведінку можна вважати дійсним [6, 12, 14]. Результати дослідження збігаються з даними фахової літератури щодо залежності між ПБ і метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли [6, 14].

Диференціювання КРР, безумовно, пов'язане з ПБ, адже здатність ракових клітин до відокремлення від великих пухлинних комплексів, формування окремих кластерів і власного мікрооточення, високий потенціал інвазивного росту – характеристики раку високого ступеня злоскісності, а тому слабшого диференціювання. Bronsert et al. [15] у результаті дослідження серійних зрізів і 3D реконструювання КРР різних гістотипів довели, що ПБ – динамічний процес, якому передують формування в зонах інвазивного росту перстнеподібних випинань, що складаються з численних ракових клітин, від яких надалі відокремлюються клітини як окремі кластери. Під час дослідження мікропрепаратів може скластися хибне уявлення щодо появи ПБ, які насправді є тяжкими ракових клітин, невідокремлених від основного масиву пухлини [12, 14]. Так звані низькодиференційовані пухлинні кластери (НПК) визначають як малі групи ракових клітин (≥ 5) без формування залозистих структур, вони є одним із критеріїв зниження диференціювання КРР та, як і ПБ, мають важливіше прогностичне значення, ніж ступінь диференціювання КРР [14].

Об'єктивне підтвердження факту спільності процесів диференціювання, формування НПК і ПБ

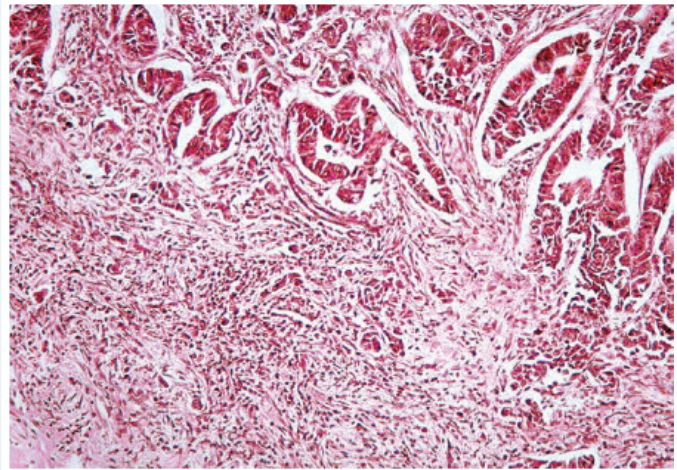


Рис. 1. Аденокарцинома G3 із пухлинним брунькуванням 3 ст. Забарвлення гематоксиліном та еозиним. 36. $\times 100$.

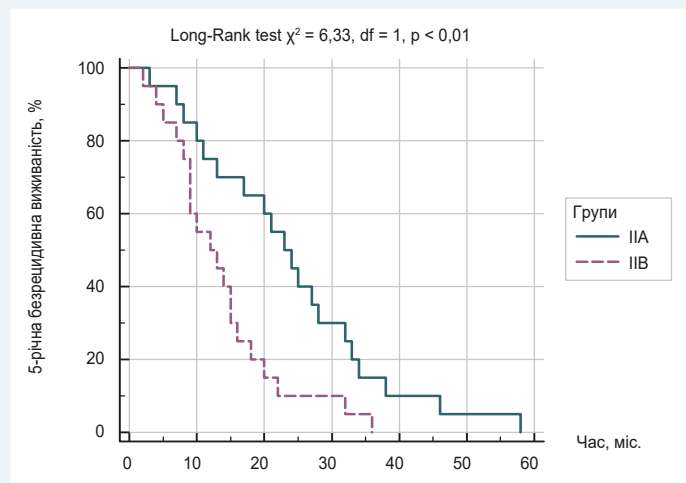


Рис. 2. Безрецидивна виживаність пацієнтів IIA та IIB підгруп.

Таблиця 1. Залежність між ПБ і диференціюванням КРР

Ступінь ПБ	G1, n = 3	G2, n = 42	G3, n = 15	Вірогідність
ПБ 0	3 (100,0 %)	25 (59,54 %)	4 (26,67 %)	$\chi^2 = 7,5$, $p < 0,05$
ПБ 1–3 ст.	0	17 (40,46 %)	11 (73,33 %)	
ПБ 0	3 (100,0 %)	25 (59,54 %)	4 (26,67 %)	χ^2 з поправкою Єйтса = 6,6, $p = 0,3$
ПБ 1 ст.	0	8 (19,04 %)	2 (13,33 %)	
ПБ 2 ст.	0	6 (14,28 %)	4 (26,67 %)	
ПБ 3 ст.	0	3 (7,14 %)	5 (33,33 %)	

Таблиця 2. Зв'язок між належністю КРР до груп дослідження та ступенем брунькування, диференціюванням КРР

Ознака	I група, n = 20	II група, n = 40		Вірогідність
		IIA, n = 20	IIB, n = 20	
ПБ 0	13 (65 %)	10 (50 %)	9 (45 %)	$\chi^2 = 2,96$, $p = 0,81$
ПБ 1 ст.	3 (15 %)	3 (15 %)	4 (20 %)	
ПБ 2 ст.	3 (15 %)	4 (20 %)	3 (15 %)	
ПБ 3 ст.	1 (5 %)	3 (15 %)	4 (20 %)	
G1	1 (5 %)	1 (5 %)	1 (5 %)	χ^2 з поправкою Єйтса = 0,95, $p = 0,9$
G2	14 (70 %)	14 (70 %)	14 (70 %)	
G3	5 (25 %)	5 (25 %)	5 (25 %)	

– виявлена статистично значуща залежність між наявністю ПБ і диференціюванням КРР ($p < 0,05$), а також асоціація КРР G3 із ПБ 3 ст. ($p < 0,01$). Але не встановили залежність між ступенем ПБ і диференціюванням КРР, між відсутністю ПБ або його 1 ступенем і диференціюванням КРР G1; це спростовує думку щодо відсутності різниці між ПБ і високим ступенем диференціювання КРР.

За отриманими даними, ПБ слід вважати значущим критерієм терміну появи рецидиву поза залежністю від диференціювання та наслідку захворювання.

Висновки

1. Пухлинне брунькування виявили в 46,66 % (28/60) КРР ІІА–ІІІВ стадій (рТ3N0-2M0).

2. Визначили пряму залежність між наявністю ПБ і диференціюванням КРР ($p < 0,05$), але ПБ не визначає диференціювання КРР. ПБ потрібно враховувати як окремий прогностичний фактор захворювання.

3. Встановили статистично значущу залежність між ПБ КРР ІІА–ІІІВ стадій і метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли ($p < 0,001$). Метастазування асоціювалося з 3 ст. ПБ, відсутність метастазування характерна для КРР без ПБ.

4. Виявили тенденцію до більшої кількості випадків КРР ІІА–ІІІВ стадій із ПБ 3 ст. серед рецидивних КРР порівняно з нерезидивними передусім через пацієнтів із рецидивом і летальним наслідком. Визначили зворотну кореляційну залежність між ступенем ПБ і терміном появи рецидиву ($p < 0,01$).

5. Встановили кореляційну залежність між наявністю ПБ у периферичних зонах КРР ІІА–ІІІВ стадій та наявністю ПБ у центральних відділах ($p < 0,01$), показано вищий ступінь ПБ на периферії КРР порівняно з центральними ділянками ($p < 0,05$); це можна враховувати під час біопсії КРР.

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні ПБ на молекулярно-генетичному рівні для пошуку прогностичних критеріїв КРР.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 01.06.2021

Після доопрацювання / Revised: 20.08.2021

Прийнято до друку / Accepted: 21.09.2021

Відомості про авторів:

Яковцова І. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1027-9215](https://orcid.org/0000-0002-1027-9215)

Чеведа В. М., д-р мед. наук, професор каф. хірургії № 2, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3911-887X](https://orcid.org/0000-0002-3911-887X)

Долгая О. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-4026-3580](https://orcid.org/0000-0002-4026-3580)

Якименко А. С., асистент каф. загальної та клінічної патології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2736-4117](https://orcid.org/0000-0002-2736-4117)

Івахно І. В., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5229-0068](https://orcid.org/0000-0002-5229-0068)

Information about authors:

Yakovtsova I. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

Cheverda V. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Surgery No. 2, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Dolhaia O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

Yakymenko A. S., Assistant of the Department of General and Clinical Pathology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Ivakhno I. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

Сведения об авторах:

Яковцова И. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Чеведа В. М., д-р мед. наук, профессор каф. хирургии № 2, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Долгая О. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Якименко А. С., ассистент каф. общей и клинической патологии, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Ивахно И. В., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Список літератури

- Mattiuzzi C., Sanchis-Gomar F., Lippi G. Concise update on colorectal cancer epidemiology. *Annals of Translational Medicine*. 2019. Vol. 7, Iss. 21. P. 609. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.07.91>
- Poornakala S., Prema N. S. A study of morphological prognostic factors in colorectal cancer and survival analysis. *Indian Journal of pathology & microbiology*. 2019. Vol. 62, Iss. 1. P. 36-42. https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_91_18
- Poorly Differentiated Clusters Predict Colon Cancer Recurrence / T. Konishi, Y. Shimada, L. H. Lee et al. *The American journal of surgical pathology*. 2018. Vol. 42, Iss. 6. P. 705-714. <https://doi.org/10.1097/pas.0000000000001059>
- Clinicopathologic features and prognostic value of KRAS, NRAS and BRAF mutations and DNA mismatch repair status: A single-center retrospective study of 1,834 Chinese patients with Stage I-IV colorectal cancer / T. A. Guo, Y. C. Wu, C. Tan et al. *International journal of cancer*. 2019. Vol. 145, Iss. 6. P. 1625-1634. <https://doi.org/10.1002/ijc.32489>
- Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016 / A. Lugli, R. Kirsch, Y. Ajioka et al. *Modern pathology*. 2017. Vol. 30, Iss. 9. P. 1299-1311. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.46>
- Tumour budding in solid cancers / A. Logi, I. Zlobec, M. D. Berger et al. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2020. Vol. 18, Iss. 2. P. 101-115. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0422-y>
- The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system / I. D. Nagtegaal, R. D. Odze, D. Klimstra et al. *Histopathology*. 2020. Vol. 76, Iss. 2. P. 182-188. <https://doi.org/10.1111/his.13975>
- The Relationship Between Tumor Budding, Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer / H. C. Van Wyk, A. Roseweir, P. Alexander et al. *Annals of surgical oncology*. 2019. Vol. 26, Iss. 13. P. 4397-4404. <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07931-6>
- Lino-Silva L. S., Salcedo-Hernández R. A., Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review. *Contemporary oncology*. 2018. Vol. 22, Iss. 2. P. 61-74. <https://doi.org/10.5114/wo.2018.77043>
- Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / G. Argilés, J. Taberner, R. Labianca et al. *Annals of oncology*. 2020. Vol. 31, Iss. 10. P. 1291-1305. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.06.022>

- [11] The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Colon Cancer / J. D. Vogel, C., Eskicioglu M. R. Weiser et al. *Diseases of the colon and rectum*. 2017. Vol. 60, Iss. 10. P. 999-1017. <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000926>
- [12] Tumor Budding: The Name is EMT. Partial EMT / A. D. Grigore, M. K. Jolly, D. Jia et al. *Journal of clinical medicine*. 2016. Vol. 5, Iss. 5. P. 51. <https://doi.org/10.3390/jcm5050051>
- [13] Intra-tumoral budding in preoperative biopsy specimens predicts lymph node and distant metastasis in patients with colorectal cancer / O. T. Giger, S. C. Comtesse, A. Lugli et al. *Modern pathology*. 2012. Vol. 25, Iss. 7. P. 1048-1053. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.56>
- [14] The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more «personalized» approach to cancer staging / M. B. Amin, F. L. Greene, S. B. Edge et al. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2017. Vol. 67, Iss. 2. P. 93-99. <https://doi.org/10.3322/caac.21388>
- [15] Cancer cell invasion and EMT marker expression: a three-dimensional study of the human cancer-host interface / P. Bronsert, K. Enderle-Ammour, M. Bader et al. *The Journal of pathology*. 2014. Vol. 234, Iss. 3. P. 410-422. <https://doi.org/10.1002/path.4416>

References

- [1] Mattiuzzi, C., Sanchis-Gomar, F., & Lippi, G. (2019). Concise update on colorectal cancer epidemiology. *Annals of translational medicine*, 7(21), 609. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.07.91>
- [2] Poornakala, S., & Prema, N. S. (2019). A study of morphological prognostic factors in colorectal cancer and survival analysis. *Indian journal of pathology & microbiology*, 62(1), 36-42. https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_91_18
- [3] Konishi, T., Shimada, Y., Lee, L. H., Cavalcanti, M. S., Hsu, M., Smith, J. J., Nash, G. M., Temple, L. K., Guillem, J. G., Paty, P. B., Garcia-Aguilar, J., Vakiani, E., Gonen, M., Shia, J., & Weiser, M. R. (2018). Poorly Differentiated Clusters Predict Colon Cancer Recurrence: An In-Depth Comparative Analysis of Invasive-Front Prognostic Markers. *The American journal of surgical pathology*, 42(6), 705-714. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001059>
- [4] Guo, T. A., Wu, Y. C., Tan, C., Jin, Y. T., Sheng, W. Q., Cai, S. J., Liu, F. Q., & Xu, Y. (2019). Clinicopathologic features and prognostic value of KRAS, NRAS and BRAF mutations and DNA mismatch repair status: A single-center retrospective study of 1,834 Chinese patients with Stage I-IV colorectal cancer. *International journal of cancer*, 145(6), 1625-1634. <https://doi.org/10.1002/ijc.32489>
- [5] Lugli, A., Kirsch, R., Ajioka, Y., Bosman, F., Cathomas, G., Dawson, H., El Zimaity, H., Fléjou, J. F., Hansen, T. P., Hartmann, A., Kakar, S., Langner, C., Nagtegaal, I., Puppa, G., Riddell, R., Ristimäki, A., Sheahan, K., Smyrk, T., Sugihara, K., Terris, B., ... Quirke, P. (2017). Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Modern pathology*, 30(9), 1299-1311. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.46>
- [6] Lugli, A., Zlobec, I., Berger, M. D., Kirsch, R., & Nagtegaal, I. D. (2021). Tumour budding in solid cancers. *Nature reviews. Clinical oncology*, 18(2), 101-115. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0422-y>
- [7] Nagtegaal, I. D., Odze, R. D., Klimstra, D., Paradis, V., Rugge, M., Schirmacher, P., Washington, K. M., Carneiro, F., Cree, I. A., & WHO Classification of Tumours Editorial Board (2020). The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*, 76(2), 182-188. <https://doi.org/10.1111/his.13975>
- [8] Van Wyk, H. C., Roseweir, A., Alexander, P., Park, J. H., Horgan, P. G., McMillan, D. C., & Edwards, J. (2019). The Relationship Between Tumor Budding, Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. *Annals of surgical oncology*, 26(13), 4397-4404. <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07931-6>
- [9] Lino-Silva, L. S., Salcedo-Hernández, R. A., & Gamboa-Domínguez, A. (2018). Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review. *Contemporary oncology*, 22(2), 61-74. <https://doi.org/10.5114/wo.2018.77043>
- [10] Argilés, G., Tabernero, J., Labianca, R., Hochhauser, D., Salazar, R., Iveson, T., Laurent-Puig, P., Quirke, P., Yoshino, T., Taieb, J., Martinelli, E., Arnold, D., & ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinical-guidelines@esmo.org (2020). Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, 31(10), 1291-1305. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.06.022>
- [11] Vogel, J. D., Eskicioglu, C., Weiser, M. R., Feingold, D. L., & Steele, S. R. (2017). The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Colon Cancer. *Diseases of the colon and rectum*, 60(10), 999-1017. <https://doi.org/10.1097/DCR.0000000000000926>
- [12] Grigore, A. D., Jolly, M. K., Jia, D., Farach-Carson, M. C., & Levine, H. (2016). Tumor Budding: The Name is EMT. Partial EMT. *Journal of clinical medicine*, 5(5), 51. <https://doi.org/10.3390/jcm5050051>

Impact of neuroprotective therapy on cognition and oxidative stress in the early stages of Parkinson's disease

A. V. Demchenko ^{A,F}, V. V. Biriuk ^{*B,C,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

Key words:

Parkinson's disease, early stages, neuroprotector, cognitive impairment, glutathione peroxidase.

Pathologia

2021; 18 (3), 352-355

*E-mail:

varvarabiryuk@gmail.com

The aim of this study was to investigate the clinical and biochemical efficiency of citicoline in cognitive improvement and changes of glutathione peroxidase (GPx) blood plasma levels in patients at early stages of Parkinson's disease (PD).

Materials and methods. We recruited 42 patients at I–II Hoehn and Yahr PD stages and 20 controls. The Montreal Cognitive Assessment test (MoCA) was used to assess several cognitive domains in PD patients (before citicoline treatment, after intravenous therapy and after pills therapy) and controls (once). Plasma was collected once in controls and twice in PD patients (on the first and the last days of observation). Citicoline was administrated to 23 of 42 PD patients in addition to basic antiparkinsonian therapy intravenously during 10 days and with pills during next 30 days. The rest 19 of 42 PD patients had been taking basic antiparkinsonian treatment only (comparison group).

Results. We observed significant improvement of MoCA scores in PD patients with citicoline course (PD-Cs) in each check day. But in spite of such an improvement in PD patients, who were left on the basic antiparkinsonian treatment (PD-Bs), on the 10th day of observation, patients of this group did not keep it to the last day of the research ($P < 0.001$). After the treatment the GPx level in plasma of PD-Cs was significantly higher than in PD-Bs ($P < 0.001$). Furthermore, the activity of GPx plasma level after citicoline course was significantly higher than before additional neuroprotective therapy, which wasn't observed in PD patients on basic treatment only.

Conclusions. The cognition of PD patients (according to MoCA scores) at the early stages of the disease was significantly improved after citicoline treatment. Citicoline treatment had significant positive influence on the increasing antioxidant GPx plasma activity in PD patients at the early stages of the disease.

Ключові слова:

хвороба Паркінсона, ранні стадії, нейропротектор, когнітивний розлад, глутатіонпероксидаза.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53). С. 352-355

Вплив нейропротективної терапії на стан когнітивних функцій та оксидативний стрес на ранніх стадіях хвороби Паркінсона

А. В. Демченко, В. В. Бірюк

Мета роботи – визначення клінічної та біохімічної ефективності цитиколіну в корекції когнітивних розладів і рівня глутатіонпероксидази (ГПО) плазми крові в пацієнтів на ранніх стадіях хвороби Паркінсона (ХП).

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 42 пацієнти з I–II стадіями ХП за Хен–Яром і 20 осіб групи контролю. Для оцінювання когнітивних функцій (КФ) використали Монреальську шкалу когнітивного оцінювання (MoCA) в пацієнтів із ХП до початку терапії цитиколіном, після завершення парентерального курсу та перорального приймання препарату, а також в осіб групи контролю (один раз). Плазму крові брали для дослідження один раз у осіб групи контролю та двічі (на перший та останній день спостереження) в пацієнтів із ХП. Цитиколін призначали 23 із 42 пацієнтів із ХП на додаток до базисної протипаркінсонічної терапії внутрішньовенно протягом 10 днів і в таблетках протягом наступних 30 днів. Решта 19 із 42 пацієнтів із ХП отримували тільки базисну протипаркінсонічну терапію (група порівняння).

Результати. Спостерігали вірогідне покращення КФ за балами шкали MoCA в пацієнтів із ХП, які отримували цитиколін (ХП-Ц) кожного контрольного дня. Незважаючи на покращення КФ на 10 день спостереження у пацієнтів з ХП, яким призначили тільки базисну протипаркінсонічну терапію (ХП-Б), вони не змогли утримати позитивний результат до останнього дня дослідження ($p < 0,001$). Після лікування рівень ГПО плазми в пацієнтів групи ХП-Ц суттєво вищий, ніж у хворих групи ХП-Б ($p < 0,001$). Активність ГПО у плазмі після курсу цитиколіну вірогідно вища, ніж до призначення додаткової нейропротективної терапії; це не спостерігали в пацієнтів групи ХП-Б.

Висновки. Когнітивні функції (відповідно до показників шкали MoCA) пацієнтів на ранніх стадіях ХП суттєво поліпшилися після терапії цитиколіном. Курс цитиколіну вірогідно вплинув на підвищення активності антиоксиданта ГПО в пацієнтів на ранніх стадіях ХП.

Влияние нейропротекторной терапии на состояние когнитивных функций и оксидативный стресс на ранних стадиях болезни Паркинсона

А. В. Демченко, В. В. Бирюк

Цель работы – определение клинической и биохимической эффективности цитиколина в коррекции когнитивных расстройств и уровня глутатіонпероксидазы (ГПО) плазмы крови у пациентов на ранних стадиях болезни Паркинсона (БП).

Материалы и методы. В исследование включили 42 пациента с I–II стадиями БП по Хен–Яру и 20 лиц группы контроля. Для оценки когнитивных функций (КФ) использовали Монреальскую шкалу когнитивного оценивания (MoCA) у пациентов с БП до начала терапии цитиколином, после завершения парентерального курса и перорального приёма препарата, а также у лиц группы контроля (один раз). Плазму крови брали для исследования один раз у лиц группы контроля и дважды (на первый и последний день наблюдения) у пациентов с БП. Цитиколин назначали 23 из 42 пациентов с БП в дополнение к базисной противопаркинсонической терапии внутривенно в течение 10 дней и в таблетках на протяжении следующих 30 дней. Остальные 19 из 42 пациентов с БП принимали только базисную противопаркинсоническую терапию (группа сравнения).

Результаты. Отмечено достоверное улучшение КФ по баллам шкалы MoCA у пациентов с БП, которые принимали цитиколин (БП-Ц), на каждый контрольный день. Несмотря на улучшение КФ на 10 день наблюдения у пациентов с БП, которые принимали только базисную противопаркинсоническую терапию (БП-Б), они не смогли удержать положительный результат до последнего дня исследования ($p < 0,001$). После лечения уровень ГПО плазмы у пациентов группы БП-Ц существенно выше, чем у пациентов группы БП-Б ($p < 0,001$). Более того, активность ГПО в плазме после курса цитиколина достоверно выше, чем до назначения дополнительной нейропротекторной терапии; это не наблюдали у пациентов группы БП-Б.

Выводы. Когнитивные функции (соответственно показателям шкалы MoCA) пациентов на ранних стадиях БП существенно улучшились после терапии цитиколином. Курс цитиколина достоверно повлиял на повышение активности антиоксиданта ГПО у пациентов на ранних стадиях БП.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, ранние стадии, нейропротектор, когнитивное расстройство, глутатион-пероксидаза.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 352-355

Parkinson's disease (PD) remains one of the most widespread neurodegenerative diseases of our time [1]. The pathogenesis of PD is quite complicated [2], which is why researches, that may lead to its understanding and influencing on it, are still relevant. It is known that PD belongs to synucleopathies as α -synuclein takes the central place in its pathogenesis [3]. But the oxidative stress influences α -synuclein aggregation, which leads to exacerbation of oxidative stress itself and forms "vicious circle" in PD's pathogenesis [4]. As this part of PD's complex pathogenesis is obligate, it may play sufficient role in motor and non-motor PD symptoms development.

Citicoline is known as a natural precursor of phospholipid synthesis and serves as a source of choline in the metabolic pathways for biosynthesis of acetylcholine [5]. Researchers observed the positive effect of citicoline in increasing brain dopamine levels and inhibiting dopamine reuptake [5]. It is also known that choline liberated from citicoline can be metabolized to glutathione, one of the most important endogenous antioxidant defense systems in the brain, which has a neuroprotective role by decreasing lipid peroxidation [6]. And glutathione peroxidase (GPx) catalyzes detoxification of hydrogen peroxide and lipid peroxides by reduced glutathione [7]. The complex of these facts allows us to be interested in studying of citicoline influence on GPx levels in patients at early stages of PD. Moreover, the positive effect of citicoline on cognitive functions in PD patients was found [8]. The GPx activity in patients with vascular cognitive impairment-no dementia was studied as well [9], but we did not find in open access similar researches in PD patients.

Aim

The aim of this study was to investigate the clinical and biochemical efficiency of citicoline in cognitive improvement and changes of GPx blood plasma levels in patients at early stages of PD.

Materials and methods

This study was conducted in Medical Educational and Scientific Center "University Clinic" (Zaporizhzhia State

Medical University, Ukraine). We recruited 42 patients (10 males and 32 females) at I–II Hoehn and Yahr (H&Y) PD stages (9 patients at the I H&Y PD stage and 33 patients at the II H&Y PD stage, respectively) and 20 controls (5 males and 15 females). The Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for PD were used to establish the diagnosis [10]. The mean age of all PD patients and controls was 66.86 ± 5.32 and 64.35 ± 5.45 years, respectively.

The exclusion criteria were: III–V H&Y PD stages, secondary parkinsonism, other extrapyramidal disorders; inflammatory, autoimmune, oncological and mental diseases; decompensated stages of somatic diseases.

All our PD patients had been taking basic antiparkinsonian treatment (levodopa, dopamine agonists, amantadine, MAO-B inhibitors) and were divided into two groups. Citicoline (1000 mg per day) was administrated intravenously to 23 of 42 PD patients (mean age – 66.74 ± 4.96 years; 4 patients at the I H&Y PD stage and 19 patients at the II H&Y PD stage) in addition to basic antiparkinsonian therapy during 10 days and with pills (500 mg 2 times per day) during next 30 days (PD-Cs group). The rest 19 of 42 PD patients (mean age – 67.00 ± 5.87 years; 5 patients at the I H&Y PD stage and 14 patients at the II H&Y PD stage) had been taking basic antiparkinsonian treatment only (comparison group, PD-Bs).

The Montreal Cognitive Assessment test (MoCA) was used to assess several cognitive domains in PD patients (before citicoline treatment, after intravenous therapy and after pills therapy) and controls. We defined patients with MoCA scores of <26 as PD-with mild cognitive impairment (PD-MCI) (minimal MoCA score in our PD patients was 19 points) [11]. MoCA scores were checked on the 1st day (the 1st visit), the 10th day (the 2nd visit) and the 40th day (the 3rd visit) of PD patients' observation and once in controls.

Plasma was collected once in controls and twice (on the first and the last days of observation) in PD patients at a fixed time interval between 7:00–9:00 AM using a 10 ml K2-EDTA tubes (BD Vacutainer). Samples were centrifuged for 15 min at $1000 \times g$ at $2-8^\circ\text{C}$ within 30 min of collection. Then 0.5 ml of supernatant plasma was removed from each tube and transferred into a

Table 1. MoCA scores dynamic in PD patients depending on therapy, Me (Q1–Q3)

Patients	1 st day	10 th day	40 th day	P ^{1-2,3}	P ¹⁻²	P ¹⁻³
PD-Cs, n = 23	23.0 (22.0–25.0)	27.0 (25.0–27.0)	28.0 (27.0–28.0)	<0.001	<0.001	<0.001
PD-Bs, n = 19	24.0 (21.0–26.0)	25.0 (23.0–26.0)	24.0 (23.0–25.0)	0.005	0.029	0.272

PD-Cs: patients who underwent citicoline course in addition to basic antiparkinsonian therapy; **PD-Bs:** patients who took only basic antiparkinsonian therapy.

Table 2. Dynamic of plasma GPx levels in PD patients before and after treatment, Me (Q1–Q3)

PD patients	GPx levels before treatment, pg/mL	GPx levels after treatment, pg/mL	P (Wilcoxon–test)
PD-Cs, n = 23	314.51 (289.64–339.76)	364.56 (340.34–390.94)	<0.001
PD-Bs, n = 19	310.44 (278.73–328.41)	313.03 (259.10–348.21)	0.765

PD-Cs: patients who underwent citicoline course in addition to basic antiparkinsonian therapy; **PD-Bs:** patients who took only basic antiparkinsonian therapy.

1.5 ml Eppendorf tubes. All the plasma samples were frozen at -80°C . Samples were prepared for evaluating GPx concentrations with Elabscience® Enzyme linked immunosorbent assay kit in clinical and diagnostic laboratory of the Medical Educational and Scientific Center “University Clinic” (Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine). GPx levels were checked with Microplate Reader Immunochem-2100 (USA) on the 1st and 40th days of observation (the 1st and the 3rd visits).

The Shapiro–Wilk test was used as a test of normality. Numerical variables were expressed as the mean \pm standard deviation (SD) or median with interquartile range (Q1–Q3). For variables not following a normal distribution, data was compared using the Mann–Whitney test. The Wilcoxon signed-rank test was used to compare two related samples, on the first and the last days of observation. The Friedman test was used to compare multiple dependent samples. The Fisher exact test was used to find the differences between percentage of PD H&Y stages in groups. We performed all analyses using the Statistica® for Windows 13.0 (No. JPZ8041382130ARCN10-J). A P-value of <0.05 was considered significant.

The study protocol was approved by ethics committee of Zaporizhzhia State Medical University, according to the current version of The Declaration of Helsinki. Written informed consent was provided by all study participants prior to enrollment in the study.

Results

There were no significant differences between age in PD patients and HCs ($P = 0.09$), as well as PD-Cs and PD-Bs ($P = 0.87$), last groups did not differ in duration of the disease (age medians – 2.0 (1.5–2.0) and 2.0 (1.5–2.0), $P = 0.74$). PD-Cs and PD-Bs groups did not differ on the percentage of patients with I and II H&Y PD stages ($P = 0.71$).

None of adverse effects of citicoline administration were observed. There were 34 PD-MCI patients (20 in PD-Cs group and 14 in PD-Bs group) and 8 out of 20 controls with MCI according to MoCA test scores on the 1st day of observation. The cognitive functions initially were significantly worse in PD patients than in controls (MoCA scores medians – 23.0 (22.0–25.0) and 28.0 (26.0–30.0), respectively, $P < 0.001$). The MoCA scores did not differ between PD-Cs and PD-Bs groups on the 1st day of observation ($P = 0.724$), but were significantly higher in PD-CS group on the 10th ($P = 0.006$) and 40th ($P < 0.001$)

days of observation by 17.4 % ($P < 0.001$) and 21.7 % ($P < 0.001$), respectively.

We observed significant improvement of MoCA scores in PD-Cs in each check day. But in spite of such an improvement in PD-Bs, on the 10th day of observation, patients of this group did not keep it to the last day of the research (Table 1).

Plasma GPx level in controls (371.70 (332.52–406.99) pg/mL) was significantly higher than in PD-Cs (314.51 (289.64–339.76) pg/mL, $P < 0.001$) and PD-Bs (310.44 (278.73–328.41) pg/mL, $P < 0.001$) initially before treatment. The level of GPx in PD-Cs did not differ from the one in PD-Bs initially as well ($P > 0.05$). But after the treatment the GPx level in plasma of PD-Cs (364.56 (340.34–390.94) pg/mL) was significantly higher than in PD-Bs (313.03 (259.10–348.21) pg/mL, $P < 0.001$). Furthermore, the activity of GPx plasma level after citicoline course was higher by 15.9 % ($P < 0.001$) than before additional neuroprotective therapy, which wasn't observed in PD patients on basic treatment only (Table 2). But after citicoline course plasma GPx concentrations in PD-Cs did not differ significantly from controls ($P = 0.503$).

Discussion

The search of evidence-based neuroprotective therapy in PD has still been continuing. Some antioxidants and neuroprotectors are being studied nowadays in the context of possible improvement of non-motor symptoms of PD. But in general, the results of such researches are quite controversial. This controversy in neuroprotection was found even in antiparkinsonian drugs, such as levodopa, dopamine receptor agonists (pramipexole, bromocriptine, R-apomorphine, ropinirole), NMDA receptor antagonists (amantadine), MAO-B inhibitors (rasagiline) in spite of their positive effect on PD in the early stages [12,13]. Other drugs identified as antioxidants (coenzyme Q10, creatine), apoptotic inhibitory factors, neurotrophic factors, iron chelators, calcium channel blockers, kynurenines and alpha-synuclein immunotherapy showed controversial results as well [12,13]. There were some researches, devoted to GPx activity in PD patients [13–15] and citicoline effect on cognition in different diseases [16,17] with different results. Patryk Jasielski mentioned in his review many researches with both positive and uncertain effects of citicoline during acute stroke, mild vascular dementia, after traumatic brain injury [16]. There was an interesting CITIMEM study represented by Pietro Gareri et al. in

2020, in which researchers confirmed the hypothesis that combined use of citicoline and memantine could have an enhanced action in patients affected with Alzheimer's disease and mixed dementia [17]. Antioxidant activity was studied in all these neurological diseases as well, but there are not so many researches of citicoline impact on it. For example, there was a study by Demchenko et al. (2016) in which citicoline positively affected cognitive functions and GPx activity in blood plasma and erythrocyte hemolysate of patients with chronic cerebral ischemia [18]. Due to results of this research we demonstrated that citicoline was able to increase the activity of antioxidant GPx and to improve the cognition on long term period in PD patients at I–II stages. Although our research has some limitations in number of participants and large clinical trials are needed, these results show that citicoline administration may influence the important pathogenetic chain in PD and helps patients to improve the quality of life even in the early stages of the disease due to cognitive functions improvement.

Conclusions

1. Citicoline administration had positive influence on cognitive improvement in PD patients at the early stages of the disease, according to the MoCA scores.

2. Citicoline treatment had significant positive influence on the increasing antioxidant GPx plasma activity in PD patients at the early stages of the disease.

Perspectives of the future researches are in large clinical trials for confirming citicoline benefits in treatment of PD in the early stages.

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

Надійшла до редакції / Received: 15.07.2021

Після доопрацювання / Revised: 02.11.2021

Прийнято до друку / Accepted: 12.11.2021

Information about authors:

Demchenko A. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. ORCID ID: [0000-0002-4296-0902](https://orcid.org/0000-0002-4296-0902)

Biriuk V. V., MD, PhD-student of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. ORCID ID: [0000-0001-8826-1536](https://orcid.org/0000-0001-8826-1536)

Відомості про авторів:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Бірюк В. В., очна аспірантка каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Демченко А. В., д-р мед. наук, доцент каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бирюк В. В., очный аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Jagmag, S. A., Tripathi, N., Shukla, S. D., Maiti, S., & Khurana, S. (2016). Evaluation of Models of Parkinson's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 9, 503. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00503>
- [2] Kouli, A., Torsney, K. M., & Kuan, W. L. (2018). Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In T. B. Stoker, J. C. Greenland (Eds.), *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Codon Publications. <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/186>
- [3] Xu, L., & Pu, J. (2016). Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease: From Pathogenetic Dysfunction to Potential Clinical Application. *Parkinson's disease*, 2016, 1720621. <https://doi.org/10.1155/2016/1720621>
- [4] Musgrove, R. E., Helwig, M., Bae, E. J., Aboutalebi, H., Lee, S. J., Ulusoy, A., & Di Monte, D. A. (2019). Oxidative stress in vagal neurons promotes parkinsonian pathology and intercellular α -synuclein transfer. *The Journal of clinical investigation*, 129(9), 3738-3753. <https://doi.org/10.1172/JCI127330>
- [5] Que, D. S., & Jamora, R. (2021). Citicoline as Adjuvant Therapy in Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Clinical therapeutics*, 43(1), e19-e31. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.11.009>
- [6] Iulia, C., Ruxandra, T., Costin, L. B., & Liliana-Mary, V. (2017). Citicoline – a neuroprotector with proven effects on glaucomatous disease. *Romanian journal of ophthalmology*, 61(3), 152-158. <https://doi.org/10.22336/rjo.2017.29>
- [7] Sarkaya, E., Doğan S. (2020). Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. In M. D. Bagatini (Ed.), *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease*, IntechOpen, <https://doi.org/10.5772/intechopen.91009>
- [8] Li, Z., Wang, P., Yu, Z., Sun, H., Zhang, J., Zhang, J., Cong, Y., Sun, C., Zhang, Y. G., & Ju, X. (2016). Effect of citicoline adjuvant therapy on mild cognitive impairment in Parkinson's disease. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(2), 4593-4598.
- [9] Ahmed, M., Herrmann, N., Chen, J. J., Saleem, M., Oh, P. I., Andrezza, A. C., Kiss, A., & Lancôt, K. L. (2021). Glutathione Peroxidase Activity Is Altered in Vascular Cognitive Impairment-No Dementia and Is a Potential Marker for Verbal Memory Performance. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 79(3), 1285-1296. <https://doi.org/10.3233/JAD-200754>
- [10] Postuma, R. B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C. W., Oertel, W., Obeso, J., Marek, K., Litvan, I., Lang, A. E., Halliday, G., Goetz, C. G., Gasser, T., Dubois, B., Chan, P., Bloem, B. R., Adler, C. H., & Deuschl, G. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 30(12), 1591-1601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424>
- [11] Nasreddine, Z. S., Phillips, N. A., Bédirian, V., Charbonneau, S., Whitehead, V., Collin, I., Cummings, J. L., & Chertkow, H. (2005). The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53(4), 695-699. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x>
- [12] Salamon, A., Zádori, D., Szpisjak, L., Klivényi, P., & Vécsei, L. (2020). Neuroprotection in Parkinson's disease: facts and hopes. *Journal of neural transmission*, 127(5), 821-829. <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02115-8>
- [13] Sarkar, S., Raymick, J., & Imam, S. (2016). Neuroprotective and Therapeutic Strategies against Parkinson's Disease: Recent Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 904. <https://doi.org/10.3390/ijms17060904>
- [14] Vida, C., Kobayashi, H., Garrido, A., Martínez de Toda, I., Carro, E., Molina, J. A., & De la Fuente, M. (2019). Lymphoproliferation Impairment and Oxidative Stress in Blood Cells from Early Parkinson's Disease Patients. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 771. <https://doi.org/10.3390/ijms20030771>
- [15] Wei, Z., Li, X., Li, X., Liu, Q., & Cheng, Y. (2018). Oxidative Stress in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 236. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00236>
- [16] Jasielski, P., Piędel, F., Piwek, M., Rocka, A., Petit, V., & Rejdak, K. (2020). Application of Citicoline in Neurological Disorders: A Systematic Review. *Nutrients*, 12(10), 3113. <https://doi.org/10.3390/nu12103113>
- [17] Gareri, P., Cotroneo, A. M., Orsitto, G., & Putignano, S. (2020). The CITIMEM study: A pilot study. Optimizing pharmacological treatment in dementia. *Archives of gerontology and geriatrics*, 89, 104073. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2020.104073>
- [18] Demchenko, A. V., Belenichev, I. F., & Bobrova, V. I. (2016). Farmakolo-hichna korektsiia stanu systemy hlutatuonu krov'i khvorykh na khronichnu ishemiiu mozku Pharmacological correction of glutathione system state in the patients with chronic cerebral ischemia. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (6), 89-96. [in Ukrainian].

Thoracic aortic aneurysm in pregnancy: morphological analysis of 6 cases

V. P. Zakharova^{ID} 1,3,A,C,D, S. O. Siromakha^{ID} *1,3,A,B,C,D, Jolien W. Roos-Hesselink^{ID} 4,D,E,
V. I. Kravchenko^{ID} 1,B, Yu. V. Davydova^{ID} 1,2,B,F, V. V. Lazoryshynets^{ID} 1,E,F

¹National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, ²SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, ³Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine, ⁴Erasmus University, Rotterdam, Netherlands

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:

aortic aneurysm, dissection, pregnancy, Marfan syndrome, aortic wall morphology.

Pathologia

2021; 18 (3), 356-364

*E-mail:

newsersir@gmail.com

Aortic dissection is rare but life-threatening complication in pregnancy, causing significant maternal and perinatal losses. Pregnancy may influence the integrity of the vessel wall and is a risk factor for dissection. There are very few data in the literature on structural changes in the aortic walls during pregnancy complicated by aortic dissection.

Aim. Study of pathological features in the wall of ascending aorta (AA) during or immediately after pregnancy is presented in the article.

Materials and methods. Material after surgical correction of AA in patients during pregnancy and in the early postpartum period was studied. Frozen sections were made from one part of the sample, followed by hematoxylin and eosin (H&E) staining, as well as Sudan III–IV staining to detect lipids. Paraffin sections were stained with H&E and picrofuchsin (van Gieson's stain) for differentiation of collagen and muscle fibers, as well as fuchselin (Weigert's elastic stain).

Results. Six cases of aortic surgery during pregnancy (n = 1) and postpartum period (n = 5) were included: severe aortopathy caused by Marfan syndrome (MS) (n = 3), aortic coarctation with bicuspid aortic valve (n = 1), renal hypertension (n = 1), and pregnancy-induced hypertension (n = 1). Pathohistological studies showed that in all patients who underwent aortic surgery at the end of the third trimester in the early postpartum period changes in aortic wall collagen structure were observed. In contrast, in a pregnant woman with MS and severe aortopathy, who underwent preventive aortic surgery at 19 weeks of gestation, there were no such changes, the morphologic samples showed areas of scarring. In all 6 cases signs of lipoidosis in the AA wall were observed.

All these data require further theoretical study, but clinicians are already faced with the question of the feasibility of preventive surgery in women with severe aortopathy on the preconception stage or during pregnancy.

Conclusions. The specific effect of pregnancy on the AA wall leads to collagen disruption and the appearance of lipoidosis in late pregnancy, which is an important pathomorphological substrate for the occurrence of acute aortic pathology.

Ключові слова:

аневризма аорти, розшаровуюча аневризма аорти, вагітність, синдром Марфана, морфологія аортальної стінки.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53).

С. 356-364

Аневризма грудної аорти під час вагітності: морфологічний аналіз 6 випадків

В. П. Захарова, С. О. Сіромаха, Джолієн В. Роос-Геселінк,
В. І. Кравченко, Ю. В. Давидова, В. В. Лазорішинець

Розшарування аневризми аорти – рідкісне, але небезпечне для життя ускладнення вагітності, що призводить до чималих материнських і перинатальних утрат. У фаховій літературі обмаль даних про структурні зміни аортальних стінок під час вагітності, що ускладнена розшаруванням аорти.

Мета роботи – вивчення патогістологічних особливостей стінки висхідної аорти (ВА) під час або безпосередньо після вагітності.

Матеріали та методи. Дослідили матеріал після хірургічної корекції ВА в пацієнок під час вагітності та в ранньому післяпологовому періоді. З однієї частини зразка робили заморожені зрізи, забарвлювали гематоксиліном та еозином (H&E), а також суданом III–IV для виявлення ліпідів. Парафінові зрізи забарвлювали H&E та пікрофуксином (забарвлення за ван Гізоном) для диференціації колагенових і м'язових волокон, а також фукселіном (забарвлення за Вейгертом).

Результати. У дослідження залучили шість пацієнок, яким виконали операцію на аорті під час вагітності (n = 1) або в ранньому післяпологовому періоді (n = 5): із важкою аортопатією, спричиною синдромом Марфана (СМ) (n = 3), коарктацією аорти та двостулковим аортальним клапаном (n = 1), нирковою гіпертензією (n = 1), гіпертензією, що зумовлена вагітністю (n = 1). Патогістологічні дослідження показали: в усіх пацієнок, яких прооперували наприкінці III триместру гестації, в перші дні після розродження у стінках аорти реєстрували зміни колагену – набрякання та зниження тинкторіальних властивостей. У вагітної, яку прооперували превентивно на 19 тижні гестації, незважаючи на аортопатію, що спричинена СМ, такі зміни колагену не зафіксували; навпаки, у препаратах аорти цієї жінки були ділянки рубцевих змін. У всіх 6 пацієнок у стінках ВА спостерігали ознаки ліпоїдозу. Наведені відомості потребують продовження теоретичного вивчення, але перед клініцистами вже зараз стоїть питання про доцільність превентивних операцій у пацієнок із тяжкими аортопатіями на етапі прекоцепції або під час вагітності.

Висновки. Специфічний вплив вагітності на стінку ВА призводить до набрякання колагену та появи ліпоїдозу на пізніх термінах вагітності, що є важливим патоморфологічним субстратом для виникнення гострої патології аорти.

Аневризма грудной аорты при беременности: морфологический анализ 6 случаев

В. П. Захарова, С. О. Сиромеха, Джолиен В. Роос-Хесселинк,
В. И. Кравченко, Ю. В. Давыдова, В. В. Лазоришинец

Расслоение аневризмы аорты – редкое, но опасное для жизни осложнение беременности, приводящее к значительным материнским и перинатальным потерям. В научной литературе очень мало данных о структурных изменениях аортальных стенок при беременности, осложнённой расслоением аорты.

Цель работы – изучение патогистологических особенностей стенки восходящей аорты (ВА) во время или непосредственно после беременности.

Материалы и методы. Исследовали материал после хирургической коррекции ВА у пациенток во время беременности и раннем послеродовом периоде. Из одной части образца делали замороженные срезы, окрашивали гематоксилином и эозином (H&E), а также суданом III–IV для выявления липидов. Парафиновые срезы окрашивали H&E и пикрофуксином (окраска по ван Гизону) для дифференциации коллагеновых и мышечных волокон, а также фукселином (окраска эластических волокон по Вейгерту).

Результаты. В исследование включили шесть пациенток, перенёвших операцию на аорте во время беременности ($n = 1$) или в раннем послеродовом периоде ($n = 5$): с тяжёлой аортопатией, вызванной синдромом Марфана (СМ) ($n = 3$), коарктацией аорты и двустворчатым аортальным клапаном ($n = 1$), почечной гипертензией ($n = 1$), гипертензией, вызванной беременностью ($n = 1$). Патогистологические исследования показали: у всех пациенток, прооперированных в конце III триместра гестации, в первые дни после родоразрешения в стенках аорты фиксировали изменения коллагена – набухание и снижение тинкториальных свойств. У беременной, прооперированной превентивно на 19 неделе гестации, несмотря на аортопатию, обусловленную СМ, такие изменения коллагена не зафиксированы; напротив, в препаратах аорты этой пациентки отмечены участки рубцовых изменений. У всех 6 пациенток в стенках ВА отмечены признаки липоидоза. Эти данные требуют дальнейшего теоретического изучения, однако перед клиницистами уже сейчас стоит вопрос о целесообразности превентивных операций у пациенток с тяжёлыми аортопатиями на этапе прекоцепции или во время беременности.

Выводы. Специфическое влияние беременности на стенку ВА приводит к набуханию коллагена и появлению липоидоза на поздних сроках беременности, что является важным патоморфологическим субстратом для возникновения острой патологии аорты.

Ключевые слова:
аневризма аорты,
расслаивающая
аневризма аорты,
беременность,
синдром Марфана,
морфология
аортальной стенки.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 356-364

Pregnancy has a significant impact on the female body. In particular, the growth of the fetus, placenta and uterus requires increased functional activity of the maternal cardiovascular system [1,2]. The circulating blood volume increases by 30–40 %, heart rate and stroke volume increase, cardiac output increases by up to 30–50 % compared to non-pregnant women. Increase in cardiac preload is accompanied by an increase in size and weight of the woman [2].

Slightly decreasing blood pressure in the normal start of pregnancy is caused by a systemic decrease in vascular resistance [3], due to both neuro-mediated vasodilation and increased extensibility of the vascular wall [2,4]. The latter is associated with hormonal changes, in particular with a significant increase in estrogen and progesterone levels. The most important contributor responsible for dilatation of the arteries is probably relaxin, a hormone produced by the placenta. Experiments have shown that the activity of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and MMP-2 increases in isolated small vessels in rats treated with relaxin. Also, in the aorta of rats during pregnancy, an increase in the expression of MMPs, in particular MMP-2 and MMP-3 [5], is described.

It has been suggested that weakening of the connective tissue matrix of the aortic wall by lysing enzymes promotes adaptation of this vessel to facilitate the increase in cardiac output. In normal pregnancy, the diameter of the ascending aorta (AA) increases by 1 mm [1]. In addition to the dilation of the AA, the increase in cardiac output associated with accelerated blood flow relative to the vascular wall may cause endothelium damage which can also contribute to the formation of

aortic aneurysms and even aortic dissection (AD) [6]. In women with heritable thoracic aortic disease, the risk of developing AD during pregnancy appears to be elevated, reaching a peak in the third trimester and the postpartum period [7].

Although AD is rare during pregnancy, its incidence during pregnancy is 14.5 vs. 1.24 per million in non-pregnant women [8]. It is an important clinical problem because it is associated with significant maternal (up to 17 %) and fetal (up to 42 %) mortality [9]. Information on aortic wall morphology will provide insight into the importance of pregnancy as a risk factor for AD, but only a few outdated case reports are currently available in the literature.

Aim

Therefore, the aim of the current study is to discuss pathohistological findings of aortic wall material in women who needed surgery due to AD or aneurysm during or immediately after pregnancy.

Materials and methods

This was a retrospective descriptive study in which we included female patients from cardiac surgical facility who underwent AA surgery during or immediately after pregnancy in the period between 2014 and 2020 and had histomorphological evaluation of the aortic wall.

Adult patients (≥ 18 years old) who presented with aortic surgery during pregnancy or in the postpartum period between 01/01/2014 and 01/01/2020 were included.

Table 1. Clinical data for the 6 patients who underwent AA surgery during pregnancy or immediately after delivery

Patient	Age	History	Diameter (mm) and primary aortic pathology	Complications during pregnancy (type, term)	Delivery (type, term, birth weight)	Gestation age (weeks) at the time of surgery	Type of surgical procedure
A	22	MFS (z-score 12.8, ectopia lentis) Primigravida	AA 45 mm Valsalva sinus 62 mm		C-section 38 weeks 2440 g	19 weeks	BP with pregnancy preservation
B	24	MFS (z-score 3.2 FBN1) Primigravida	AA 42 mm Valsalva Sinus 42 mm	AAAD 40 weeks	C-section 40 weeks 3350 g	40 weeks, 26 hours after C-section	BP 5 days after BP rupture of the abdominal aorta, maternal mortality caused by bleeding
C	36	MFS (family history z-score 7.9, ectopia lentis) Primigravida	AA 45 mm Valsalva sinus 41 mm	AAAD 6 th day after C-section	C-section 35 weeks IVF Twins 2400 g, 2000 g	Day 6 after C-section	BP with hemiarch reconstruction
D	32	Renal hypertension 2003 AAAD 2013 TEVAR (CAAD) Primigravida	AA 59mm CAAD	AAAD 36 weeks	C-section 36 weeks 2690 g	23 hours after C-section	SAAR with hemiarch
E	28	C-section 4 years earlier	AA 43 mm BAV + CoA Hypertension	AAAD 4 th day after C-section	C-section 38 weeks 2800 g	Day 4 after C-section	Endovascular CoA repair then SAAR
F	38	Unremarkable Previous 1 successful pregnancy	AA 46 mm	AAAD 38 weeks preeclampsia	C-section 38 weeks 3300 g	28 hours after C-section	BP with hemiarch reconstruction (valve conduit)

AA: ascending aorta; **C-section:** caesarean section; **BP:** Bentall procedure; **AAAD:** acute ascending aortic dissection; **TEVAR:** transthoracic endovascular aortic reconstruction; **CAAD:** chronic ascending aortic dissection; **SAAR:** supracoronary ascending aortic replacement; **BAV:** bicuspid aortic valve; **CoA:** aortic coarctation; **IVF:** in vitro fertilization.

Patients were identified through searches in the local cardiothoracic surgery database. Data were collected from the hospital digital patient files and internal institutional database.

Patients with thoracic aortic aneurysm or AD are treated according to the European guidelines on aortic disease (ref: ESC aorta). In pregnant patients, the timing for aortic surgery is based on the indication and whether the fetus is viable or not (ref: ESC guidelines pregnancy). In case of an AA aneurysm with indication for surgery and gestation age of <24 weeks, the operation is performed with the fetus in situ. When the fetus is viable, the aortic surgery is performed after caesarean section. In case of acute AA dissection, emergency operation is performed.

Fragments of the aortic wall excised during the operation were fixed in 10% neutral formalin. Frozen sections were made from one part of the sample, followed by hematoxylin and eosin (H&E) staining, as well as Sudan III–IV staining to detect lipids. The remaining material in the form of 1–2 pieces was dehydrated in alcohol of increasing concentration and enclosed in paraffin. Paraffin sections were stained with H&E and picrofuchsin (van Gieson's stain) for differentiation of collagen and muscle fibers, as well as fuchselin (Weigert's elastic stain).

Results

The study population consisted of 6 women (mean age 30.0 ± 6.5 years), 3 of them had Marfan syndrome (MFS). Baseline characteristics are shown in *Table 1*.

Of the three women with MFS, in one (patient B) the diagnosis was confirmed by genetic research and in the other two it was highly suspected based on family history and the presence of ectopia lentis.

Due to the high risk of AD or even rupture (AA diameter 45 mm and aortic sinuses 62 mm), patient A agreed to have preventive surgery, and she underwent Bentall procedure at 19 weeks of gestation. At 38 weeks, she

gave birth to a healthy baby by elective C-section. Histological examination of the operative material in the wall of her aorta revealed signs of elastopathy: elastic membranes (EM) were heterochromic (mostly pale), thinned, fragmented and disorganized. In many fields of view, there were areas almost completely devoid of fuchselinophilic structures (*Fig. 1A*). Defects of the elastic framework of the aortic wall were replaced by collagen: more mature in the deeper layers of the media and loose, swollen in the subintimal layer (*Fig. 1B*). Against this background, individual clusters of smooth muscle cells (SMCs) were differentiated, which, being enclosed in fibrous tissue, retained a predominantly circular orientation (*Fig. 1B, C*). The intima was thickened due to fibromuscular proliferation and edema, and microfractures were visualized on its surface (*Fig 1A, B*). Microgranular lipids were detected in the intima during Sudan III–IV staining.

Patient B, 24 years old, had known MFS (genetically confirmed), had favorable course of all trimesters of pregnancy, but at 40 weeks she developed AAAD. She underwent an emergency C-section and 26 hours later a Bentall procedure. Both operations were successful, the child remained alive and well. However, 5 days after cardiac surgery, the patient had a rupture of the abdominal aorta with massive bleeding and fatal outcome. Histological changes in the wall of the AA were largely the same as in the previous case. However, the areas devoid of elasticity were wider (*Fig. 2A*), and the collagen fibers were “blurred”, multidirectional, scattered, and pale when stained with van Gieson's picrofuchsin (*Fig. 2B*). As a result, whole layers of smooth muscle cells (SMCs), devoid of the elasto-collagen matrix, were directed fan-shaped, from the deep layers of the media towards the intima (*Fig. 2C*). The latter showed signs of surface destruction (*Fig. 2B*), dissection (*Fig. 2A*) and lipid infiltration (*Fig. 2D*).

Patient C was 36 years old and also had known MFS. Her pregnancy went smoothly and at 40 weeks she underwent C-section. However, on the 6th day after

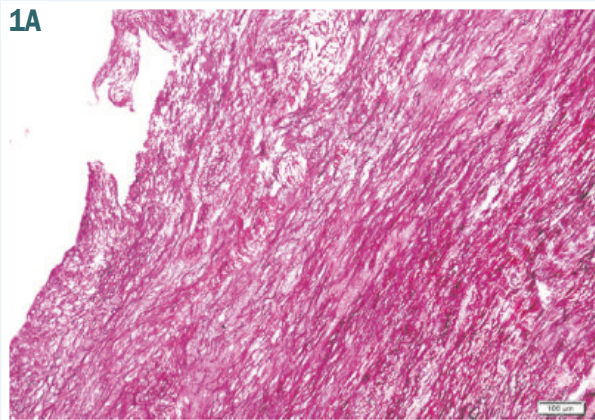


Fig. 1. Patient A, MFS. AA wall fragment. **A.** Defect of the elastic framework of the media; fuchselin staining, $\times 100$. **B.** Replacement fibrosis; picrofuchsin staining, $\times 200$. **C.** Intimal tear; H&E staining, $\times 40$.

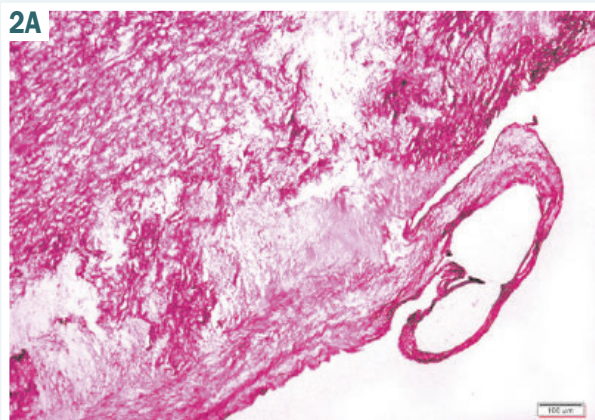
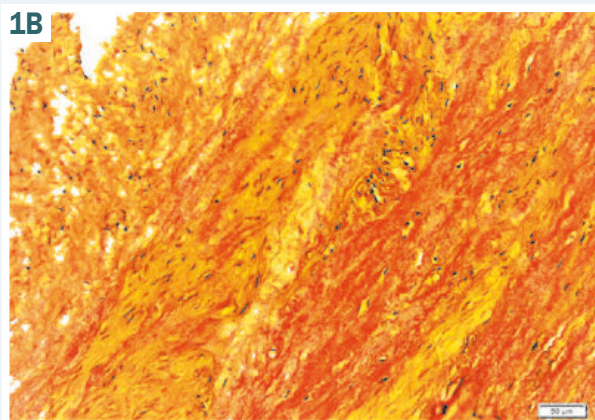
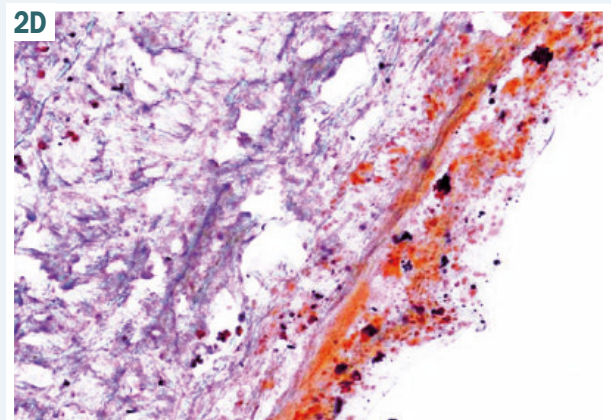
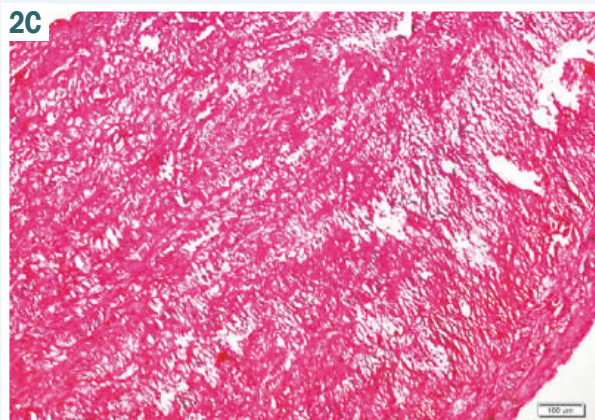
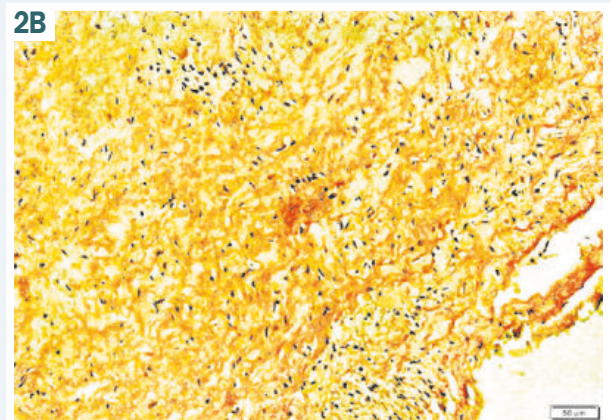
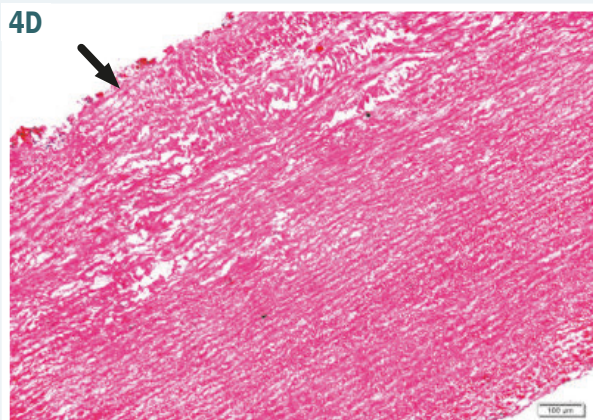
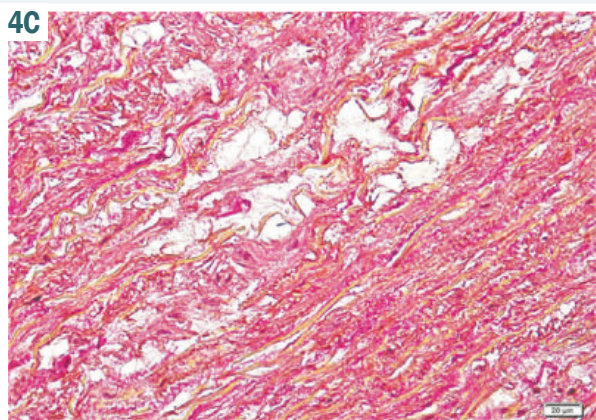
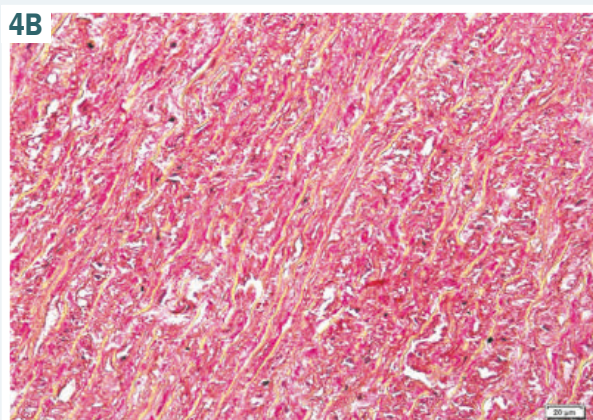
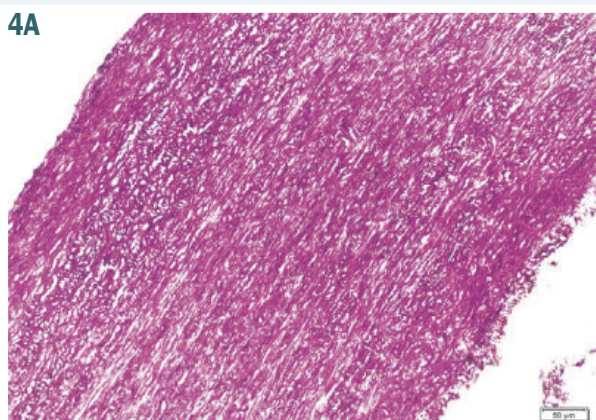
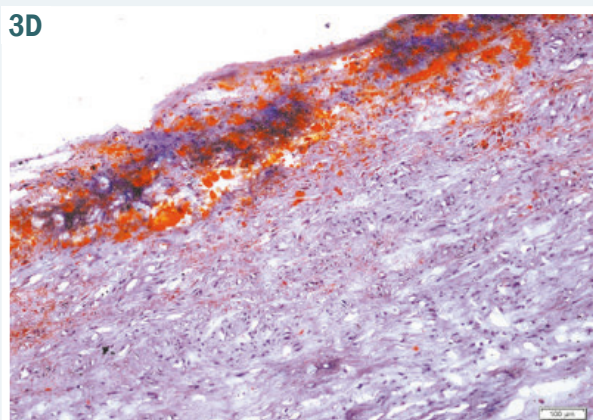
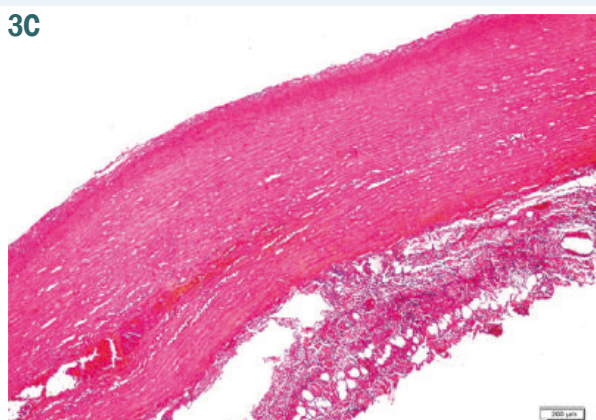
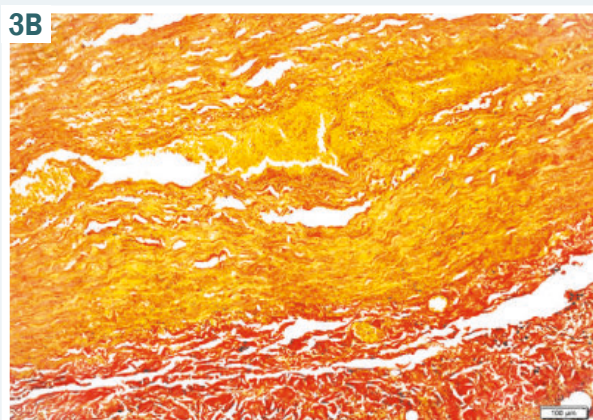
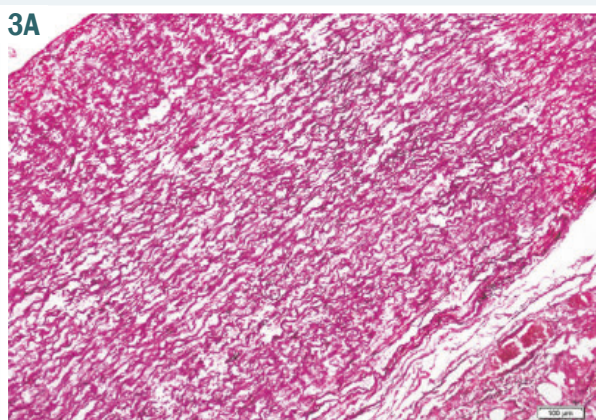


Fig. 2. Patient B, MFS. AA wall fragment. **A.** Elastopathy of the media with the destruction of elastic membranes, rupture of the intima; fuchselin staining, $\times 100$. **B.** Collagen is thinned, pale, disorganized; picrofuchsin staining, $\times 100$. **C.** Disorientation, dystrophy, necrosis of SMCs; H&E staining, $\times 100$. **D.** Intima lipid deposition; Sudan III–IV staining, $\times 200$.





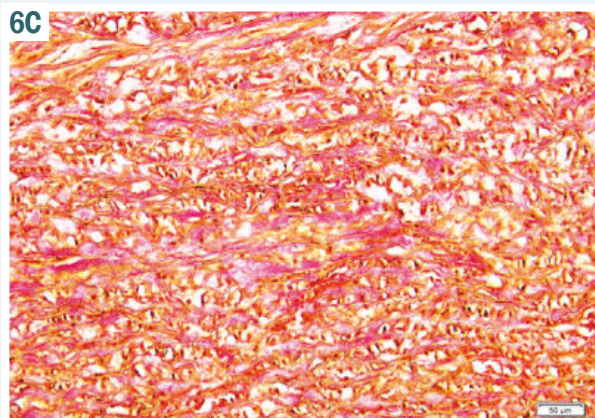
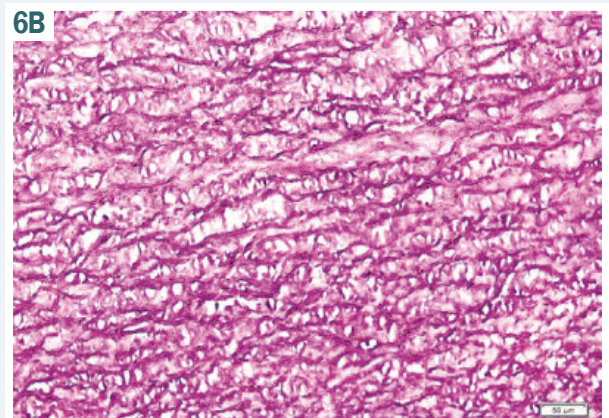
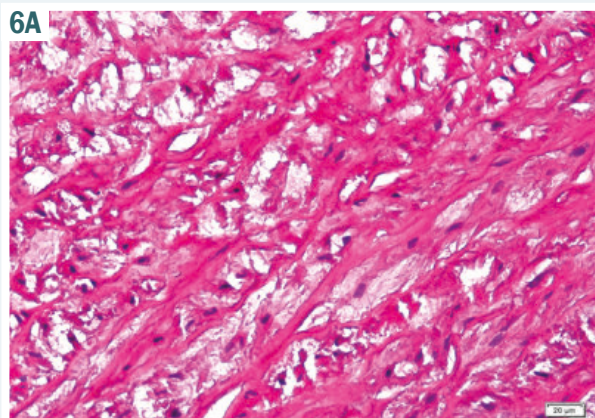
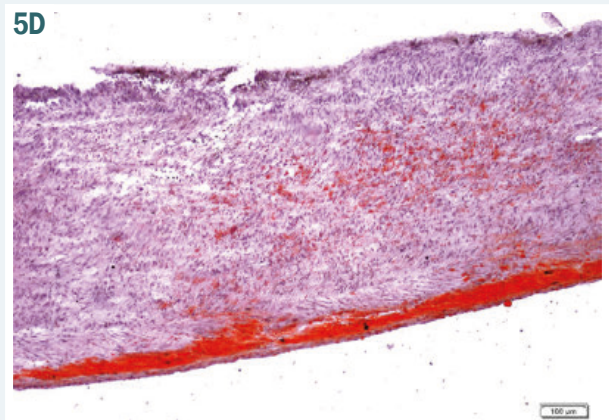
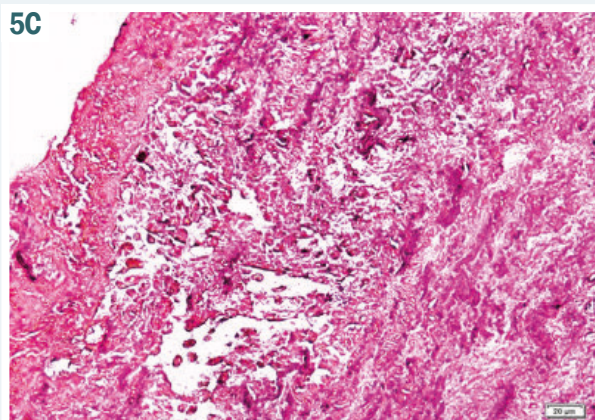
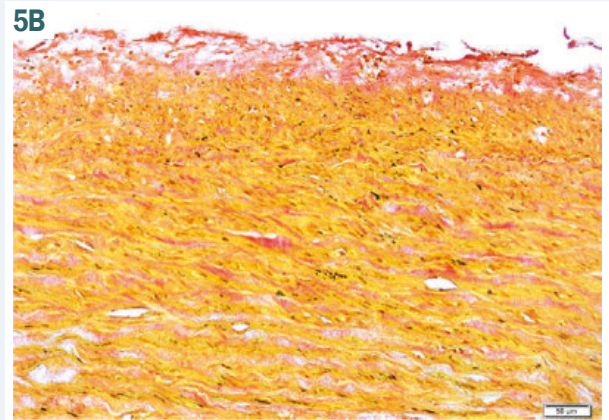
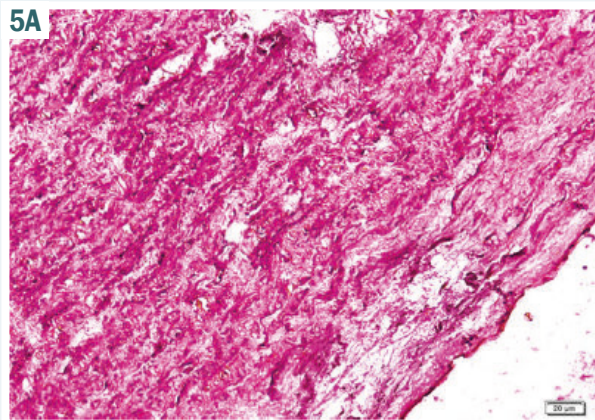


Fig. 3. Patient C, MFS, AA wall fragment. **A.** Defibering and polymorphism of EM of the media; fuchselin staining, $\times 100$. **B.** Swelling of the collagen fibers of the media; picrofuchsin staining, $\times 100$. **C.** Leukocyte infiltration of the adventitia, media dissection; H&E staining, $\times 40$. **D.** Lipoidosis of the intima and subintimal layer of the media; sudan III-IV staining, $\times 100$.

Fig. 4. Patient D, renal hypertension, AA wall fragment. **A.** The EM of the media are stretched, collapsed in the middle layer; fuchselin staining, $\times 100$. **B.** The intercellular matrix of the media is represented mainly by collagen; picrofuchsin staining, $\times 400$. **C.** Collagen lysis with the destruction of other media structures; picrofuchsin staining, $\times 400$. **D.** The plane of stratification of the aortic wall (arrow) in the area of its destruction; H&E staining, $\times 100$.

Fig. 5. Patient E, CoA, BAV, AA wall fragment. **A.** Chains of fuchselinophilic granules are observed on the sides of individual fragments of elastic membranes; fuchselin staining, $\times 400$. **B.** Collagen of the extracellular matrix is hypochromic, swollen; picrofuchsin staining, $\times 200$. **C.** Dissection of the AA wall in the area of lysis of collagen and other structures; fuchselin staining, $\times 400$. **D.** Intimal and media lipoidosis in the area of smooth muscle cell destruction; Sudan III-IV staining, $\times 100$.

Fig. 6. Patient F, Preeclampsia, 38 weeks of gestation, AA wall fragment. **A.** Intra- and extracellular edema; H&E staining, $\times 400$. **B.** Dissociation and ruptures of elastic membranes; fuchselin staining, $\times 200$. **C.** Swelling and lysis of collagen; picrofuchsin staining, $\times 200$.

delivery, she developed AAAD. On the same day, she underwent a Bentall procedure including reconstruction of the hemiarch. Judging by the sample of the aortic wall excised during the operation, its microstructure, in this case, differed from the first two observations. No areas devoid of EM were found in histological preparations. However, all available membranes differed in polymorphism due to their defibering with different thickness, length, and degree of corrugation of each fiber, which also differed in tinctorial properties (Fig. 3A). Such features of the elastic framework of AA definitely reduced its ability to model the diameter of the vessel in accordance with the systolic-diastolic fluctuations of blood pressure on its wall. In addition, patient C, as well as B, had changes in the collagen fibers of the media, which (in contrast to adventitia) were pale intermittent and without clear contours (Fig. 3B). This reduced the mechanical strength of AA. This patient also had signs of nonspecific inflammation in the adventitia (Fig. 3C) and significant lipoidosis of the intima and subintimal layers of the media (Fig. 3D).

Patient D, 32 years old, suffered from renal hypertension for many years. In 2003, she developed AAD type B according to the Stanford classification without serious hemodynamic consequences. The patient was treated conservatively, maintaining optimal blood pressure. In 2013, she underwent endovascular reconstruction of the thoracic aorta (TEVAR) due to its chronic dissection and dilation up to 59 mm. In 2019, she became pregnant. At 36 weeks of gestation, AAAD occurred, which extension to the left side of the aortic arch. An emergency C-section was performed (the child survived), and 48 hours later supracoarctary ascending aortic replacement (SAAR) with a hemiarch was performed.

At microscopy in all samples the effect of overstretching and convergence of fibrous structures of media was found, especially expressed in its middle layer (Fig. 4A). EM in this area were straightened, pale, discontinuous, and as if fused into conglomerates due to the growth of collagen (Fig. 4B) which was predominant component of the AA wall. The number of SMCs was reduced, the nuclei of most of them had an elongated shape. Signs of collagen lysis with the destruction of EM and SMCs were observed in the subintimal and outer layers of the media (Fig. 4C) and later – at the zone of dissection (Fig. 4D). In the aortic intima of patient D, focal accumulations of lipophages and lipid granules were noted.

Patient E, 28 years old, was diagnosed with congenital pathology of the aorta: isthmus coarctation as well as a bicuspid aortic valve (BAV). Four years earlier the patient gave birth to a child by C-section on obstetric indications. The current pregnancy ended at 38 week also by elective C-section. But on the 4th day after delivery, the mother was diagnosed with AAAD. She underwent emergency CoA stenting and then, at the same day, SAAR. Both the mother and the child were discharged in satisfactory condition after 11 days.

Such aspects of the pathogenesis of AA lesion as increased transmural pressure on the wall of AA and the aortic arch in the precoarctation basin and eccentric traumatic for aortic wall transannular blood flow were considered in the histopathological study of preparations from the internal layer of the dissected aortic wall

of the patient E. The expected straightening of the EM of the media was noticeable, but only in some areas of the subintimal layer. On the rest of the sample, the media was virtually devoid of an integral elastic framework as a result of thinning, lysis and fine fragmentation of EM (Fig. 5A). On both sides of the largest fragments of EM, small fuchselinophilic granules are observed (Fig. 5A), which have been described in patients with a certain variant of the elastin gene polymorphism [11]. The spaces between the components of the elastic structures of the aortic wall are filled with collagen, but its fibers were hypochromic, swollen (Fig. 5B), and lysed together with SMCs and EM in the area of dissection (Fig. 5C), with early manifestations of perifocal inflammation. Also, in the samples of patient E, there was a positive reaction to lipids in the intima and the area of dystrophy and necrobiosis of media SMCs (Fig. 5D).

Patient F has had no history of pre-pregnancy risk factors, for aortic disease. However, at 38 weeks of gestation, she previously developed preeclampsia and then – AAAD. In this regard, the patient underwent C-section, and 28 hours later Bentall procedure with the reconstruction of the arch with a valve-containing conduit. The mother and the child survived and were discharged home in satisfactory condition. The samples of the aortic wall revealed signs of pronounced intracellular edema of the SMCs (Fig. 6A), accompanied by edema of the extracellular matrix with increase in the distance between the EM and destruction of some of them (Fig. 6B). In collagen fibers, swelling and edema were accompanied by lysis (Fig. 6C). In this case, as well as in 4 other patients, lipophages and lipid granules were also found in the intima with damaged endothelium.

Discussion

In this paper we described 6 women with aortic surgery during pregnancy or in the postpartum period with detailed morphological description. In 4 cases the pregnancy occurred against the background of initial aortic pathology and one woman suffered from known hypertension. The sixth case, however, had no premorbid risk factors. She developed an acute increasing of blood pressure (preeclampsia) during pregnancy, which is the only factor that could contribute to the occurrence of the acute dissection. In this series maternal mortality was 17 % (n = 1), however, we avoided perinatal losses, probably because we were able to perform C-section before aortic surgery was done in 5 of the 6 women. Timely diagnosis of aortic pathology and counselling of women wishing to become pregnant may prevent the occurrence of life-threatening complications during pregnancy.

In patient A aortic surgery was performed during the second trimester of pregnancy. The morphological changes, which were found in the aortic wall of this patient, testified to the extremely high risk of dissection or rupture, so the preventive surgical treatment should be considered as a life-saving intervention. Two other patients with MFS did not escape of acute aortic dissection, one at the end of pregnancy and the other in the first week after delivery.

Acquired morphological lesions of the aortic wall in patient D were the cause of recurrent AAD at 36 weeks of gestation. Primary damage to the aortic wall and

the primary episode of AAD are most likely related to renal hypertension, which is one of the causes of overextension of the EM of the media with the subsequent remodeling of all structures.

It is known that one of the main manifestations of CoA is hypertension in the proximal to coarctation segment (AA, arch, and brachiocephalic branches), which is combined with hypotension of the descending aorta and its branches. That is, from birth AA and the arch function in conditions of increased transmural pressure, which with age leads to morphological changes in its structure in the form of stretching and thinning of EM and strengthening of the collagen component of the connective tissue matrix [11]. As a result, the AA wall loses elasticity and becomes more rigid which reduces its ability to distend and shrink in response to pulsatile flow and increases the traumatic effect of blood flow on the endothelium.

The state of AA (patient E), in addition to CoA could also be affected by BAV. Usually in this pathology, the aortic valve is located eccentrically. Due to this, the transvalvular blood flow can deviate from the longitudinal axis of the AA towards one of its walls, exerting a direct mechanical impact on it and creating additional traumatic intimate turbulent flows. The combination of BAV and CoA could associate with heritable thoracic aortic pathology as well [12]. Such pathomorphological mechanisms probably provoked the development of aortic aneurysm and later AAD in this patient.

Regardless of the nature of the occurrence, all the factors that contributed to AAAD caused either weakening of the mechanical strength of the structure of the aortic wall, or a significant increase in the load, or both. This is applicable for any case of aortic aneurysm formation and dissection/rupture of its walls. However, in pregnant women, due to the increase in circulating blood volume, there is a physiological decrease in vascular resistance [3,4], in particular, due to increased elasticity of the artery walls. Animal experiments have shown the role of placental-produced relaxin in the increased activity of MMPs which weaken the connective tissue matrix of blood vessels, including the aorta [5].

According to our data, in all patients operated at the end of gestation and in the early postpartum period, changes in collagen in the form of its swelling and decrease in tinctorial properties were observed in the aortic wall. In the pregnant woman with MFS who underwent surgical intervention preventively at 19 weeks of gestation, there were no such changes in collagen. On the contrary, the samples showed areas of scar replacement by collagen of EM and SMCs destroyed because of MFS. That is, we can assume that in the early stages of pregnancy, changes in the aortic wall that occurred before pregnancy are not exacerbated by physiological mechanisms of reducing vascular resistance. Also noteworthy is the fact that all 6 patients had signs of lipoidosis in the walls of the AA. This may be due to factors causing damage to the intima, such as the initial pathology of the aorta, trauma to the endothelium by blood flow, as well as possible changes in lipid metabolism.

This requires further theoretical study, but clinicians have already faced the question of indications for preventive surgery in pregnant women with different variants of

aortic pathology [6,10]. Indeed, from our study we now have some evidence that pregnancy has specific effects on the aortic wall and is associated with a higher risk of dissection, but of course we have to be careful to draw firm conclusions, because the numbers are small and the cases are highly selected on their need for aortic surgery. It will not be possible to study the aortic wall in pregnant patients without surgery. Perhaps future animal study can be of help here. Also, here further research is warranted.

Limitations

The number of patients in this study is limited and they are selected based on their need for surgery. Therefore, our data may not be considered representative for all pregnant women with and without aortic pathology. In the three patients with assumed MFS only one case was genetically proven and, therefore, the diagnosis in the other two is not definitive; however, there is a high suspicion based on their family history and eye abnormalities. The study of pathohistological features of the AA wall with detection of MMPs should be obligatory included. Useful information can be obtained from studies of relaxin in the blood of pregnant women.

Conclusions

1. Swelling and lysis of collagen on the background of initial aortic pathology are noted in the aortic wall of pregnant women. These features reduce the mechanical strength of the aortic wall. The described changes in collagen can be associated with specific hormonal and hemodynamic changes in the female body in late pregnancy.
2. In a patient who underwent preventive surgery at 19 weeks of gestation, such changes in collagen in AA were not detected, despite significant damage to its wall due to MFS, in the form of initial detachment of the intima.
3. Signs of early lipoidosis in AA preparations were detected in all 6 cases.
4. In women who underwent AA surgery during pregnancy or the postpartum period, clear changes were observed in the aortic wall, that can be attributed to the hormonal and hemodynamic impact of pregnancy in late pregnancy, with more advanced changes in collagen. This study supports the theory that pregnancy is a risk factor for aortic complications, especially in women with premorbid aortic pathology.

Funding

The work was performed within the applied research of National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine on the topic "Development of organizational and practical aspects of the system of multidisciplinary care for pregnant and parturient women with congenital heart disease".

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

Надійшла до редакції / Received: 20.10.2021
Після доопрацювання / Revised: 08.11.2021
Прийнято до друку / Accepted: 17.11.2021

Information about authors:

Zakharova V. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathology with Pathological Anatomy, National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine, Kyiv; Professor of the Department of Pathological Anatomy, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine. ORCID ID: [0000-0001-5146-6845](https://orcid.org/0000-0001-5146-6845)

Siromakha S. O., MD, PhD, Chief Medical Officer, National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine; Associate Professor of the Department of Surgery 2, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine. ORCID ID: [0000-0002-7031-5732](https://orcid.org/0000-0002-7031-5732)

Jolien W. Roos-Hesselink, MD, PhD, Professor, Head of the Department of Adult Congenital Heart Disease, Erasmus University, Rotterdam, Netherlands. ORCID ID: [0000-0002-6770-3830](https://orcid.org/0000-0002-6770-3830)

Kravchenko V. I., MD, PhD, Head of the Department of Surgical Treatment of Aortic Pathology, National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine, Kyiv. ORCID ID: [0000-0003-4873-5367](https://orcid.org/0000-0003-4873-5367)

Davydova Yu. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetric Problems of Extragenital Pathology, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine; Chief Researcher of the Department of Congenital Heart Diseases in Children, National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine, Kyiv. ORCID ID: [0000-0001-9747-4738](https://orcid.org/0000-0001-9747-4738)

Lazoryshynets V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Academician of NAMS of Ukraine, Director of National M. Amosov Institute of Cardiovascular Surgery Affiliated to NAMS of Ukraine, Kyiv. ORCID ID: [0000-0002-1748-561X](https://orcid.org/0000-0002-1748-561X)

Відомості про авторів:

Захарова В. П., д-р мед. наук, зав. відділу патології з патологічною анатомією, ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України»; професор каф. патологічної анатомії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Сіромаха С. О., канд. мед. наук, головний лікар, ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України»; доцент каф. хірургії № 2, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Джолієн В. Роос-Хесселінк, PhD, професор, зав. відділу вроджених вад серця у дорослих, Університет Еразмус, м. Роттердам, Нідерланди.

Кравченко В. І., канд. мед. наук, зав. відділу хірургічного лікування патології аорти, ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України», м. Київ. Давидова Ю. В., д-р мед. наук, професор, зав. відділення акушерських проблем екстрагенітальної патології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України»; головний науковий співробітник відділення вроджених вад серця у дітей, ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України», м. Київ.

Лазорішинець В. В., д-р мед. наук, академік НАМН України, професор, директор ДУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова НАМН України», м. Київ.

Сведения об авторах:

Захарова В. П., д-р мед. наук, зав. отделом патологии с патологической анатомией, ГУ «Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии имени Н. М. Амосова НАМН Украины»; профессор каф. патологической анатомии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Сиромакха С. О., канд. мед. наук, главный врач, ГУ «Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии имени Н. М. Амосова НАМН Украины»; доцент каф. хирургии № 2, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Джолієн В. Роос-Хесселінк, PhD, професор, зав. відділом вроджених пороков серця у дорослих, Університет Еразмус, г. Роттердам, Нідерланди.

Кравченко В. И., канд. мед. наук, зав. отделом хирургического лечения патологии аорты, ГУ «Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии имени Н. М. Амосова НАМН Украины», г. Киев.

Давидова Ю. В., д-р мед. наук, профессор, зав. отделением акушерских проблем экстрагенитальной патологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», главный научный сотрудник отделения врожденных пороков сердца у детей, ГУ «Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии имени Н. М. Амосова НАМН Украины», г. Киев.

Лазорішинець В. В., д-р мед. наук, академік НАМН України, професор, директор ГУ «Національний інститут серцево-судинної хірургії імені Н. М. Амосова НАМН України», г. Київ.

References

- Wanga, S., Silversides, C., Dore, A., de Waard, V., & Mulder, B. (2016). Pregnancy and Thoracic Aortic Disease: Managing the Risks. *The Canadian journal of cardiology*, 32(1), 78-85. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2015.09.003>
- Dieter, R. S., Dieter Jr, R. A., & Dieter III, R. A. (Eds.). (2019). *Diseases of the Aorta*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11322-3>
- Bons, L. R., & Roos-Hesselink, J. W. (2016). Aortic disease and pregnancy. *Current opinion in cardiology*, 31(6), 611-617. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000336>
- Kamel, H., Roman, M. J., Pitcher, A., & Devereux, R. B. (2016). Pregnancy and the Risk of Aortic Dissection or Rupture: A Cohort-Crossover Analysis. *Circulation*, 134(7), 527-533. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.021594>
- Lansman, S. L., Goldberg, J. B., Kai, M., Tang, G. H., Malekan, R., & Spielvogel, D. (2017). Aortic surgery in pregnancy. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 153(2), S44-S48. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2016.06.015>
- Regitz-Zagrosek, V., Roos-Hesselink, J. W., Bauersachs, J., Blomström-Lundqvist, C., Cifková, R., De Bonis, M., Jung, B., Johnson, M. R., Kintscher, U., Kranke, P., Lang, I. M., Morais, J., Pieper, P. G., Presbitero, P., Price, S., Rosano, G., Seeland, U., Simoncini, T., Swan, L., Warnes, C. A., ... ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC Guidelines for the management of cardiovascular diseases during pregnancy. *European heart journal*, 39(34), 3165-3241. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy340>
- Crawford, J. D., Hsieh, C. M., Schenning, R. C., Slater, M. S., Landry, G. J., Moneta, G. L., & Mitchell, E. L. (2016). Genetics, Pregnancy, and Aortic Degeneration. *Annals of vascular surgery*, 30, 158. e5-158.e1.58E9. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2015.06.100>
- Prendes, C. F., Christersson, C., & Mani, K. (2020). Pregnancy and Aortic Dissection. *European journal of vascular and endovascular surgery*, 60(2), 309-311. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2020.03.052>
- Liu, Y. Y., Li, H. Y., Jiang, W. J., Guan, X. L., Wang, X. L., Liu, O., Zhu, J. M., Sun, L. Z., & Zhang, H. J. (2017). Treatment of patients with aortic disease during pregnancy and after delivery. *The Journal of international medical research*, 45(4), 1359-1368. <https://doi.org/10.1177/0300060517711088>
- Erbel, R., Aboyans, V., Boileau, C., Bossone, E., Bartolomeo, R. D., Eggebrecht, H., Evangelista, A., Falk, V., Frank, H., Gaemperli, O., Grabenwöger, M., Haverich, A., Jung, B., Manolis, A. J., Meijboom, F., Nienaber, C. A., Roffi, M., Rousseau, H., Sechtem, U., Sirnes, P. A., ... ESC Committee for Practice Guidelines (2014). 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal*, 35(41), 2873-2926. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu281>
- Miller, D. V., & Revelo, M. P. (2018). *Diagnostic Pathology: Cardiovascular* (2nd ed.). Elsevier.
- Siromakha, S. O. (2020). Orphan Heritable Thoracic Aortic Diseases and Pregnancy. *Modern Outlooks and Guidance. Ukrainskyi zhurnal sertsevo-sudynnoi khirurgii*, (2), 69-74. <https://doi.org/10.30702/ujcvs/20.3905/028069-074>

Diagnosis difficulties in elderly patients with atrial fibrillation and complete atrioventricular block

I. V. Shop^{id} B,C,D, Ye. O. Holubkina^{id} B,C,D, T. M. Tykhonova^{id} A,D,F, T. A. Deriyenko^{id} C,D,
O. V. Al-Trawneh^{id} *D,E

V. N. Karazin Kharkiv National 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

The association of atrial fibrillation (AF) with complete atrioventricular block (CAVB) is a common clinical feature in elderly patients. It is characterized by the loss of specific symptoms of AF (palpitations, intermissions); in the first place may come CAVB symptoms: dizziness, Morgagni–Adams–Stokes (MAS) attacks.

Aim. The article objective is to illustrate the dynamic changes in the course of AF with the development of CAVB on the example of a clinical case and to discuss the difficulties in timely diagnosis and therapy correction.

Case presentation. A 75-year-old male was diagnosed with a rapid ventricular response form of AF. The onset of CAVB caused the transition from rapid ventricular response form of AF to slow ventricular response form, which was initially accompanied by a subjective improvement in the patient's condition. As the disease progressed, the patient's condition worsened due to the development of MAS attacks.

The elderly patients with a permanent form of AF require constant cardiac monitoring by an experienced specialist who has appropriate vigilance in management of patients with arrhythmias, awareness about possible concomitant conduction disorders.

This provides comprehensive cardiac support, including timely pacemaker implantation which gives more options for AF symptoms monitoring and heart rate control, has a positive modifying effect on drug therapy.

Conclusions. Changes in the clinical picture of AF after development of CAVB can lead to late diagnosis of CAVB, inadequate therapy and untimely pacemaker implantation, as a consequence, to progression of concomitant pathology and the development of life-threatening complications, as in our clinical case.

Key words:

atrial fibrillation, atrioventricular block, pacemaker, Morgagni–Adams–Stokes attacks.

Pathologia

2021; 18 (3), 365-370

*E-mail:

elen.al.trawneh@gmail.com

Труднощі діагностики фібриляції передсердь і повної атріовентрикулярної блокади в пацієнтів старечого віку

I. V. Шоп, Є. О. Голубкіна, Т. М. Тихонова, Т. А. Дерієнко,
О. В. Аль-Травнех

Зв'язок фібриляції передсердь із повною атріовентрикулярною блокадою – поширена клінічна особливість у пацієнтів старечого віку. Клінічна картина характеризується втратою специфічних симптомів фібриляції передсердь (серцебиття, перебої в роботі серця); поряд із цим на перше місце можуть вийти симптоми повної атріовентрикулярної блокади, як-от запаморочення, слабкість, напади Морганьї–Адамса–Стокса.

Мета роботи – на прикладі клінічного випадку показати динамічні зміни у клінічному перебігу фібриляції передсердь, що виникають у зв'язку з розвитком повної атріовентрикулярної блокади, а також обговорити труднощі своєчасної діагностики та терапевтичної корекції в пацієнтів старечого віку з цією патологією.

Клінічний випадок. У чоловіка віком 75 років діагностували тахісistolічну форму фібриляції передсердь. Виникнення повної атріовентрикулярної блокади спричинило перехід від тахісistolічної форми фібриляції передсердь до брадисistolічної, що спочатку супроводжувалася суб'єктивним поліпшенням стану. З прогресуванням захворювання стан хворого погіршився, що передусім пов'язано з виникненням нападів Морганьї–Адамса–Стокса.

Хворі похилого віку з постійною формою фібриляції передсердь потребують постійного контролю серцевої діяльності в досвідченого спеціаліста, який має відповідну пильність у веденні пацієнтів з аритміями та обізнаність про можливі супутні порушення провідності.

Це забезпечує комплексну й адекватну підтримку серцевої діяльності, включаючи своєчасну імплантацію кардіостимулятора, а отже більше можливостей для моніторингу симптомів фібриляції передсердь і контролю частоти серцевих скорочень, має позитивний вплив на медикаментозну терапію.

Висновки. Зміни клінічної картини в пацієнтів похилого віку з фібриляцією передсердь після розвитку повної атріовентрикулярної блокади можуть призвести до її пізньої діагностики, неадекватної терапії та несвоєчасної імплантації кардіостимулятора, врешті до прогресування супутньої патології та розвитку ускладнень, що загрожують життю, як у наведеному клінічному випадку.

Ключові слова:

фібриляція передсердь, повна атріовентрикулярна блокада, кардіостимулятор, напади Морганьї–Адамса–Стокса.

Патологія. 2021.

Т. 18, № 3(53).

С. 365-370

Ключевые слова:
фибрилляция предсердий, полная атриовентрикулярная блокада, кардиостимулятор, приступы Морганьи–Адамса–Стокса.

Патология. 2021.
Т. 18, № 3(53).
С. 365-370

Трудности диагностики фибрилляции предсердий и полной атриовентрикулярной блокады у пациентов старческого возраста

И. В. Шоп, Е. А. Голубкина, Т. М. Тихонова, Т. А. Деряченко, А. В. Аль-Травнех

Связь фибрилляции предсердий с полной атриовентрикулярной блокадой – распространённая клиническая особенность у пациентов старческого возраста. В этом случае клиническая картина характеризуется утратой специфических симптомов фибрилляции предсердий (сердцебиение, перебои в работе сердца); вместе с тем на первый план могут выходить симптомы полной атриовентрикулярной блокады: головокружение, слабость, приступы Морганьи–Адамса–Стокса.

Цель работы – на примере клинического случая показать динамические изменения в клиническом течении фибрилляции предсердий, возникающие в связи с развитием полной атриовентрикулярной блокады, а также обсудить трудности своевременной диагностики и терапевтической коррекции у пациентов старческого возраста с этой патологией.

Клинический случай. У мужчины 75 лет диагностирована тахисистолическая форма фибрилляции предсердий. Возникновение полной атриовентрикулярной блокады привело к переходу от тахисистолической формы фибрилляции предсердий к брадисистолической, что сначала сопровождалось субъективным улучшением состояния. По мере прогрессирования заболевания состояние больного ухудшилось, что прежде всего связано с возникновением приступов Морганьи–Адамса–Стокса.

Пациенты старческого возраста с постоянной формой фибрилляции предсердий нуждаются в постоянном контроле сердечной деятельности у опытного специалиста, который имеет соответствующую бдительность в ведении пациентов с аритмиями и осведомлённость о возможных сопутствующих нарушениях проводимости. Это обеспечивает комплексную и адекватную поддержку сердечной деятельности, включая своевременную имплантацию кардиостимулятора, следовательно даёт больше возможностей для мониторинга симптомов фибрилляции предсердий и контроля частоты сердечных сокращений, оказывает положительное влияние на медикаментозную терапию.

Выводы. Изменения клинической картины у пациентов старческого возраста с фибрилляцией предсердий после развития полной атриовентрикулярной блокады могут привести к её поздней диагностике, неадекватной терапии и несвоевременной имплантации кардиостимулятора, как следствие, к прогрессированию сопутствующей патологии и развитию осложнений.

Heart rhythm disturbances are frequent diagnostic finding in elderly patients. An increase in the incidence of atrial fibrillation (AF) with age has been proven by many studies [1–4]. According to the authors, the prevalence of AF in patients under 49 years old is 0.12–0.16 %, in the age group 60–70 years old – 3.7–4.2 %, and among patients older than 80 years old – 10–17 % [1].

Management of elderly patients with arrhythmias is a difficult task for a medical practitioner. AF in elderly patients is rarely an isolated disease, and most commonly presents as a component of pathological functional, electrophysiological and organic changes in the cardiovascular system [2,5]. The results of the large systematic review of studies considering AF published from 2005 to 2016 demonstrate that AF is associated with arterial hypertension (AH) (in 22–36 % of cases), coronary heart disease (in 14–32 % of cases), valvular heart disease (12–26 % of cases), cardiomyopathy (6–10 % of cases) [1].

In elderly, pathological processes of the cardiovascular system are characterized by degenerative changes in the cardiac conduction system with fibrous degeneration of pacemaker cells in the sinoatrial and atrioventricular nodes, damage to Purkinje fibers [2]. This leads to various conduction disturbances, such as: sick sinus syndrome, atrioventricular blockade (AVB) of varying degrees, etc. These conduction disorders are often masked by existing symptoms of AF, exacerbate the course of arrhythmia, leading to increased risk of dangerous cardiovascular complications such as thrombosis and thromboembolic events, exacerbation of heart failure (HF) and myocardial ischemia symptoms [6].

The Belgian scientist Liège Leon Frederic first obtained the phenomenon of coexistence of complete

atrioventricular block (CAVB) with AF experimentally in 1904. Among the possible causes of this condition there are: idiopathic fibrosis and sclerosis of the cardiac conduction pathways (up to 50 % of cases), coronary heart disease (up to 40 % of cases), uncontrolled intake of antiarrhythmic drugs (digoxin, diltiazem, metoprolol, propranolol, verapamil, etc.), prolonged course of AH, thyroid gland dysfunction, obstructive pulmonary disease, obstructive sleep apnea, valvular heart disease [10]. With the development of CAVB against the background of AF the conduction of excitation impulses from the atria to the ventricles is blocked with presence of chaotic contractions of separate muscle fibers within the atria. The ventricles are excited by the non-sinus pacemaker, located in the atrioventricular junction or in the conduction system of the ventricles. Electrocardiographic changes are characterized by the absence of P waves substituted by fibrillation waves (f-waves). Irregularly irregular pattern of the ventricular rhythm specific for the AF is changed to the regular rhythm with slow ventricular response, which is evidence of the AV block development. If AV node serves as non-sinus pacemaker the QRS complex width remains unchanged, but in case of the idioventricular rhythm the QRS complex becomes widened and deformed. Also ventricular extrasystoles may be observed.

Aim

The aim of this article is to analyze the development of CAVB in a patient with a permanent form of AF. The main clinical changes of AF pattern on the background of progression of cardiac conduction system degenerative lesions are described in the article. Comorbidity

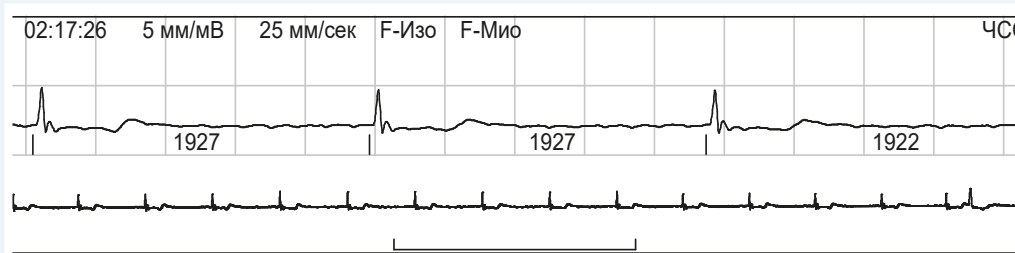


Fig. 1. Transient AV block of the 3rd degree on the background of AF.



Fig. 2. Pacemaker rhythm (VVI regimen), left axis deviation (aFQRS = -46.2), HR – 70 bpm, QRS – 54 ms, QTc – 370 ms.

of somatic diseases in cardiology practice is one of the main prognostic factors that affect the outcome of the underlying disease. In this regard, an important task for a practicing physician is the choice of the management tactics for the elderly patients with comorbidities. This article discusses the issues of rational management of elderly patients, taking into account treatment guidelines and randomized clinical trials.

Clinical case

A 75-year-old male patient presented with complaints on feeling of retrosternal discomfort on physical exertion relieved by rest or nitroglycerine intake, periodical lower extremities edema, decreased workability. He has been suffering from AH for the last 20 years with maximum numbers of BP up to 160/100 mm Hg, controlled by the intake of valsartan. In 2010 he first reported symptoms of heart palpitations and intermissions during exercise, and after full work-up including electrocardiogram (ECG) recording and 24-hour Holter monitoring he was diagnosed with: Ischemic heart disease. Diffuse cardio-sclerosis. Combined acquired heart defect: mitral valve insufficiency I degree, aortic insufficiency I degree. Atrial fibrillation, permanent form; rapid ventricular response. Arterial Hypertension 2 grade, high cardiovascular risk. Hypertensive heart. Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) (EF – 64 %), II Functional Class (FC).

After consultations about management strategy patient declined catheter ablation and agreed on pharmacological treatment. Medical management included the prescription of amiodarone 200 mg QD, valsartan 50 mg, aspirin 75 mg daily. The general condition of the patient has improved, intensity of palpitations and heart irregularities decreased, the heart rate was running at 60–70 bpm.

Subsequently the patient's condition remained stable; in 2016 he had significant improvement of his general condition – he reported absence of palpitations and intermissions, the patient's heart rate was detected at the level of 60 bpm and the diagnosis of permanent AF with slow ventricular response (SVR) was made. Due to these changes the dosage of amiodarone was decreased to 200 mg once in two days regimen. Dynamic observation of the patient after the transition of AF to the SVR variant was not carried out.

In November 2019 the patient started to notice progressive decrease in physical load tolerance, general weakness, and increased dyspnea. During previous year he had experienced decreased workability, weakness and tiredness. Since February 2019 periodically he had episodes of loss of consciousness without obvious cause. He was admitted to the clinic due to deterioration of his condition.

Objective examination data: general condition of moderate severity, height – 162 cm, weight – 76 kg, body mass index (BMI) = 29 kg/m². Skin was pale, there

were pitting edema of both shins. Lungs auscultation revealed vesicular breathing, no wheezing. Heart examination showed shift of the heart borders to the left on 2 cm on percussion, on auscultation heart sounds were rhythmic, muffled, accentuated S2 sound over aorta, decrescendo systolic murmur at the apex, diastolic murmur above the aorta, heart rate (HR) 40 bpm. Blood pressure (BP) *sin* – 140/80 mm Hg, *dext* – 140/85 mm Hg (on antihypertensive therapy), radial pulse was synchronous, rhythmic at 40 bpm. On palpation abdomen was painless; liver protruded for 1 cm from costal margin, painless; spleen was not palpable. Fist percussion was negative on both sides.

Further investigation showed: total cholesterol – 6.16 mmol/l, low density lipoprotein (LDL) – 3.87 mmol/l, very-low-density lipoprotein (VLDL) – 1.31 mmol/l, triglycerides – 2.69 mmol/l; level of electrolytes, liver function tests, kidney function tests, fasting plasma glucose were within the normal range. His ECG recording showed: left axis deviation, signs of AF (absent p waves, present f waves) with regular ventricular rhythm at rate of 60 bpm. Echocardiography: sclerotic changes in the walls of the aorta; signs of left ventricular hypertrophy (posterior wall thickness in diastole 1.13 (0.60–1.10 cm), the interventricular septum – 1.12 (0.60–1.10 cm)); increased size of the left atrial chamber (anterior-posterior left atrial size 4.5 (4.0 cm)); mitral regurgitation of II degree, aortic regurgitation I degree, ejection fraction – 54 % (55–65 % Teinholz). 24-hour Holter monitoring showed signs of transient AV block of the 3rd degree on the background of permanent AF (Fig. 1), with SVR, average daily heart rate 47 bpm and average night heart rate 38 bpm, maximum heart rate 85 bpm at 09:09 (during physical activity – “fast walking” according to the patient’s diary) and minimum heart rate 31 bpm at 02:17 (during sleep according to the patient’s diary).

The diagnosis was set: Ischemic heart disease. Diffuse cardiosclerosis. Combined acquired heart defect: mitral valve insufficiency II degree, aortic insufficiency I degree. Atrial fibrillation, permanent form; the 3rd degree AV block with Morgagni–Adam–Stokes syndrome (MAS) (2019). CHA₂DS₂-VASc – 4, HAS-BLED Score – 2. Arterial Hypertension 2 grade, high risk. Hypertensive heart. HFpEF II FC (EF – 54 %). Dyslipidemia IIb.

Considering the deterioration of the patient’s condition due to the presence of the 3rd degree AV block with MAS syndrome the patient was referred for the cardiac surgeon consult and subsequently implantation of permanent pacemaker (VVI mode – single chamber ventricular stimulator) with a HR of 70/min was performed.

Post-operative follow-up showed significant improvement of the patient’s condition with absence of episodes of dizziness and loss of consciousness. Drug therapy included: bisoprolol, ramipril, rosuvastatin, dabigatran. 1 year after surgery the general condition of the patient is stable – he is considered about periodical dyspnea and edema of lower extremities. His HR remains controlled at rate of 70 bpm, his condition is dynamically monitored with ECG (Fig. 2), echocardiography evaluation. His drug therapy includes: indapamide, bisoprolol, ramipril, rosuvastatin, dabigatran.

Discussion

AF in our patient developed against the background of acquired combined heart disease with lesions of the mitral and aortic valves, structural remodeling of the heart and comorbid pathology, such as arterial hypertension and heart failure. Given that AF is associated with a decrease in the quality of life, an increased risk of thromboembolic and hemodynamic complications, as well as an increase in mortality, the management of such patients requires constant dynamic monitoring [6].

The clinical manifestations of AF are heterogeneous, reflecting various pathophysiological disorders in cardiac activity. Most often AF is characterized by the presence of high and irregular ventricular contraction rate (VR), the so-called rapid ventricular response (RVR). This leads not only to a decrease in cardiac output and an insufficient filling of the ventricles, but also to an increase in the myocardial need for oxygen and ischemia. Thus, the control of HR is one of the most important tasks in the management of patients with AF, especially in cases where the need for cardioversion is not appropriate [5,7]. In such cases, the clinical improvement of the patient’s condition is achieved not by restoring the sinus rhythm, but by reducing the heart rate and associated symptoms. Levels of HR control in patients with AF remain the subject of active discussion: for example, according to the clinical recommendations of the AHA/ACC/HRS Guideline, HR control of <80 bpm is appropriate for patients with symptomatic AF, while the European Society of Cardiology guidelines define less stringent requirements for HR control: <110/min [5,7]. In the ORBIT-AF study performed in 2812 patients with a permanent form of AF by Benjamin A. Steinberg et al., the dependence of clinical manifestations of AF on the level of heart rate was analyzed. It was concluded that a higher level of HR in patients correlates with more severe symptoms of AF according to the EHRA classification [8]. The HR estimation is an important predictor of worsening of clinical condition, as well as the development of complications in patients with AF [8].

A significant reduction in heart rate in patients who have previously been diagnosed with tachyarrhythmias in the form of AF with RVR may indicate not only inadequate therapy and the development of side effects of drugs used for HR control (for example, beta-blockers), but also the development of concomitant lesions of the heart conduction system [9]. With the development of these disorders and the localization of the substituting non-sinus pacemaker near the AV node, the level of VR becomes regular and correlates within 50–60 beats/min, which against the background of the RVR form of AF with its characteristic signs (feeling of palpitations, interruptions in cardiac activity, chest discomfort) may be considered by the patient, and even by the doctor, as a restored sinus rhythm as in our clinical case. In case of VR of 30–40 beats/min and less (the pacemaker is in the bundle of His, Purkinje fibers), the patient’s condition usually worsens due to circulatory failure (reduced cardiac output) and develops cerebral hypoxia, which is clinically manifested by dizziness, weakness, loss of consciousness. This condition is life-threatening in view of the increased risk of developing of asystole, the clinical manifestations of which can vary from dizziness to syncopal states, up to sudden

death. A decrease in medical awareness in identification of concomitant conduction disturbances in elderly patients with arrhythmias, the absence of subsequent dynamic monitoring of the patient's condition led to a progressive deterioration in his condition with the development of MAS syndrome and worsening manifestations of heart failure.

According to the recommendations of the European Association of Cardiology, presence of CAVB is an absolute indication for the pacemaker implantation. The presence of AV block in a patient against the background of the previous permanent form of AF is an indication for the installation of a single chamber ventricular stimulator (VVI) [10]. There is also evidence of the rationality of using implanted pacemakers or defibrillators with an atrial electrode, which allows continuous monitoring of atrial rhythm with the identification of episodes of rhythm with increased heart rate. Depending on the level of risk in the studied population, similar episodes are detected in 10–15 % of patients with implanted devices [11]. The implantation of pacemaker, in turn, has a modifying effect on the pharmacodynamics of drugs. Thus, with constant pacing for complete AV block, β -adrenergic blockers (BB) lose the decreasing effect on the frequency of ventricular contractions. Indication for the administration of BB in patients with pacemaker, in addition to coronary artery disease, AH, chronic heart failure, persistent AF is a need to suppress the pacemaker-associated conditions such as phenomenon of preexcitation and arrhythmias [12–15]. The use of statins in patients with constant pacing reduces the risk of AF [16]. Oral anticoagulant therapy for the prevention of thromboembolic complications is recommended for all men with AF having a total score of CHA2DS2-VASc ≥ 2 . The antithrombotic effect of dabigatran is linear dose-dependent and reversible, which allows it to be used in a fixed dose throughout the treatment and eliminates the need for routine laboratory control, distinguishing it from warfarin [17].

In the presented clinical case, the patient had several aggravating factors for the development of cardiac conduction system disorders: long-term AH (more than 20 years), combined mitral-aortic valvular heart disease, permanent AF, decompensated heart failure, uncontrolled intake of medications, including antiarrhythmic (Amiodarone). The disease manifested from AF with RVR with the transition to combined rhythm and conduction disorder (arrhythmia) with the development of life-threatening MAS attacks. During the period of imaginary clinical improvement, the necessary cardiological monitoring and drug correction of the patient's condition were not carried out. After the patient was diagnosed with CAVB in combination with AF and a specific surgical intervention – pacemaker implantation was performed, the patient's condition improved significantly. Supportive drug therapy was selected taking into account the performed cardiac surgery and presence of concomitant comorbidities of the patient. Thus, timely diagnosis of combined rhythm and conduction disorders can prevent a deterioration of the quality of life of patients, as well as the development of dangerous cardiovascular complications.

This clinical case demonstrates that after the diagnosis CAVB in combination with AF and a specific surgical intervention – pacemaker implantation, the

patient's condition improved significantly. Thus, timely diagnosis of combined rhythm and conduction disorders can prevent deterioration in the quality of life of patients, as well as the development of dangerous cardiovascular complications.

Conclusions

1. The issue of managing elderly patients in the presence of combined rhythm and conduction disturbances depends on a huge number of factors that determine the prognosis and quality of life of the patient. Untimely pacemaker implantation and inadequate complex drug therapy can lead to the development of life-threatening complications and progression of concomitant pathology.

2. Late diagnosis of the conduction disturbances in this patient was due to inappropriate timing of cardiac monitoring against the background of a false clinical improvement at the stage of a decrease in the HR after the onset of CAVB on the background of the permanent form of AF. This, in turn, contributed to the progression of heart failure and significantly worsened the patient's total prognosis.

3. Timely referral of the patient for consultation to a cardiologist who has sufficient alertness to manage a patient with arrhythmias should provide comprehensive cardiac treatment for the patient, including timely heart surgery.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.10.2021

Після доопрацювання / Revised: 09.11.2021

Прийнято до друку / Accepted: 12.11.2021

Information about authors:

Shop I. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-2027-3335](https://orcid.org/0000-0002-2027-3335)

Holubkina Ye. O., Assistant of the Department of Internal Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-2587-8894](https://orcid.org/0000-0002-2587-8894)

Tykhonova T. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9196-9113](https://orcid.org/0000-0001-9196-9113)

Deriyenko T. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-2479-2896](https://orcid.org/0000-0002-2479-2896)

Al-Trawneh O. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Internal Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-4049-6365](https://orcid.org/0000-0003-4049-6365)

Відомості про авторів:

Шоп І. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Голубкіна Є. О., асистент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Тихонова Т. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Дерієнко Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Аль-Травнех О. В., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Сведения об авторах:

Шоп И. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Голубкина Е. О., ассистент каф. внутренней медицины, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Тихонова Т. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. внутренней медицины Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Дерієнко Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Аль-Травнех О. В., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішньої медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

References

- [1] Staerk L., Sherer J. A., Ko D., Benjamin E. J., & Helm R. H. (2017). Atrial Fibrillation: Epidemiology, Pathophysiology, and Clinical Outcomes. *Circulation research*, 120(9), 1501-1517. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309732>
- [2] Mou, L., Norby, F. L., Chen, L. Y., O'Neal, W. T., Lewis, T. T., Loehr, L. R., Soliman, E. Z., & Alonso, A. (2018). Lifetime Risk of Atrial Fibrillation by Race and Socioeconomic Status: ARIC Study (Atherosclerosis Risk in Communities). *Circulation. Arrhythmia and electrophysiology*, 11(7), e006350. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.118.006350>
- [3] Chao, T. F., Liu, C. J., Tuan, T. C., Chen, T. J., Hsieh, M. H., Lip, G., & Chen, S. A. (2018). Lifetime Risks, Projected Numbers, and Adverse Outcomes in Asian Patients With Atrial Fibrillation: A Report From the Taiwan Nationwide AF Cohort Study. *Chest*, 153(2), 453-466. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.10.001>
- [4] Lee, E., Choi, E. K., Han, K. D., Lee, H., Choe, W. S., Lee, S. R., Cha, M. J., Lim, W. H., Kim, Y. J., & Oh, S. (2018). Mortality and causes of death in patients with atrial fibrillation: A nationwide population-based study. *PLoS one*, 13(12), e0209687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209687>
- [5] Dan, G. A., Iliodromitis, K., Scherr, D., Marín, F., Lenarczyk, R., Estner, H. L., Kostkiewicz, M., Dągros, N., & Lip, G. (2018). Translating guidelines into practice for the management of atrial fibrillation: results of an European Heart Rhythm Association Survey. *Europace*, 20(8), 1382-1387. <https://doi.org/10.1093/europace/euy094>
- [6] Zhang, L., He, J., Lian, M., Zhao, L., & Xie, X. (2018). Dynamic Electrocardiography is Useful in the Diagnosis of Persistent Atrial Fibrillation Accompanied with Second-Degree Atrioventricular Block. *Acta Cardiologica Sinica*, 34(5), 409-416. [https://doi.org/10.6515/ACS.201809.34\(5\).20180326E](https://doi.org/10.6515/ACS.201809.34(5).20180326E)
- [7] Hindricks, G., Potpara, T., Dągros, N., Arbelo, E., Bax, J. J., Blomström-Lundqvist, C., Boriani, G., Castella, M., Dan, G. A., Dilaveris, P. E., Fauchier, L., Filippatos, G., Kalman, J. M., La Meir, M., Lane, D. A., Lebeau, J. P., Lettino, M., Lip, G., Pinto, F. J., Thomas, G. N., ... ESC Scientific Document Group (2021). 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *European heart journal*, 42(5), 373-498. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa612>
- [8] Thind, M., Holmes, D. N., Badri, M., Pieper, K. S., Singh, A., Blanco, R. G., Steinberg, B. A., Fonarow, G. C., Gersh, B. J., Mahaffey, K. W., Peterson, E. D., Reiffel, J. A., Piccini, J. P., Kowey, P. R., & ORBIT-AF Investigators and Patients (2018). Embolic and Other Adverse Outcomes in Symptomatic Versus Asymptomatic Patients With Atrial Fibrillation (from the ORBIT-AF Registry). *The American journal of cardiology*, 122(10), 1677-1683. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2018.07.045>
- [9] Lim, Y., Singh, D., & Poh, K. K. (2018). High-grade atrioventricular block. *Singapore medical journal*, 59(7), 346-350. <https://doi.org/10.11622/smedj.2018086>
- [10] Kusumoto, F. M., Schoenfeld, M. H., Barrett, C., Edgerton, J. R., Ellenbogen, K. A., Gold, M. R., Goldschlager, N. F., Hamilton, R. M., Joglar, J. A., Kim, R. J., Lee, R., Marine, J. E., McLeod, C. J., Oken, K. R., Patton, K. K., Pellegrini, C. N., Selzman, K. A., Thompson, A., & Varosy, P. D. (2019). 2018 ACC/AHA/HRS Guideline on the Evaluation and Management of Patients With Bradycardia and Cardiac Conduction Delay: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(7), e51-e156. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.10.044>
- [11] Kirchhof, P., Camm, A. J., Goette, A., Brandes, A., Eckardt, L., Elvan, A., Fetsch, T., van Gelder, I. C., Haase, D., Haegeli, L. M., Hamann, F., Heidebüchel, H., Hindricks, G., Kautzner, J., Kuck, K. H., Mont, L., Ng, G. A., Rekosz, J., Schoen, N., Schotten, U., ... EAST-AFNET 4 Trial Investigators (2020). Early Rhythm-Control Therapy in Patients with Atrial Fibrillation. *The New England journal of medicine*, 383(14), 1305-1316. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2019422>
- [12] January, C. T., Wann, L. S., Calkins, H., Chen, L. Y., Cigarroa, J. E., Cleveland, J. C., Jr, Ellinor, P. T., Ezekowitz, M. D., Field, M. E., Furie, K. L., Heidenreich, P. A., Murray, K. T., Shea, J. B., Tracy, C. M., & Yancy, C. W. (2019). 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(1), 104-132. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.01.011>
- [13] Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., de Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G., ... ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European heart journal*, 39(33), 3021-3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- [14] McDonagh, T. A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R. S., Baumgartner, H., Böhm, M., Burri, H., Butler, J., Čelutkienė, J., Chioncel, O., Cleland, J., Coats, A., Crespo-Leiro, M. G., Farmakis, D., Gilard, M., Heymans, S., Hoes, A. W., Jaarsma, T., Jankowska, E. A., Lainscak, M., ... ESC Scientific Document Group (2021). 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European heart journal*, 42(36), 3599-3726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>
- [15] Hauptman, P. J., Swindle, J. P., Masoudi, F. A., & Burroughs, T. E. (2010). Underutilization of beta-blockers in patients undergoing implantable cardioverter-defibrillator and cardiac resynchronization procedures. *Circulation. Cardiovascular quality and outcomes*, 3(2), 204-211. <https://doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.109.880450>
- [16] Jellinger, P. S., Handelsman, Y., Rosenblatt, P. D., Bloomgarden, Z. T., Fonseca, V. A., Garber, A. J., Grunberger, G., Guerin, C. K., Bell, D., Mechanick, J. I., Pessah-Pollack, R., Wyne, K., Smith, D., Brinton, E. A., Fazio, S., & Davidson, M. (2017). American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocrine practice*, 23(Suppl 2), 1-87. <https://doi.org/10.4158/EP171764.APPGL>
- [17] Inoue, H., Uchiyama, S., Atarashi, H., Okumura, K., Koretsune, Y., Yasaka, M., Yamashita, T., Taniguchi, A., Fukaya, T., & J-Dabigation Surveillance Investigators (2019). Effectiveness and safety of long-term dabigatran among patients with non-valvular atrial fibrillation in clinical practice: J-dabigatran surveillance. *Journal of cardiology*, 73(6), 507-514. <https://doi.org/10.1016/j.jicc.2018.12.013>